

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**REGINALDO GEREMIAS**

**UTILIZAÇÃO DE REJEITO DE MINERAÇÃO DE CARVÃO COMO  
ADSORVENTE PARA REDUÇÃO DA ACIDEZ E REMOÇÃO DE ÍONS DE  
METAIS EM DRENAGEM ÁCIDA DE MINA DE CARVÃO**

**Florianópolis**

**2008**

**REGINALDO GEREMIAS**

**UTILIZAÇÃO DE REJEITO DE MINERAÇÃO DE CARVÃO COMO  
ADSORVENTE PARA REDUÇÃO DA ACIDEZ E REMOÇÃO DE ÍONS DE  
METAIS EM DRENAGEM ÁCIDA DE MINA DE CARVÃO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, do Departamento de Química, da Universidade Federal de Santa Catarina, como um dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor em Química.

Área de concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Valfredo Tadeu de Fávère

Co-orientadora: Profa. Dra. Rozangela Curi Pedrosa

Florianópolis

2008

**Reginaldo Geremias**

**UTILIZAÇÃO DE REJEITO DE MINERAÇÃO DE CARVÃO COMO  
ADSORVENTE PARA REDUÇÃO DA ACIDEZ E REMOÇÃO DE ÍONS DE  
METAIS EM DRENAGEM ÁCIDA DE MINA DE CARVÃO**

Esta tese foi julgada e aprovada para a obtenção do título de **Doutor em Química** no **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 12 de dezembro de 2008.

---

Prof. Dr. Ademir Neves  
Coordenador do Programa

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Valfredo Tadeu de Fávère  
Orientador

---

Prof. Dra. Rozangela Curi Pedrosa  
Co-orientadora

---

Prof. Dr. Éder Cláudio Lima  
(Instituto de Química – UFRGS)

---

Prof. Dr. Carlyle Torres Bezerra de Menezes  
(Depto de Eng.Ambiental – UNESC)

---

Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira  
(Depto de Química – UFSC)

---

Prof. Dr. Ivan Gonçalves de Souza  
(Depto de Química - UFSC)

---

Prof. Dr. Mauro César Marghetti Laranjeira  
(Depto de Química – UFSC)

*“Ser governado pelos excluídos torna a inclusão social mais efetiva do que governar para os excluídos”*(Reginaldo).

*Dedico este trabalho ao Estado Brasileiro pela  
garantia do acesso à Universidade pública,  
gratuita e de qualidade.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Valfredo Tadeu de Fávère, pela sempre disponibilidade na orientação deste trabalho e de outros projetos de pesquisa.

À Profa. Dra. Rozangela Curi Pedrosa, pela relevante contribuição neste trabalho, bem como, na minha dimensão profissional e pessoal.

Aos membros da banca, Prof. Dr. Éder Cláudio Lima, Prof. Dr. Carlyle Torres Bezerra de Menezes, Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira, Prof. Dr. Ivan Gonçalvez de Souza e Prof. Dr. Mauro César Marghetti Laranjeira pelas contribuições para a melhoria da qualidade do presente trabalho.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

Ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina, pela estrutura oferecida.

A todos os colegas do laboratório LABIOEX e laboratório QUITTECH, especialmente, ao Rogério, Helder, Luciano e Alexandre, pelo companherismo e ajuda na execução do trabalho.

À Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) pela oportunidade de atuação profissional.

À minha namorada Méri, pelo apoio e carinho durante toda a caminhada.

Aos familiares e amigos pelo incentivo aos estudos.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho.

A Deus que, por ser pai e mãe, nos torna todos irmãos.

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo geral utilizar rejeito de mineração de carvão como adsorvente para redução da acidez e remoção de íons de metais em drenagem ácida e avaliar este processo, utilizando-se ensaios de toxicidade em organismos bioindicadores. Rejeitos de mineração de carvão foram coletados em minas da região carbonífera do sul de Santa Catarina e caracterizados através da análise elementar (CHNS) e análise termogravimétrica (TGA). O rejeito foi submetido à calcinação (800°C, por 1 hora) para obtenção dos óxidos de metais os quais foram posteriormente caracterizados. Os resultados indicaram área superficial de 4,3 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, baixa porosidade (7,9 x 10<sup>-3</sup> cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>), predominância de mesoporos (73,9 Å) e presença dos óxidos majoritários SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Amostras de drenagem ácida de minas de carvão foram coletadas na mesma região e caracterizadas, sendo observada expressiva acidez (pH=2,8) e concentração majoritária dos íons metálicos Al (III), Fe (III) e Mn (II), cujos valores de concentração estão superiores aos previstos pela Resolução n<sup>o</sup> 357 do CONAMA. As drenagens foram submetidas à remediação, utilizando-se o rejeito calcinado como adsorvente. Constatou-se que a remediação por processo estático se mostrou mais efetiva, sendo capaz de provocar a elevação do pH para 7,8 e promover a remoção de 100% de Al (III), 100% de Fe (III) e de 89% de Mn (II). Nos estudos de adsorção dos íons H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> e íons de metais utilizando-se rejeito como adsorvente, constatou-se que o modelo de pseudo segunda-ordem foi o que melhor correlacionou os dados cinéticos experimentais para todos os sistemas estudados, indicando que a velocidade de adsorção é dependente das quantidades dos íons metálicos na superfície do adsorvente e adsorvidos no equilíbrio. A isoterma de Langmuir forneceu o melhor ajuste dos dados experimentais de equilíbrio obtidos no estudo com o adsorvente, obtendo-se uma capacidade máxima de adsorção (q<sub>m</sub>) de 316 mmol kg<sup>-1</sup> para H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>. Para os íons de metais, os valores foram de 1.9630 mg kg<sup>-1</sup> para Mn (II), 908 mg kg<sup>-1</sup> para Zn (II) e 435 mg Kg<sup>-1</sup> para Fe (III), indicando uma ordem de capacidade: Mn (II) > Zn (II) > Fe (III). A isoterma de adsorção de Cu (II) mostrou uma relação linear, evidenciando que a quantidade de metal adsorvida na fase sólida aumentou com a concentração deste na fase aquosa. Nos ensaios de toxicidade sobre organismos bioindicadores, foi constatado que a drenagem ácida não remediada apresentou expressiva toxicidade aguda sobre *Daphnia*

*magna* (FDd = 96), a qual esteve acima do limite máximo previsto pela Portaria N° 017 da FATMA (FDd ≤ 8), como também sobre *Artemia* sp (CL<sub>50</sub> = 4,97%), além de elevada toxicidade subaguda em *Allium cepa* L. (RC<sub>50</sub> = 10,4%). Após a remediação com o adsorvente, não foi observada toxicidade para estes organismos. Na avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo, foi constatado que a lipoperoxidação (TBARS), o índice de dano ao DNA (ID), a carbonilação de proteínas (PC) e a atividade da catalase (CAT) estavam significativamente aumentados (P<0,05) em *Allium cepa* L. expostas à drenagem não remediada (TBARS = 128,1 ± 7,1 nmol g<sup>-1</sup>; ID=122,2 ± 25,9; PC= 186,3 ± 16,9 µmol mg<sup>-1</sup>; CAT= 10,57 ± 1,42 µmol min<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>), quando comparados à drenagem remediada (TBARS = 61,3 ± 4,7 nmol g<sup>-1</sup>; ID=16,4 ± 4,2; PC=128,2 ± 14,2 µmol mg<sup>-1</sup>; CAT= 6,30 ± 0,14 µmol min<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>). Não foi observado diferença significativa no conteúdo de glutatona reduzida (GSH) entre o grupo exposto à drenagem não remediada (0,65 ± 0,11mM g<sup>-1</sup>) e à remediada (GSH = 0,76 ± 0,10 mM g<sup>-1</sup>). A partir dos resultados obtidos, pode-se sugerir que a remediação da drenagem utilizando-se rejeito de mineração se mostrou efetiva na redução da acidez e remoção de metais da drenagem, bem como, na remoção da toxicidade sobre os organismos bioindicadores avaliados, sugerindo a sua utilização como uma alternativa para o tratamento destas fontes de contaminação ambiental.

Palavras-chave: rejeito de mineração de carvão; drenagem ácida; adsorção de íons; organismos bioindicadores



## ABSTRACT

This work aimed at using coal mining waste as an adsorbent to reduce acidity and remove metal ions in acid mine drainage, but also at evaluating this process, using toxicity assays in bioindicators organisms. Samples of coal mining waste were collected from mines in the carboniferous region of the south of Santa Catarina/Brazil and characterized through the elementary analysis (CHNS) and thermogravimetric analysis (TGA). The waste was calcined (800 °C, during 1 hour) to obtain the metal oxides, which were characterized later on. The results showed that the superficial area was  $4.316 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , low porosity was  $7.9121 \times 10^{-3} \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ , some predominance of mesopores ( $73.93 \text{ \AA}$ ), as well as the presence of majority oxides as  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  and  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . Samples of acid drainage from coal mines were collected and characterized in the same region. The drainage had high acidity ( $\text{pH} = 2.8$ ) and the majority concentrations of Al (III), Fe (III) and Mn (II), whose values are superior to the ones from (Resolution n. 357 – CONAMA). The drainages were submitted to treatment with calcined waste as adsorbent. So, it was registered that the treatment, through a static process, was efficient and could cause a pH increase to 7.8 and removed 100% of Al (III), 100% Fe (III) and 89% Mn (II). The waste used as adsorbent on the adsorption studies concerning  $\text{H}_3\text{O}^+$  and metals ions indicated that the pseudo second-order model showed the best correlation for the experimental kinetic data in all studied systems. This showed that the velocity of adsorption depends on the amount of metal ions on adsorbent surface and on the amount of those ones adsorbed at equilibrium. The Langmuir isotherm provided the best arrangement of the experimental equilibrium data, obtained during the study with adsorbent and obtained the maximum adsorption capacity ( $q_m$ ) of  $316 \text{ mmol kg}^{-1}$  for  $\text{H}_3\text{O}^+$ . On the other hand, metals ions presented values as:  $1.9630 \text{ mg kg}^{-1}$  for Mn (II);  $908 \text{ mg kg}^{-1}$  for Zn (II) and  $435 \text{ mg kg}^{-1}$  for Fe (III). So, it could be recorded the following capacity order: Mn (II) > Zn (II) > Fe (III). The adsorption isotherm of Cu (II) showed a linear relationship, therefore, the amount of adsorbed metal on solid phase increased, according to its concentration, in the aqueous phase. Essays of toxicity on bioindicators organisms showed that the untreated acid drainage promoted an acute toxicity on *Daphnia magna* (FDd = 96) that was superior when compared to the highest limit ordered by the governmental decree, n. 017 – FATMA (FDd = 8), as well as on *Artemia* sp ( $\text{CL}_{50} =$

4.97%), and a high subacute toxicity on *Allium cepa* L. ( $RC_{50} = 10.4\%$ ). After the remediation with adsorbent, it was not observed any toxicity in these organisms. But, on the biomarkers of oxidative stress estimation, it was evidenced that lipoperoxidation, DNA damage index (DI), Protein Carbonyls (PC) and Catalase activity (CAT) were significantly increased ( $P < 0.05$ ) in *Allium cepa* L., exposed to an untreated drainage (TBARS =  $128.1 \pm 7.1 \text{ nmol g}^{-1}$ ; ID =  $122.2 \pm 25.9$ ; PC =  $186.3 \pm 16.9 \text{ } \mu\text{mol mg}^{-1}$ ; CAT =  $10.57 \pm 1.42 \text{ } \mu\text{mol min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ ), when compared to a treated one (TBARS =  $61.3 \pm 4.7 \text{ nmol g}^{-1}$ ; ID =  $16.4 \pm 4.2$ ; PC =  $128.2 \pm 14.2 \text{ } \mu\text{mol mg}^{-1}$ ; CAT =  $6.30 \pm 0.14 \text{ } \mu\text{mol min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ ). Hence, there was not a significant difference in Reduced Glutathione levels (GSH) between the untreated drainage ( $0.65 \pm 0.11 \text{ mM g}^{-1}$ ) and the treated one (GSH =  $0.76 \pm 0.10 \text{ mM g}^{-1}$ ). The obtained results suggest that the treatment of drainage using coal mining waste was efficient to reduce acidity and removed metals, as well as on toxicity removal on estimated bioindicators organisms. This suggests its use as an alternative to treat these environmental contamination sources.

Keywords: coal mining waste; acid mine drainage; ions adsorption; bioindicator organisms

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de Log C <i>versus</i> pH para Al (III) a $10^{-2}$ M.....	40
Figura 2. Diagrama de Log C <i>versus</i> pH para Fe (III) a $10^{-2}$ M.....	41
Figura 3. Diagrama de Log C <i>versus</i> pH para Mn (II) a $10^{-2}$ M.....	42
Figura 4. Modelo esquemático da remediação da drenagem em processo dinâmico.....	52
Figura 5. Análise termogravimétrica do rejeito não calcinado.....	58
Figura 6. Isoterma de adsorção/dessorção do rejeito calcinado.....	59
Figura 7. Volume de poro <i>versus</i> diâmetro de poro do rejeito calcinado.....	60
Figura 8. Espectro de DRX do rejeito calcinado.....	61
Figura 9. Estrutura geométrica hexagonal de SiO <sub>2</sub> presente no rejeito calcinado.....	63
Figura 10. Estrutura geométrica romboédrica de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> presente no rejeito calcinado.	63
Figura 11. Redução da acidez de drenagem em processo estático.....	66
Figura 12. Remoção de íons de metais de drenagem em processo estático.....	67
Figura 13. Redução da acidez em drenagem remediada em processo dinâmico.....	68
Figura 14. Remoção de íons de metais em drenagem remediada em processo dinâmico.....	69
Figura 15. Cinética de adsorção de H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> pelo adsorvente.....	71
Figura 16. Linearização da equação de pseudo segunda-ordem para a adsorção de H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> .....	73
Figura 17. Isotermas de equilíbrio de adsorção dos íons H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> .....	75
Figura 18. linearização da isoterma de adsorção de H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> segundo o modelo de Langmuir.....	76
Figura 19. Efeito do pH na adsorção de íons de metais.....	78
Figura 20. Cinética de adsorção dos íons de metais.....	79
Figura 21. Linearização da cinética de pseudo segunda-ordem para a adsorção de Cu (II), Mn (II), Zn (II) e Fe (III).....	80
Figura 22. Isotermas de equilíbrio de adsorção dos íons Cu (II), Mn (II), Zn (II) e Fe (III).....	82
Figura 23. Linearização da isoterma de adsorção de Mn (II), Zn (II) e Fe (III) segundo o modelo de Langmuir.....	84

Figura 24. Mortalidade de <i>Artemia</i> sp expostos a diferentes concentrações de drenagem não remediada.....	88
Figura 25. Inibição do crescimento das raízes em <i>Allium cepa</i> L. expostas a diferentes concentrações de drenagem não remediada.....	90
Figura 26. Produtos da peroxidação de ácidos graxos polinsaturados por EROS.....	95
Figura 27. Índice de Dano ao DNA (ID) em <i>Allium cepa</i> L.....	97
Figura 28. Oxidação da base nitrogenada do DNA por EROS.....	99
Figura 29. Oxidação da pentose do DNA por EROS.....	99
Figura 30. Carbonilação de aminoácidos por EROS.....	102

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de $\text{pH}_{\text{pzc}}$ para alguns óxidos minerais.....	38
Tabela 2. Análise elementar de C, H, N, e S do rejeito não calcinado.....	57
Tabela 3. Óxidos de metais majoritários presentes no rejeito calcinado.....	60
Tabela 4. Valores de $2\theta$ característicos dos óxidos $\text{Fe}_2\text{O}_3$ e $\text{SiO}_2$ .....	62
Tabela 5. pH e concentração dos principais metais na drenagem ácida e respectivos valores previstos pela Resolução n° 357 do CONAMA.....	64
Tabela 6. Parâmetros cinéticos de adsorção de $\text{H}_3\text{O}^+$ .....	74
Tabela 7. Equações lineares e respectivos coeficientes de correlação (R) de adsorção de $\text{H}_3\text{O}^+$ .....	74
Tabela 8. Parâmetros de adsorção de $\text{H}_3\text{O}^+$ segundo os modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich.....	77
Tabela 9. Parâmetros cinéticos de adsorção de íons de metais.....	81
Tabela 10. Equações lineares e respectivos coeficientes de correlação (R) de adsorção dos íons de metais.....	81
Tabela 11. Parâmetros de adsorção de Mn (II), Zn (II), Fe (III) E Cu (II) segundo os modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich.....	84
Tabela 12. Toxicidade aguda em <i>Daphnia magna</i> exposta a diferentes diluições de drenagem ácida não remediada (NR) e remediada (R) pelo adsorvente.....	86
Tabela 13. Lipoperoxidação (TBARS), proteína carbonilada (PC), atividade da catalase (CAT) e glutatona reduzida (GSH) em <i>Allium cepa</i> L.....	92

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A	Adsorbato em solução
ANOVA	Análise de Variância
APx	Ascorbato Peroxidase
BET	Brunauer-Emmett-Teller
$b_F$	Fator de heterogeneidade da superfície do adsorvente
BJH	Barret-Joyner-Halenda
CAT	Catalase
$C_e$	Concentração de íons em solução no equilíbrio
$C_i$	Concentração inicial de íons em solução
CL <sub>50</sub>	Concentração Letal com 50% de mortalidade
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
D	Difusão do soluto na partícula.
DHAR	Deidroascorbato Redutase
DNPH	2,4-dinitrofenilidrazina
DRX	Difração de Raio X
DTNB	Ácido 2-nitrobenzóico
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
$f$	Constante de difusão intrapartícula
FAAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama
FATMA	Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina
FDd	Fator de diluição
GPx	Glutationa Peroxidase
GR	Glutationa Redutase
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
$h_0$	Velocidade inicial de adsorção
HNE	4-hidroxi-2-nonenal
HO•	Radical hidroxil
13-HOTE	Ácido hidroxi-octadecatrieônico

ICDD	<i>International Centre for Diffraction Data</i>
ID	Índice de Dano
$K_{ads}$	Constante de equilíbrio de adsorção
$k_d$	Coefficiente de distribuição
$K_F$	Constante de Freundlich
$k_1$	Constante de velocidade da adsorção de pseudo primeira-ordem
$k_2$	Constante de velocidade de adsorção de pseudo segunda-ordem.
LABIOEX	Laboratório de Bioquímica Experimental
m	Massa do adsorvato
MCO	Sistema de oxidação catalisada por metais
MDA	Malondialdeído
MDAR	Monodeidroascorbato Redutase
NAD(P)H	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
$O_2^{\bullet-}$	Radical ânion superóxido
PUFAs	Ácidos graxos poliinsaturados
pzc	Ponto zero de carga
$q_e$	Quantidade de íons adsorvida no equilíbrio
$q_m$	Quantidade máxima de íons adsorvidos
$q_t$	Quantidade de íons adsorvida no tempo t
QUITECH	Grupo de Pesquisa em Quitina e Aplicações Tecnológicas
r	Raio da partícula
R	Coeficientes de correlação
$R^{\bullet}$	Radical lipídico
$RC_{50}$	Redução de crescimento de 50%
ROOH	Hidroperóxidos
$RO^{\bullet}$	Radical alcóxil
$RO_2^{\bullet}$	Radical peróxil
S	Sítio da superfície do adsorvente
SA	Adsorbato no sítio da superfície
SOD	Superóxido Dismutase
$S_T$	Concentração máxima de sítio da superfície

TBARS	Espécies que reagem com o ácido tiobarbitúrico
TNB	Ânion tiolato
V	Volume da solução



## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	20
2.1. Atividade carbonífera e geração de drenagem ácida e rejeitos da mineração.....	20
2.2. Drenagem ácida e toxicidade em sistemas biológicos.....	21
2.3. Remediação de drenagem ácida.....	27
2.4. Processo de Adsorção.....	28
2.4.1. Cinética de Adsorção.....	29
2.4.2. Isoterma de Adsorção.....	32
2.4.2.1. Isoterma de Langmuir.....	32
2.4.2.2. Isoterma de Freundlich.....	34
2.4.2.3. Razão de distribuição sólido-solução: isoterma de Nernst.....	35
2.4.2.4. Linearização das Isotermas.....	36
2.4.3. Superfície dos óxidos metálicos.....	36
2.5. Comportamento ácido-base dos íons metálicos em solução aquosa.....	39
2.6. Utilização de rejeito da mineração como adsorvente para remediação de drenagem ácida.....	42
2.7. Monitoramento da remediação de drenagem ácida.....	43
2.7.1. Avaliação de parâmetros físico-químicos.....	43
2.7.2. Avaliação da toxicidade em organismos bioindicadores .....	44
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	47
3.1. Objetivo Geral.....	47
3.2. Objetivos Específicos.....	47
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	49
4.1. Instrumentação.....	49
4.2. Soluções.....	50
4.3. Rejeitos de mineração de carvão.....	50
4.4. Drenagem ácida de minas de carvão .....	51
4.5. Remediação da drenagem em processo estático.....	51
4.6. Remediação da drenagem em processo dinâmico.....	51

4.7. Experimentos de adsorção.....	52
4.7.1. Efeito do pH na adsorção.....	53
4.7.2. Cinéticas de adsorção.....	53
4.7.3. Isotermas de adsorção.....	54
4.8. Avaliação da toxicidade da drenagem em organismos bioindicadores.....	54
4.8.1. Toxicidade aguda em microcrustáceos <i>Daphnia magna</i> e <i>Artemia</i> sp.....	54
4.8.2. Toxicidade subaguda em <i>Allium cepa</i> L.....	55
4.8.3. Biomarcadores de estresse oxidativo em <i>Allium cepa</i> L.....	55
4.8.4. Análise estatística.....	56
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>57</b>
5.1. Caracterização do rejeito não calcinado.....	57
5.2. Caracterização do rejeito calcinado.....	58
5.3. Caracterização da drenagem ácida de mina de carvão.....	64
5.4. Remediação da drenagem em processo estático.....	65
5.5. Remediação da drenagem em processo dinâmico.....	67
5.6. Experimentos de adsorção.....	70
5.6.1. Cinética de adsorção de íons $H_3O^+$ .....	71
5.6.2. Isoterma de adsorção de íons $H_3O^+$ .....	75
5.6.3. Dependência do pH na adsorção de íons de metais.....	77
5.6.4. Cinética de adsorção de íons de metais.....	78
5.6.5. Isoterma de adsorção de íons de metais.....	82
5.7. Avaliação da toxicidade das águas de drenagem utilizando organismos bioindicadores.....	85
5.7.1. Toxicidade aguda sobre microcrustáceos <i>Daphnia magna</i> e <i>Artemia</i> sp.....	85
5.7.2. Toxicidade subaguda em <i>Allium cepa</i> L.....	89
5.7.3. Biomarcadores de estresse oxidativo em <i>Allium cepa</i> L.....	92
<b>6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>107</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>110</b>

## **1. INTRODUÇÃO**

A extração e beneficiamento de carvão mineral é uma importante atividade econômica da região sul de Santa Catarina, sendo que neste processo são gerados efluentes caracterizados, principalmente, pela expressiva acidez e elevada concentração de metais, os quais, juntamente com a estocagem de minério e de rejeitos, constituem as principais fontes de contaminação ambiental da região.

Dentre estes efluentes encontram-se as drenagens ácidas de mina que, muitas vezes, são lançadas ao meio ambiente sem prévia remediação, sendo capazes de atingir os mananciais hídricos, comprometendo a sua qualidade, havendo a necessidade de implementação de processos de remediação e monitoramento destas fontes de contaminação ambiental.

Neste contexto é que pesquisadores do laboratório do Grupo de Pesquisa em Quitina e Aplicações Tecnológicas (QUITECH – Depto de Química - UFSC) e do Laboratório de Bioquímica Experimental (LABIOEX – Depto de Bioquímica - UFSC) têm desenvolvido materiais adsorventes para remediação de efluentes de mineração de carvão, bem como, efetuado o monitoramento da remediação, utilizando-se organismos bioindicadores.

Dentre as alternativas de tratamento, tem-se proposto a utilização de óxidos de metais obtidos a partir de rejeito de mineração de carvão, uma vez que os mesmos apresentariam propriedades físico-químicas capazes de provocar a redução da acidez e dos metais presentes nas drenagens, além de dar um destino econômico ao rejeito.

Neste sentido, o presente trabalho se propôs avaliar a utilização de rejeito de mineração de carvão como adsorvente na redução da acidez e remoção de íons de metais em drenagem ácida de mina e monitorar a qualidade do efluente remediado, utilizando-se organismos bioindicadores.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

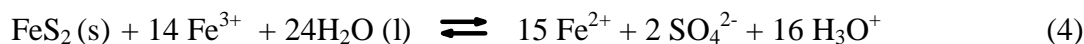
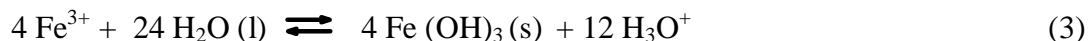
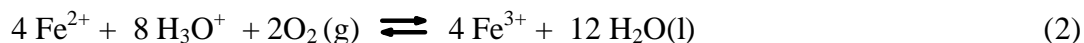
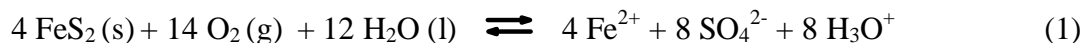
### **2.1. Atividade carbonífera e geração de drenagem ácida e rejeitos da mineração**

A descoberta do carvão mineral em território catarinense deu-se no início do século XIX, sendo que, atualmente, o Estado é um dos maiores produtores de carvão mineral em nível nacional, onde a bacia carbonífera sul-catarinense constitui uma das mais importantes, pois encerra as maiores reservas de carvão metalúrgico economicamente explorável (SIECESC, 2002).

Muito embora a mineração de carvão seja uma importante atividade econômica da região sul de Santa Catarina, a mesma tem acarretado problemas ambientais, uma vez que é capaz de modificar a estrutura do meio natural, através da deposição inadequada dos resíduos da mineração e perda do solo fértil, da contaminação dos recursos hídricos, bem como, de alterações na atmosfera pela geração de gases e poeiras (TEIXEIRA, PIRES, 2002; CAMPOS, 2003).

Dentre os contaminantes provenientes da mineração encontram-se as drenagens ácidas de mina que apresentam baixos valores de pH ( $\text{pH} < 3,0$ ) e elevada concentração de metais como alumínio, ferro e manganês. Estas águas podem ser geradas pela mobilização de aquíferos presentes no subsolo em decorrência da abertura de poços de mina e de suas galerias, vindo a sofrer percolação e conseqüente deposição nas galerias, necessitando de sua drenagem até a superfície (DIAS, 1998; TURNER, RAWLING, 2002; GEREMIAS et al., 2003).

A acidez das drenagens é decorrente, principalmente, da percolação de aquíferos em minerais sulfetados, dentre os quais, destaca-se a pirita ( $\text{FeS}_2$ ). Quando exposta ao ar e à água, a pirita é oxidada e dissociada, liberando  $\text{Fe}^{2+}$  em solução, que pode ser rapidamente oxidado a  $\text{Fe}^{3+}$  e precipitado na forma de hidróxidos. Depois de iniciada a reação, é desencadeado um ciclo onde o  $\text{Fe}^{2+}$  é oxidado a  $\text{Fe}^{3+}$  e subseqüentemente reduzido pela pirita, liberando  $\text{Fe}^{2+}$  e acidez adicional, conforme demonstrado nas Equações 1 a 4 (SNORYINK, JENKINS, 1980).



Além do ferro, outros metais como alumínio e manganês, quando presentes em minerais associados ao carvão, podem ser solubilizados e lixiviados nas drenagens em virtude dos baixos valores de pH do meio, com conseqüente elevação da concentração destes elementos nas mesmas (SASOWSKY et al., 2000).

A mineração de carvão também gera uma grande quantidade de rejeitos, os quais não são aproveitados economicamente, sendo muitas vezes depositados no meio ambiente de forma inadequada. Estes rejeitos são ricos em minerais sulfetados e, desta forma, também podem tornar-se fontes produtoras de drenagem ácida (BROFFT et al., 2002).

Assim, as drenagens ácidas e os rejeitos de mineração de carvão constituem em importantes fontes de contaminação ambiental.

## **2.2. Drenagem ácida e toxicidade em sistemas biológicos**

As drenagens ácidas de mineração de carvão muitas vezes são lançadas ao meio ambiente sem prévio tratamento, sendo capazes de atingir os mananciais hídricos. Uma vez no ambiente aquático, seus metais podem permanecer em solução como íons livres ou na forma de complexos e serem captados pelos organismos vivos. Tem-se proposto que ambiente aquáticos cujo pH e as concentrações de metais se encontram em níveis não tolerados, pode causar efeitos deletérios e até mesmo a morte da biota exposta (RIDGE, 1998; BENASSI, 2004).

Trabalhos na literatura têm demonstrado diversos efeitos tóxicos frente à exposição à elevadas concentrações de metais como alumínio, ferro e manganês. Tem-se descrito que o alumínio pode causar doenças do trato respiratório (ex: fibrose intersticial pulmonar, asma brônquica, bronquite, pneumoconiose, aluminose), distúrbios neurológicos (ex: alterações na função cognitiva, disfunção motora, neuropatia periférica e encefalopatia), osteomalácia, anemia entre outros distúrbios. Tem-se relatado que o ferro é capaz de provocar distúrbios

endócrinos e cardiovasculares, disfunção do sistema imunológico, cirrose, carcinoma hepatocelular, câncer pulmonar. O manganês também está envolvido em diversas alterações em nível biológico, podendo-se citar efeitos reprodutivos, respiratórios, neuropsicológicos por disfunção da neurotransmissão dopaminérgica e adrenérgica, processo inflamatório e alérgico, aumento da susceptibilidade à pneumonia, diminuição do peso do fígado e do peso corpóreo, fadiga, dispnéia, cefaléia, sonolência, dores abdominais, danos renais e hepáticos, hemorragia renal, esofagite, gastrite hemorrágica, síndrome parkinsoniana, alterações quantitativas das células sanguíneas entre outros (AZEVEDO, 2002; ASCHNER, ERIKSON, DORMA, 2005; KELLER et al, 2005).

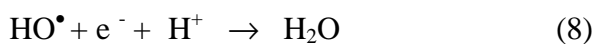
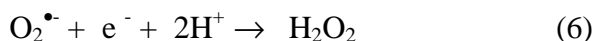
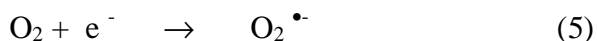
A elevada acidez também tem sido observada em águas de drenagem de mineração de carvão e a mesma pode comprometer os processos metabólicos normais em organismos expostos (RIDGE, 1998). Tem-se proposto que, em ambiente aquático cujo pH se encontra abaixo da tolerância, poderá ocorrer a morte da biota por distúrbio respiratório e osmoregulatório, em virtude de alterações no balanço de íons sódio e cloreto em nível sanguíneo, onde se observa que os íons  $H_3O^+$  em excesso são incorporados às células, com conseqüente liberação de cloretos ao meio extra celular. A morte do organismo por intolerância a ambiente ácido pode comprometer a cadeia alimentar, com conseqüente diminuição ou extinção das espécies que dependem do mesmo para sobreviverem (RIDGE, 1998). A literatura tem sugerido que uma das causas preliminares da morte de peixes em águas ácidas está relacionada com a diminuição de íons sódio no sangue e de oxigênio nos tecidos. A água ácida também é capaz de aumentar a permeabilidade das brânquias destes organismos, afetando adversamente a sua função. O desequilíbrio iônico nos peixes poderá iniciar em pH 5,5 ou em valores superiores, o que dependerá da tolerância da espécie, sendo que a anóxia severa ocorrerá, em geral, abaixo de pH 4,2. Entretanto, o pH baixo poderá não ser diretamente letal, mas é capaz de afetar adversamente a reprodução e o crescimento de peixes (RIDGE, 1998).

Em plantas, a exposição a metais como ferro, alumínio e manganês é capaz de provocar o seu bioacúmulo em diferentes tecidos e promover diversos eventos metabólicos, interação com biomoléculas e estruturas celulares, com conseqüente efeitos fitotóxicos (CLEMENS et al., 2006). Dentre os efeitos, pode-se citar: alteração estrutural, fisiológica e bioquímica de membranas, com conseqüente distúrbios na sua composição, rigidez,

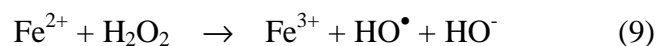
fluidez, fluxo de água e de nutrientes; redução de crescimento de tecidos (ex: raízes e folhas), do diâmetros basal e da biomassa; distúrbios do ciclo celular e da divisão celular, redução do conteúdo de clorofila e distúrbio do processo de fotossíntese; genotoxicidade entre outros (ARUN et al., 2005; TAMÁS et al., 2006).

Entretanto, as plantas apresentam mecanismos de proteção frente à exposição a metais, tais como, redução da absorção de fluídos, acúmulo do metal em constituintes extracelulares da parede dos vasos, extração dos metais por exudatos, secreção de metais nos meristemas na forma de ânios orgânicos (ex: malato, oxalato, citrato e succinato), compartimentalização dos metais em vacúolos, complexação dos metais com componente celulares (ex: ácidos orgânicos, aminoácidos, fitoquelatinas e metalotioneínas), modificação da composição de lipídeos de membrana para restaurar suas propriedade físico-química e ativação de vias metabólicas envolvidas no reparo de dano e detoxificação (LEI, KORPELAINEN, LI., 2007).

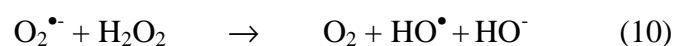
O estresse oxidativo induzidos por radicais livres também se constitui num dos principais efeitos tóxicos em sistemas biológicos frente à exposição a contaminantes ambientais. O oxigênio molecular é essencial à vida dos organismos aeróbios, sendo que sua função predominante nos eucariontes é de servir como último acceptor de elétrons na respiração mitocondrial, quando será finalmente reduzido à água durante o complexo processo de fosforilação oxidativa. A redução completa do oxigênio à água (Equações 5 a 8) requer 4 elétrons e essa redução produz, sequencialmente do começo ao fim, 3 produtos de redução, quais sejam, o radical ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxil ( $HO^{\bullet}$ ), os quais conjuntamente são denominados de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS).



Dentre as EROS geradas, destaca-se o HO• como um dos mais reativos que, juntamente com o O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>, são caracterizados como radicais livres de oxigênio. Embora o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> não seja um radical livre, o mesmo também é um produto reativo e, via Reação de Fenton (Equação 9) ou Reação de Haber-Weiss (Equação 10), pode servir como um importante precursor de HO• (WINSTON, 1991; RAND, 1995)

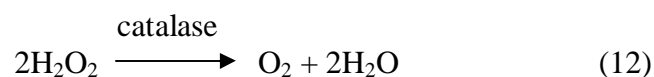
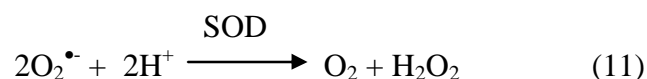


metais



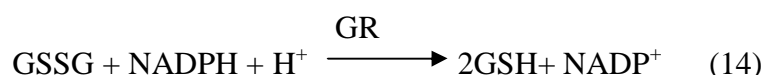
As EROS podem reagir com biomoléculas, sendo capazes de provocar danos oxidativos nestas estruturas. Entretanto, nos sistemas vivos existe uma variedade de defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas que controlam a formação excessiva das EROS. Dentre as defesas enzimáticas encontram-se as enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), enquanto que compostos como glutathiona reduzida (GSH) e ascorbato constituem em importantes defesas não enzimáticas (PENG et al., 2000; MEAGHER, FITZGERALD, 2000; ALSCHER et al., 2002).

A SOD atua na neutralização do radical ânion superóxido através de sua conversão em oxigênio e peróxido de hidrogênio (Equação 11). A catalase, por sua vez, promove a dismutação do peróxido de hidrogênio em oxigênio e água (Equação 12), impedindo, desta forma, que o mesmo participe na geração de radical hidroxil, via Reação de Fenton ou Reação de Haber-Weiss (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1999).



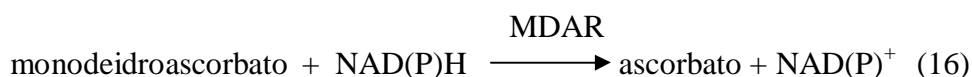


A GSH atua como doadora de grupo SH na dismutação do peróxido de hidrogênio promovida pela glutatona peroxidase (GPx), passando, então, para sua forma oxidada (GSSG) (Equação 13). Por sua vez, a glutatona redutase (GR) recicla a GSSG novamente para GSH (Equação 14), mantendo-se este ciclo de defesa antioxidante (BARREIROS, DAVID, 2006)

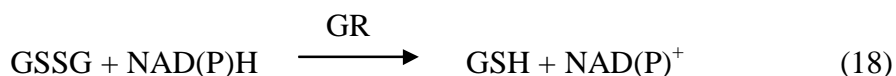
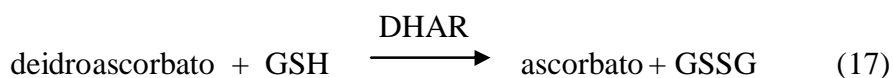


A GSH também atua como um redutor efetivo, sendo capaz de promover o seqüestro (*scavenges*) de numerosos agentes oxidantes tais como radical hidroxil ( $\text{HO}^\bullet$ ), peroxil ( $\text{RO}_2^\bullet$ ) e alcóxil ( $\text{RO}^\bullet$ ), conferindo, desta forma, proteção frente ao dano oxidativo causados por estas EROS. Além disso, a GSH é precursora de fitoquelatinas que estão envolvidas na complexação de metais em plantas, conferindo proteção em presença de metais em excesso (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1999; DIXIT, PANDEY, SHYAM, 2001).

O ascorbato atua como agente redutor na conversão do peróxido de hidrogênio em água, catalisada pela ascorbato peroxidase (APx), sendo oxidado a monodeidroascorbato (Equação 15). A monodeidroascorbato redutase (MDAR), por sua vez, recicla o monodeidroascorbato, reduzindo-o novamente a ascorbato (Equação 16) (APEL, HIRT, 2004).



O monodeidroascorbato também produz, espontaneamente, o deidroascorbato que pode ser reduzido a ascorbato pela deidroascorbato redutase (DHAR) em presença de GSH, a qual é convertida à GSSG (Equação 17). Por sua vez, a GR recicla a GSSG novamente para sua forma reduzida (GSH), mantendo-se o ciclo ascorbato-glutationa (Equação 18) (APEL, HIRT, 2004).



O ascorbato pode também exercer seu papel de proteção de danos oxidativos através do sequestro de EROS, incluindo-se os radicais  $\text{O}_2^\bullet$ ,  $\text{HO}^\bullet$ ,  $\text{RO}_2^\bullet$ , além de atuar em associação com a vitamina E na inibição da peroxidação de lipídeos de membranas (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1999).

Muito embora exista uma variedade de defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas, quando há uma produção excessiva de EROS e/ou uma diminuição destes mecanismos de defesa capaz de comprometer o balanço redox, o organismo pode estar submetido um processo denominado de estresse oxidativo. Dentre os principais danos biológicos decorrentes do estresse, encontra-se a oxidação de proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e carboidratos, podendo ser induzida diretamente pelas EROS ou indiretamente pela reação com produtos oxidativos secundários (BLOKHINA, 2002).

Já é bem estabelecido o envolvimento de metais como ferro, alumínio e manganês na geração de EROS e conseqüente indução de estresse oxidativo em sistemas biológicos. Uma vez que as drenagens ácidas de mina de carvão se caracterizam pela elevada concentração destes metais, pode-se sugerir que as mesmas se mostram potencialmente tóxica a organismos expostos (CONNOLLY, GUERINOT, 2002; MERIGA et al., 2004; LEI, KORPELAINEN, LI, 2007).

Desta forma, faz-se necessário a implementação de processo de remediação e monitoramento destas fontes de contaminação ambiental antes de serem lançadas ao meio ambiente.

### **2.3 Remediação de drenagem ácida**

Diversos tipos de remediação de drenagem ácida têm sido propostos e, para tanto, são levados em consideração os volumes gerados, além da análise qualitativa e quantitativa dos contaminantes presentes. Sugere-se que um tratamento efetivo seria aquele capaz de reduzir a sua acidez, bem como, os níveis de metais do meio. Em geral, a remediação convencional destes efluentes é feita através de uma pré-correção de pH, com posterior utilização de resinas iônicas, colunas de filtração, processos de adsorção, coagulação, floculação e flotação para remoção de metais (GASEA, ADAM, KONTOPOULOS, 1996).

Dentre estes processos, encontra-se a remediação química com agentes alcalinizantes, tais como, carbonato de cálcio, de sódio ou de magnésio e hidróxido de sódio, os quais provocam a elevação do pH da drenagem ácida, com conseqüente precipitação dos íons metálicos na forma de óxido e hidróxidos insolúveis. A remediação também pode ser efetuada através de processos aeróbicos, os quais são capazes de provocar reações de oxidação e hidrólise sobre os íons metálicos, com conseqüente geração de hidróxidos de metais insolúveis, sendo que este processo pode ser acelerado em presença de bactéria *Thiobacillus* e *Ferrobacillus ferrooxidans*, uma vez que aumentam a taxa de oxidação dos metais presentes na drenagem. A fitoremediação se constitui em um dos processos de remediação das drenagens ácidas, onde tem sido observado que planta da espécie *Typha latifolia* e algas *Oscillatoria* sp são capazes de promover a incorporação de metais em sua biomassa, bem como, provocar a o surgimento de zonas de oxidação em meio aquático, o que contribui para oxidação dos metais e conseqüente precipitação do mesmos (GASEA, ADAM, KONTOPOULOS, 1995; MANIOS, STENTIFORD, MILLNER, 2003).

A utilização de biopolímeros naturais como a quitosana tem sido empregada para a remediação de efluentes de mineração de carvão. Favere e colaboradores (2004) observaram que a quitosana na forma de microesfera foi capaz de provocar a elevação do

pH de 2,5 para 7,5 e promover a remoção de 100% de íons Fe (III) em amostras de efluentes de mineração de carvão. Em outro trabalho descrito na literatura foi observado que a quitosana na forma pulverizada e microesfera de quitosana/poli(vinilálcool) incorporada com tetrasulfonato de cobre (II)/ftalocianina também promoveu a remoção da acidez de drenagem ácida de mina, elevando o pH de 3,5 para 7,2, bem como, provocou expressiva remoção (>99%) de íons Fe (III), Zn (II) e Cu (II) (GEREMIAS et al., 2003). Laus e colaboradores (2006) utilizaram microesfera de quitosana reticulada com tripolifosfato para a remediação de águas contaminadas com efluente de mineração de carvão, tendo sido observado que, tanto em processo estático, quanto em processo dinâmico, houve a neutralização da acidez das águas (pH=2,6 para pH ~7,0) e expressiva remoção (~100%) dos íons Fe (III) e Mn (II) das mesmas.

Muito embora estes processos descritos sejam capazes de remover a acidez e os íons de metais em drenagem ácida, os mesmos são de elevados recursos financeiros, fazendo-se necessária a busca de novas tecnologias de remediação, utilizando-se materiais de baixo custo e com melhor capacidade de remoção dos poluentes (VAN RENSBURG, 2003).

Para tanto, alguns fatores importantes devem ser verificados para a avaliação da capacidade do adsorvente utilizado na remediação, podendo-se citar, o efeito do pH na adsorção, o tempo para o sistema alcançar o equilíbrio e a quantidade adsorvida em função da concentração.

## **2.4 Processo de Adsorção**

Os mecanismos de adsorção de íons metálicos (adsorvatos) em uma superfície sólida (adsorvente) podem ser de ordem física ou química. Na adsorção física, a interação entre adsorvato e adsorvente ocorre através de forças de *van der Waals* ou interações dipolo-dipolo, com valores de entalpia de adsorção ( $\Delta H$ ) inferiores a  $20 \text{ KJ mol}^{-1}$ . Na adsorção química ou quimissorção, o adsorvato interage ao adsorvente através de ligações químicas covalentes e se acomodam em sítios com o maior número de coordenação, sendo o  $\Delta H$  muito maior do que na adsorção física, assumindo valores superiores  $20 \text{ KJ mol}^{-1}$ . De um modo geral, a adsorção química é um processo exotérmico e espontâneo (à temperatura constante), onde a energia livre ( $\Delta G$ ) do sistema é negativa. Uma vez que a liberdade do

adsorvato é reduzida na adsorção, a variação da entalpia ( $\Delta H$ ) é negativa e, para que  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$  seja negativa, é necessário que  $\Delta H$  seja negativa (MCKAY, 1996).

O mecanismo de adsorção pode ser descrito, basicamente, por três etapas consecutivas: na primeira etapa ocorre a transferência de massa externa de moléculas do soluto em solução para a superfície do adsorvente; na segunda etapa há a difusão do soluto para o interior do adsorvente junto aos seus sítios de adsorção; na terceira etapa ocorre a adsorção propriamente dita. As etapas de transferência de massa e de difusão do soluto são as determinantes na velocidade de adsorção, enquanto que a última etapa não oferece nenhuma resistência ao processo. Enquanto a transferência de massa ocorre em alguns minutos, a difusão do soluto pode levar algumas horas, constituindo a principal etapa do processo de adsorção, devida à estrutura interna altamente desenvolvida do adsorvente, com um complexo de poros e canais recobrando inteiramente a partícula (MCKAY, 1996).

Os parâmetros preliminares que devem ser verificados para a avaliação de um adsorvente são a capacidade e a afinidade do adsorvente pelo adsorvato e o tempo para o sistema alcançar o equilíbrio, os quais podem ser avaliados através de estudo de equilíbrio de adsorção e estudos cinéticos.

#### **2.4.1. Cinética de Adsorção**

Várias etapas estão envolvidas na transferência de um adsorbato para o sítio de adsorção, incluindo-se o transporte para a superfície por convecção e/ou difusão molecular e a fixação na superfície. A última pode incluir várias etapas, tais como, a formação de uma ligação, hidratação, difusão superficial e processo de associação dos constituintes adsorvidos, sendo que, de maneira similar, ocorre na dessorção (STUMM, MORGAN, 1996).

Diversos modelos cinéticos são usados para testar os dados experimentais com o objetivo de avaliar o mecanismo que controla o processo de adsorção, assim como a transferência de massa e as reações químicas. Muitos modelos cinéticos rígidos, tais como, de difusão em superfície homogêneas, de difusão em poros e de difusão heterogênea foram aplicados para descrever o transporte de moléculas para o interior das partículas do

adsorvente, entretanto, a complexidade matemática destes modelos limita a sua utilização prática (WU et al, 2001).

Alternativamente, é possível analisar a cinética de adsorção com modelos mais simples, como os das equações de pseudo primeira-ordem e pseudo segunda-ordem. A equação de pseudo primeira-ordem está representada pela Equação 19,

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1 (q_e - q_t) \quad (19)$$

onde:

$k_1$  = constante de velocidade da adsorção de pseudo primeira-ordem

$q_t$  = quantidade adsorvida no tempo  $t$

$q_e$  = quantidade adsorvida no equilíbrio

Após a integração e aplicação das condições iniciais  $q_t = 0$  no  $t = 0$  e  $q_t = q_t$  no  $t = t$  da Equação 19 obtém-se a Equação 20. O gráfico de  $\log (q_e - q_t)$  ~~vs~~  $t$  fornece os valores de  $k_1$  e  $q_e$  (WU et al, 2001).

$$\log (q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1}{2,303} t \quad (20)$$

A equação de pseudo segunda-ordem é baseada na capacidade de adsorção no equilíbrio, podendo ser expressa pela Equação 21, onde  $k_2$  é a constante de velocidade de adsorção de pseudo segunda-ordem.

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2 (q_e - q_t)^2 \quad (21)$$

Integrando a Equação 21 e aplicando as condições iniciais, tem-se a Equação 22, equivalentemente, a Equação 23:

$$\frac{1}{(q_e - q_t)} = \frac{1}{q_e} + k_2 t \quad (22)$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (23)$$

Comparando-se as Equações 22 e 23, pode-se observar que a última apresenta uma vantagem, pois  $k_2$  e  $q_e$  podem ser obtidos a partir do intercepto e da inclinação do gráfico de  $(t/q_t)$  vs  $t$ , sendo que não existe a necessidade de se conhecer previamente nenhum parâmetro (HO, MCKAY, 1999; WU et al., 2001).

A velocidade de adsorção inicial ( $h$ ) para este modelo pode ser determinada a partir dos valores de  $q_e$  e  $k_2$ , empregando a Equação 24:

$$h_0 = k_2 q_e^2 \quad (24)$$

Caso o modelo das Equações 22 e 23 não possibilitem uma confirmação do mecanismo de adsorção, outro modelo simplificado pode ser testado, ou seja, o de difusão intrapartícula. De acordo com este modelo, a aproximação fracional para mudanças no equilíbrio ocorre de acordo com a função  $(Dt/r^2)$ , onde  $r$  é o raio da partícula e  $D$  indica a difusão do soluto na partícula. A constante de difusão intrapartícula ( $\mathcal{D}$ ) pode ser determinada pela linearização (plote de  $q_t$  vs  $t^{0,5}$ ) da curva obtida pela Equação 25.

$$q_t = f(t^{0,5}) \quad (25)$$

Estudos têm mostrado que a adsorção pode ocorrer em duas ou mais etapas. A primeira etapa é a adsorção na superfície externa (etapa instantânea), a segunda é a adsorção gradual, onde a velocidade da difusão intrapartícula é controlada, e a terceira etapa é o estágio final do equilíbrio, onde a difusão intrapartícula começa a diminuir lentamente devido às concentrações extremamente baixas do soluto na solução. Quando a

difusão intrapartícula controla o processo cinético de adsorção, o gráfico de  $q_t$  vs  $t^{0.5}$  fornece uma reta que passa pela origem (WU et al., 2001; GUPTA, BHATTACHARYYA, 2005).

Uma boa correlação dos dados experimentais indica qual o modelo mais adequado para avaliar a adsorção de um soluto pelo adsorvente estudado.

## 2.4.2. Isoterma de Adsorção

A adsorção é frequentemente descrita em termos de isoterma, na qual mostra a relação entre a concentração do adsorvato na fase aquosa e a quantidade adsorvida numa temperatura constante. A isoterma, então, reflete um equilíbrio e, dentre os principais modelos propostos, encontram-se os de Langmuir, de Freundlich e de Nernst, descritos a seguir.

### 2.4.2.1. Isoterma de Langmuir

A isoterma de Langmuir assume que a superfície do adsorvente é uniforme com sítios de adsorção energeticamente idênticos. A equação de Langmuir é derivada da aplicação das leis das massas:



onde:

S = sítio da superfície do adsorvente

A = adsorbato em solução

SA = adsorbato no sítio da superfície

A concentração de espécies da superfície pode ser expressa em mmols ou miligramas por grama (ou kg) ou por  $\text{cm}^2$  (ou  $\text{m}^2$ ). Aplicando-se a equação da lei das massas, tem-se:

$$\frac{[SA]}{[S][A]} = K_{\text{ads}} = \exp\left(\frac{-\Delta G^{\circ}_{\text{ads}}}{RT}\right) \quad (26)$$



A concentração máxima de sítio da superfície ( $S_T$ ) é dada por:

$$[S_T] = [S] + [SA] \quad (27)$$

A partir da equação 26 e 27, obtêm-se a Equação 28:

$$[SA] = [S_T] \frac{K_{ads} [A]}{1 + K_{ads} [A]} \quad (28)$$

Se definirmos que a concentração na superfície é:

$$q_e = \frac{[SA]}{\text{massa adsorvente (g)}} \quad (29)$$

e que:

$$q_m = \frac{[S_T]}{\text{massa adsorvente (g)}} \quad (30)$$

$$[A] = C_e$$

é obtida a equação de Langmuir,

$$q_e = \frac{q_m K_{ads} C_e}{1 + K_{ads} C_e} \quad (31)$$

onde:

$q_e$  = quantidade de íons adsorvidos no equilíbrio

$q_m$  = quantidade máxima de íons adsorvidos

$C_e$  = concentração de íons em solução no equilíbrio

$K_{ads}$  = constante de equilíbrio de adsorção

Quando a concentração  $C_e \rightarrow 0$ , então  $1 + K_{ads}C_e \rightarrow 1$  e, neste caso, a Equação 31 se torna uma isoterma linear  $q_e = k_{ads}C_eq_m$ , obedecendo a lei de Henry para soluções diluídas. Por outro lado, quando a concentração  $C_e$  é elevada,  $1 + K_{ads}C_e \rightarrow K_{ads}C_e$ , a equação de Langmuir se torna  $q_e = q_m$  (MCKAY, 1996).

Geralmente, a equação de Langmuir é conhecida na forma da Equação 31, mas pode ser também escrita como:

$$\frac{\theta}{1-\theta} = K_{ads} [A] \quad (32)$$

onde:

$$\theta = \frac{[SA]}{[S_T]} \quad (33)$$

#### **2.4.2.2. Isoterma de Freundlich**

A isoterma de Freundlich (Equação 34) descreve o equilíbrio em superfícies heterogêneas e, por esta razão, não assume uma capacidade de adsorção em monocamada. Esta equação sugere que a concentração do adsorbato na superfície do adsorvente aumenta na medida em que também aumenta a concentração do adsorbato na solução, onde  $K_F$  ( $L \text{ mg}^{-1}$ ) é a constante de Freundlich a qual representa a capacidade do adsorvente e  $b_F$  (adimensional) é o fator que indica a heterogeneidade da superfície do adsorvente. Os

valores de  $b_F$  variam entre 0 e 1, sendo que quanto mais heterogênea a superfície, mais o valor de  $b_F$  se aproximará de zero (MCKAY, 1996).

$$q_e = K_F C_e^{b_F} \quad (34)$$

Esta isoterma descreve a adsorção em superfícies “amorfas”, onde a quantidade adsorvida é a somatória da adsorção em todos os sítios, cada um possuindo uma energia de ligação. A mesma é largamente recomendada para estudos em superfície heterogênea, entretanto este modelo não converge com a lei de Henry em baixas concentrações do adsorbato, ou seja, em baixa cobertura da superfície do adsorvente, descrevendo adequadamente o equilíbrio quando  $q_e \rightarrow 0$  (MCKAY, 1996; NG et al., 2002).

#### **2.4.2.3. Razão de distribuição sólido-solução: isoterma de Nernst**

Se  $b_F=1$  na equação de Freundlich, podemos definir a razão de distribuição ou coeficiente de distribuição:

$$k_d = \frac{q_e}{C_e} = \frac{\text{mol kg}^{-1}}{\text{mol L}^{-1}} = \text{L kg}^{-1} \quad (35)$$

Esta isoterma linear indica que a afinidade do adsorvente pelo adsorbato permanece a mesma para todos os níveis de  $q_e$ , sendo semelhante à lei de Henry, a qual descreve a absorção de gases.

A maioria das isotermas parece ser linear em baixas concentrações, entretanto a razão de distribuição é frequentemente usada como uma “constante condicional”, por exemplo, válida para uma certa faixa de concentração em um dado pH.

Normalmente, no processo de adsorção, os modelos de isoterma mais empregados para interpretar os dados experimentais são os de Langmuir e de Freundlich, devido à facilidade de transformar estas equações para a forma linear e assim estimar graficamente os parâmetros de adsorção.

#### 2.4.2.4 Linearização das Isotermas

No modelo de Langmuir a constante  $K_{ads}$  e a quantidade máxima adsorvida ( $q_m$ ) podem ser obtidas através de linearizações da equação de Langmuir pelas Equações 36 e 37:

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{K_{ads} C_e q_m} + \frac{1}{q_m} \quad (36)$$

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{K_{ads} q_m} + \frac{C_e}{q_m} \quad (37)$$

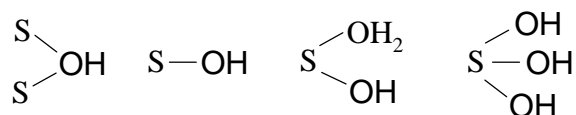
O gráfico mais freqüente para determinar os parâmetros de adsorção é  $C_e/q_e$  vs  $C_e$  o qual fornece os valores de  $K_{ads}$  e  $q_m$  através dos coeficientes linear e angular das retas obtidas (MCKAY, 1996; NG et al., 2002).

A equação de Freundlich (Equação 34) pode ser linearizada pela aplicação de logaritmos (Equação 38) para obtenção dos parâmetros  $K_F$  e  $b_F$ , a partir dos coeficientes linear e angular, respectivamente, do gráfico de  $\log q_e$  vs  $\log C_e$  (MCKAY, 1996).

$$\log q_e = \log K_F + b_F \log C_e \quad (38)$$

#### 2.4.3 Superfície dos óxidos metálicos

Os óxidos, especialmente, de Si, Al e Fe, são abundantes na crosta terrestre. Os mesmos estão presentes nas águas naturais, sedimentos e solos, sendo que na presença de água, estes óxidos apresentam as superfícies recobertas por camadas de grupos hidroxilas:

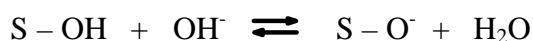
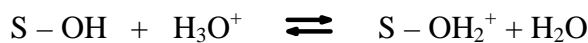


A superfície destes óxidos tem propriedades doadoras similares aos solutos correspondentes dissolvidos, tais como hidróxidos e carboxilato. De acordo com Dzombak e Morel (1990), os seguintes critérios são característicos de todos os modelos de complexação superficial:

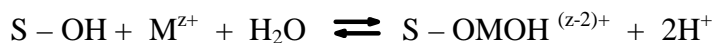
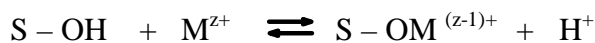
- A sorção ocorre em um sítio específico de coordenação;
- A reação de sorção pode ser descrita pela lei de ação das massas;
- A carga superficial resulta da sorção;
- O efeito da carga superficial na sorção pode ser levado em consideração, aplicando-se uma correção à teoria da dupla camada elétrica para ser empregado na lei das massas para as reações de superfície.

Alguns dos mais importantes exemplos de equilíbrio de adsorção que ocorre na superfície dos óxidos seriam:

- Equilíbrio ácido-base



- Ligação com metal



A grande maioria dos processos que ocorre em superfícies sólidas formadas por óxidos de minerais deve-se ao fato de que as mesmas adquirem uma carga elétrica superficial quando postas em contato com o meio aquoso. A carga pode ser originada por reações químicas de superfície, uma vez que muitas superfícies sólidas contêm grupos funcionais ionizáveis (ex: OH, COOH,  $-\text{PO}_3\text{H}_2$ ). A carga das partículas depende do grau de ionização e, conseqüentemente, do pH do meio. A carga superficial também pode ser decorrente das imperfeições latentes na superfície de sólidos e por “reposição amorfa” dentro das imperfeições. Estas cargas também podem ser estabelecidas por adsorção iônica, sendo possível atrair seletivamente cátions ou ânions, dependendo do pH e do ponto zero de carga (pzc) do sólido em questão. O ponto zero de carga ou ponto isoelétrico é o valor do pH onde a carga superficial é zero. Esta é a primeira de todas as condições da superfície onde a carga é estabelecida pela troca de prótons na superfície. Assim para um pH abaixo do  $\text{pH}_{\text{pzc}}$ , a carga superficial será positiva e para um pH acima do  $\text{pH}_{\text{pzc}}$  a carga será negativa (FRITZEN, 2002).

A Tabela 1 apresenta o  $\text{pH}_{\text{pzc}}$  para algumas superfícies de óxidos de minerais.

Tabela 1. Valores de  $\text{pH}_{\text{pzc}}$  para alguns óxidos minerais (FRITZEN, 2002)

<b>Óxidos</b>	<b>pH<sub>pzc</sub></b>
$\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$	9,1
$\alpha\text{-Al(OH)}_3$	5,0
$\text{Fe}_3\text{O}_4$	6,5
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	6,7
$\delta\text{-MnO}_2$	2,8
$\beta\text{-MnO}_2$	7,2
$\text{SiO}_2$	2,0

A formação destas cargas elétricas é devido a um complexo balanço de processos de ionização da superfície, com adsorção e dissolução dos íons. Observa-se que os íons de carga oposta (contra-íons) são atraídos pela superfície e os de mesmo sinal (co-íons) são repelidos. Isto faz com que surja uma dupla camada elétrica que se constitui de uma superfície carregada mais o meio polar, que são os contra e co-íons (FRITZEN, 2002).

## **2. 5. Comportamento ácido-base dos íons metálicos em solução aquosa**

O estudo do comportamento ácido-base de íons metálicos em solução permite prever as espécies predominantes em função da concentração e do pH do meio. Neste sentido, será discutido o comportamento dos íons Al (III), Fe (III) e Mn (II), os quais estão majoritariamente presentes nas amostras de drenagem ácida de mina de carvão.

A Figura 1 apresenta o diagrama de Log C *versus* pH para o Al (III). Este é um dos possíveis diagramas, uma vez que existem diversas variedades de óxido de alumínio com solubilidades ligeiramente diferentes. Observa-se que em meio ácido predomina o cátion  $Al^{3+}$  que coexiste com os cátions básicos  $Al(OH)^{2+}$  e  $Al(OH)_2^+$  (utilizou-se linhas com traçados descontínuas para as formas  $Al(OH)_2^+$  e  $Al(OH)_3$  por não se conhecer com segurança as suas constantes). Estas espécies básicas são as que promovem a precipitação dos hidróxidos e sais básicos de alumínio. A pH próximo a 3,5 precipita o óxido hidratado (comumente denominado de hidróxido) que se redissolve em meio alcalino (pH~12,5) originando o íon aluminato,  $AlO_2^-$ . Muito embora não esteja representado no diagrama, tem-se a evidência de que existam as espécies polinucleares  $Al_2(OH)_2^{4+}$  e  $Al_3(OH)_4^{5+}$ . O caráter ácido do  $Al^{3+}$  faz com que a dissolução de seus sais em água dê origem à formação de precipitados de sais básicos, incluindo-se o hidróxido  $Al(OH)_3 \downarrow$ . Evidentemente, esta hidrólise pode ser evitada adicionando ácido de forma que o pH final esteja situado na zona de predomínio de  $Al^{3+}$ .

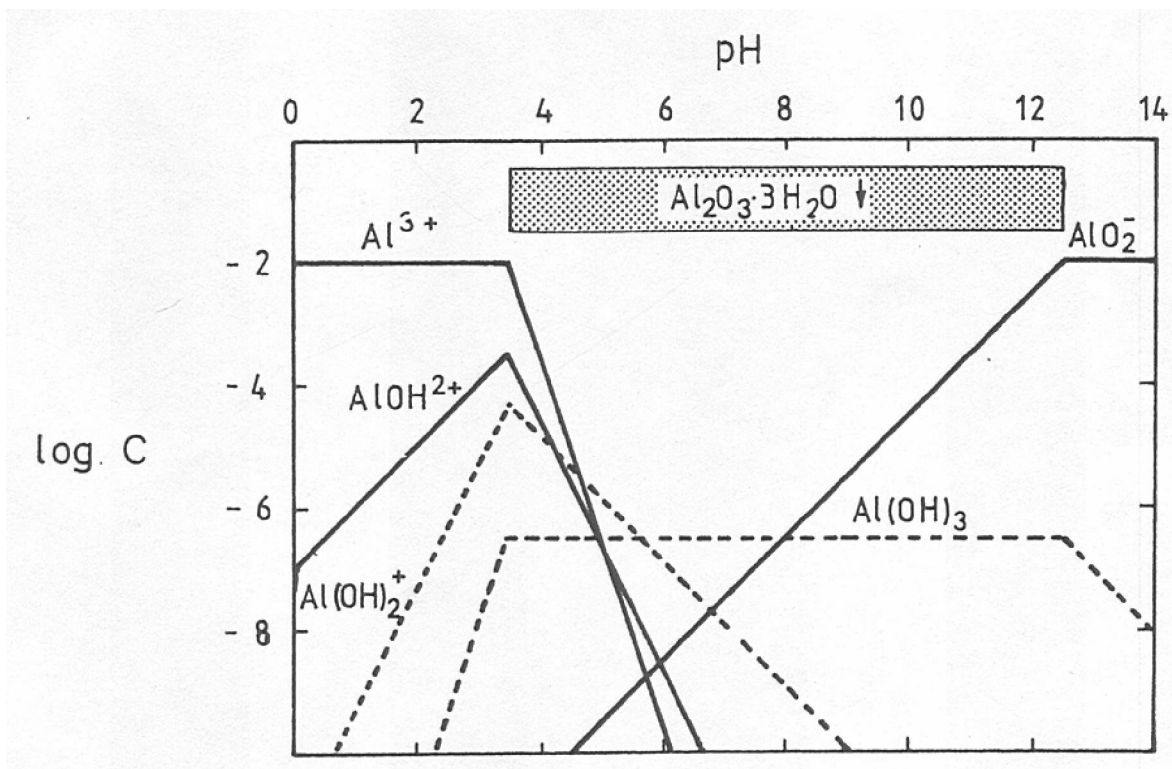


Figura 1. Diagrama de Log C *versus* pH para Al(III) a  $10^{-2}$  mol L $^{-1}$ . (MARTI, 1998; Com adaptações)

A Figura 2 descreve o diagrama de Log C *versus* pH para o Fe (III). O  $Fe^{3+}$  é um cátion mais ácido do que o  $Fe^{2+}$  e, em consequência, necessita maior acidez para sua estabilização em meio aquoso. Conhecem-se as espécies básicas  $Fe(OH)^{2+}$ ,  $Fe_2(OH)_2^{4+}$  e  $Fe(OH)_2^+$ , cuja concentração pode ser importante em meio ligeiramente ácido e podem precipitar como sais básicos. A valores de pH próximos a 2, precipita o hidróxido  $Fe(OH)_3$  (na realidade é um óxido hidratado) que é estável em meio alcalino. Em meio muito alcalino podem existir concentrações traço da espécie  $Fe(OH)_6^{3-}$  (não representado no diagrama por desconhecer-se a constante correspondente) em equilíbrio com o sólido  $Fe(OH)_3$ . A elevação da temperatura e a diluição favorecem a hidrólise e, como consequência, alguns sais férricos de ácido fraco precipitam quantitativamente.



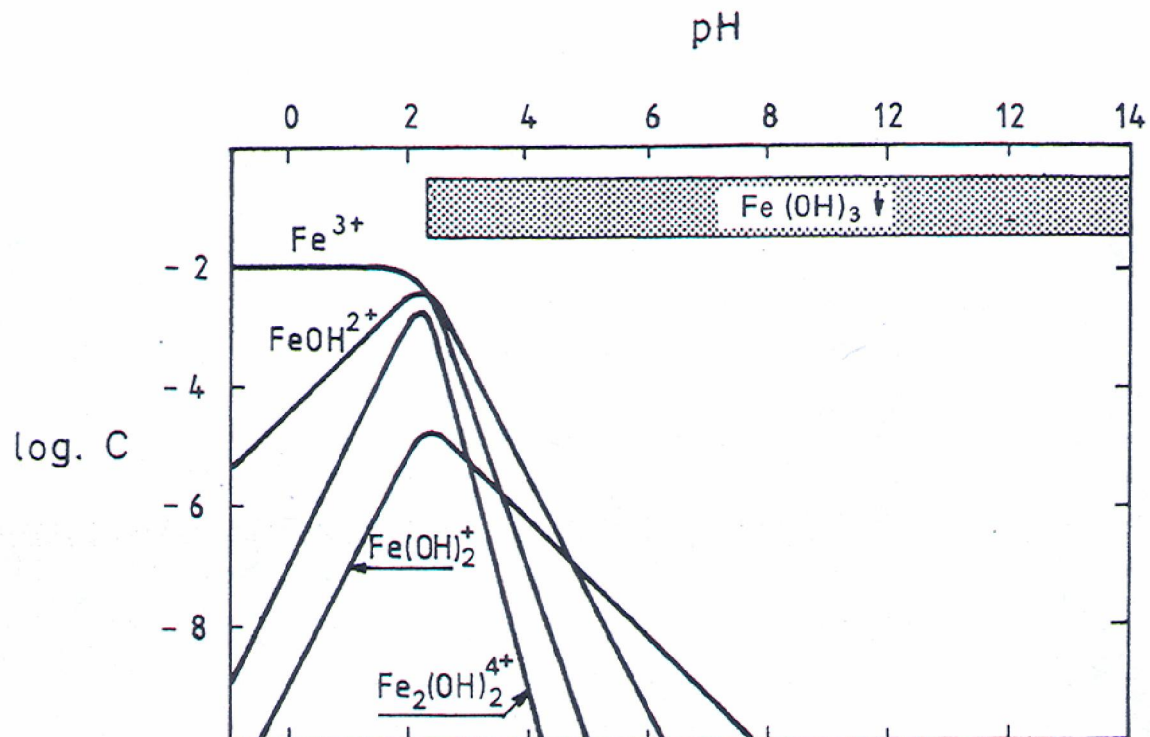


Figura 2. Diagrama de Log C *versus* pH para Fe(III) a  $10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. (MARTI, 1998; Com adaptações)

A Figura 3 apresenta o diagrama de Log C *versus* pH para o Mn (II). O Mn<sup>2+</sup> é um cátion estável em meio ácido, neutro ou fracamente alcalino. Observa-se no diagrama que o hidróxido não inicia sua precipitação até um valor de pH 8,5. Este hidróxido não tem caráter anfótero, muito embora em meio alcalino forte e em ausência de oxidantes, incluindo o oxigênio dissolvido, pode coexistir em baixas concentrações do ânion HMnOH<sub>2</sub><sup>-</sup>. Conhece-se também as espécies catiônicas MnOH<sup>+</sup>, cuja concentração pode ser importante a valores de pH próximos 9.

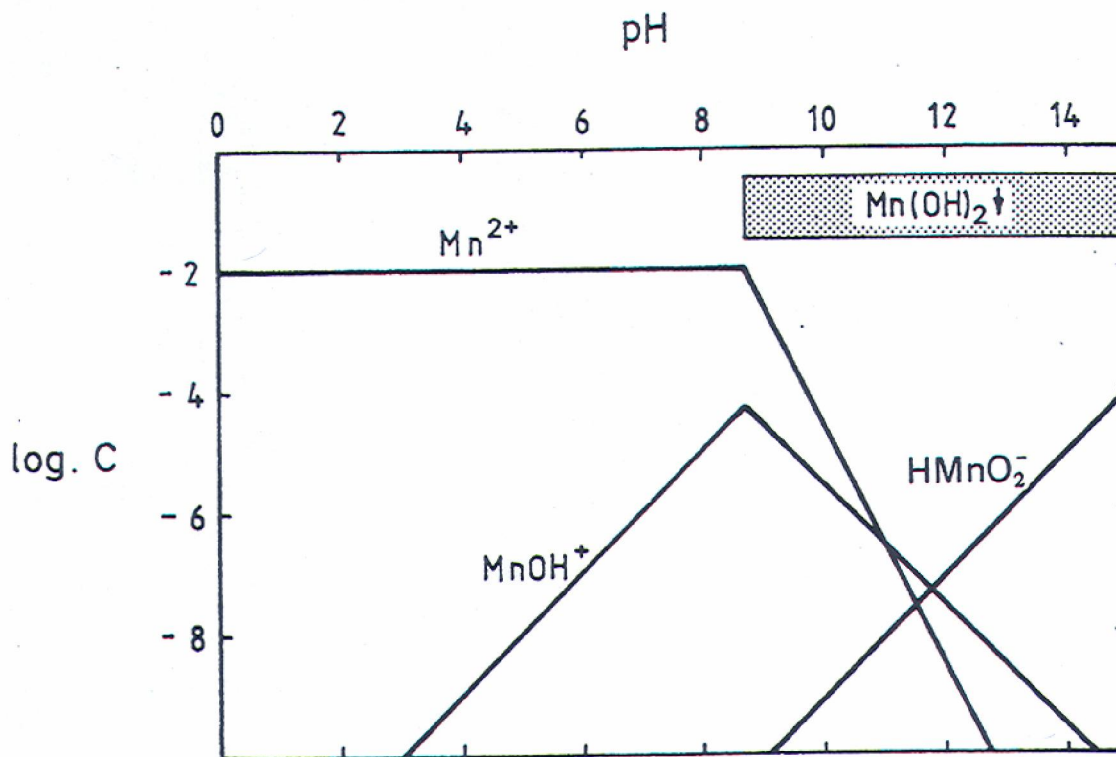


Figura 3. Diagrama de Log C *versus* pH para Mn (II) a  $10^{-2}$  mol L $^{-1}$ . (MARTI, 1998; Com adaptações)

## 2.6. Utilização de rejeito da mineração como adsorvente para remediação de drenagem ácida

Além da drenagem ácida, a geração de rejeitos de mineração também constitui em um dos principais impactos decorrentes da atividade carbonífera. Dentre as alterações ambientais promovidas pelos rejeitos pode-se citar a supressão de áreas de vegetação, reconfiguração de superfícies topográficas, impacto visual, aceleração de processos erosivos, inviabilidade de uso alternativo do solo, emissão de gases e partículas no ar, aumento da turbidez e assoreamento de corpos d'água, geração de drenagem ácida, contaminação dos recursos hídricos e comprometimento da qualidade de vida da população do seu entorno (BITAR, 1997).

Desta forma, a implementação de novos processos de remediação de drenagem ácida de mineração de carvão e a destinação econômica do rejeito gerado nesta atividade são demandas emergentes para a melhoria da qualidade dos ambientes impactados por estes contaminantes.

Neste contexto, a utilização de óxidos de metais obtidos por processo de calcinação de rejeito de mineração de carvão poderia ser uma alternativa de remediação de drenagem ácida. Tem-se proposto que estes óxidos seriam capazes de atuar como adsorvente de  $H_3O^+$ , provocando a elevação do pH com conseqüente precipitação e remoção de metais, além de adsorverem metais por atração eletrostática e forças dipolo, em decorrência da presença de cargas superficiais (DOYE, DUCHESNE, 2003; PASCOAL, 2000).

Portanto, além de dar um destino econômico ao rejeito, o seu uso no tratamento de drenagem ácida teria uma grande contribuição na proteção do meio ambiente.

## **2.7. Monitoramento da remediação de drenagem ácida**

O monitoramento da qualidade de efluentes industriais, bem como, dos processos propostos para a sua remediação é de suma importância para que se tenha uma melhor avaliação dos seus impactos sobre o meio ambiente. Para tanto, pode-se propor a utilização de parâmetros físico-químicos e ensaios de toxicidade em organismo bioindicadores, os quais serão descritos a seguir.

### **2.7.1. Avaliação de parâmetros físico-químicos**

Para o processo de monitoramento de drenagem ácida, pode-se propor a avaliação de parâmetros físico-químicos, tais como, acidez e concentração de metais, uma vez que seriam os principais fatores envolvidos na toxicidade destas fontes de contaminação ambiental. Neste contexto, a utilização de valores de referência destes parâmetros preconizados pela legislação de proteção ambiental poderia contribuir para este processo.

A Resolução do nº 357 de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. A mesma preconiza os valores de referência de

diversos parâmetros físico-químicos e, dentre os mesmos, encontram-se o intervalo de pH e as concentrações de metais em efluentes de qualquer fonte poluidora (CONAMA, 2005).

De acordo com aquele dispositivo legal, os efluentes somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água após o devido tratamento e desde que obedeçam às condições, padrões e exigências dispostos na mesma e em outras normas aplicáveis (CONAMA, 2005).

Salienta-se também que a Resolução estabelece que o efluente de qualquer fonte poluidora não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente (CONAMA, 2005).

### **2.7.2. Avaliação da toxicidade em organismos bioindicadores**

Além da utilização de parâmetros físico-químicos, também seria importante a utilização de ensaios de toxicidade, como forma de se obter uma melhor avaliação da qualidade das drenagens ácidas e da eficácia dos sistemas de remediação das mesmas (GEREMIAS et al., 2003).

Para tanto, tem-se sugerido uma grande variedade de técnicas que utilizam organismos bioindicadores, células isoladas, organelas, sistemas enzimáticos, entre outras, os quais são capazes de avaliar o grau de toxicidade de diversas fontes de contaminação ambiental. Em geral, os organismos bioindicadores são utilizados em metodologias cujo objetivo consiste em testar a sua sobrevivência e, para este propósito, tem-se indicado teste de toxicidade aguda em microcrustáceos (ex: *Artemias*, *Daphnia magna*) e subaguda em plantas (ex: *Allium cepa* L.), além de outros organismos como bactérias, fungos e animais (SVENSSON et al., 2005; SAURABH et al., 2005).

A letalidade de organismos tem sido utilizada para um rápido e relativamente simples monitoramento da resposta biológica, onde existe apenas um parâmetro envolvido, qual seja, vida ou morte, sendo que os resultados podem ser facilmente tratados estatisticamente. O ensaio de letalidade permite a avaliação da toxicidade geral e, portanto, é considerado essencial como bioensaio preliminar no estudo de compostos com potencial atividade biológica (CAVALCANTE, 1999).

A legislação também tem preconizado ensaios de toxicidade sobre organismos bioindicadores para avaliação da qualidade de efluentes industriais. A Portaria Nº 017 de 18/04/2002 da Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina (FATMA) estabelece os Limites Máximos de Toxicidade Aguda para efluentes de diferentes origens sobre microcrustáceos *Daphnia magna* (STRAUS, 1820). Os resultados são expressos em Fator de Diluição (FDd), o qual representa a primeira de uma série de diluições de uma amostra na qual não mais se observa efeitos tóxico agudos aos organismos-teste. Para drenagens ácidas é preconizado um valor de FDd  $\leq 8$  (12,5% de diluição). Desta forma, estes valores de referência poderiam ser utilizados no monitoramento das águas de drenagem em estudo, bem como, na avaliação da eficácia do tratamento proposto.

Diversos trabalhos têm relatado com sucesso o uso de plantas superiores como um bioensaio sensível e rápido de *screening* para a avaliação da contaminação atmosférica, de solos, de águas superficiais e subterrâneas e efluentes residenciais e industriais. Neste contexto, tem-se sugerido o uso de *Allium cepa* L. (cebola) como organismo bioindicador de aplicação ecotoxicológica para a avaliação de ambientes contaminados. O uso desta planta foi introduzido em 1938 como teste biológico para avaliação dos efeitos citogenéticos da colchicina. Até então, a mesma vem sendo utilizada como organismos bioindicador para a avaliação ecotoxicológica de ambientes contaminados por várias classes de poluentes, tais como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, pesticidas halogenados, metais pesados entre outros. Para tanto, tem sido avaliados diversos parâmetros fitotóxicos, tais como, bioacúmulo de contaminantes em diferentes tecidos (raízes, folhas e bulbos), inibição de crescimento de raízes e folhas, efeitos citogenéticos e mutagênicos, entre outros. O uso deste vegetal em testes ecotoxicológicos tem sido sugerido, uma vez que oferece benefícios como sensibilidade, reprodutibilidade, resposta em breve período de tempo, necessidade de pouco volume de amostra de contaminante, bem como, baixo custo. *Allium cepa* L. também tem sido recomendado por agências internacionais de proteção ambiental para avaliação da toxicidade de contaminantes ambiental (RICHA et al., 2005; FATIMA, AHMAD, 2005; MADEJÓN et al., 2006; FISKEJÖ, 2006; FATIMA, AHMAD, 2006; CALZONI et al., 2007; TOMASEVI et al., 2008).

A morte em organismos bioindicadores expostos a contaminantes é um parâmetro drástico de avaliação de toxicidade. Desta forma, o desenvolvimento e uso de biomarcadores de exposição e de efeito, enquanto indicadores de alterações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas em organismos-teste, vêm ganhando espaço como mecanismo de avaliação de impacto ambiental em diversos países (STREB et al., 2002).

Os biomarcadores de exposição são aqueles que indicam a exposição do indivíduo ao poluente, sendo capazes de estimar a dose interna ou a bioviabilidade de um xenobiótico particular ou seu metabólito em um organismo. Os biomarcadores de efeito são todos aqueles que demonstram algum tipo de efeito adverso no organismo exposto, o qual pode ser decorrente de uma falha no mecanismo de defesa, ocasionando injúrias histológicas e fisiológicas (OKEY, 1990; DALHOFF et al., 2005).

Dentre os biomarcadores, encontram-se os de estresse oxidativo induzido por radicais livres e pelas espécies reativas do oxigênio e, para tanto, pode-se avaliar a lipoperoxidação, a carbonilação de proteínas, a fragmentação do DNA, os níveis de GSH, a atividade de enzimas antioxidantes (ex: CAT e SOD), entre outros (BENASSI, 2004).

A literatura tem proposto a avaliação de estresse oxidativo, utilizando-se *Allium cepa* L. como organismo bioindicador de escolha, sendo observado uma resposta dos biomarcadores ante a exposição a efluentes industriais e a diferentes metais (FÁTIMA, AHMAD, 2005). Neste contexto, poder-se-ia propor a utilização deste bioindicador para a avaliação da toxicidade das drenagens ácidas a partir do estresse oxidativo provocado pela exposição às mesmas, uma vez que entre os seus contaminantes químicos estão presentes os íons metálicos que podem atuar como agentes catalisadores na geração de EROS, principalmente, via reação de Fenton e Haber-Weiss.

Portanto, aliando-se o monitoramento físico-químico com ensaios em organismos bioindicadores, poderia-se ter uma melhor caracterização ecotoxicológica desta fonte de contaminação ambiental, bem como, uma avaliação mais efetiva do processo de remediação propostos no presente trabalho.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

O presente trabalho teve como objetivo geral utilizar rejeito de mineração de carvão como adsorvente para redução da acidez e remoção de íons de metais majoritários presentes nas amostras de drenagem ácida de mina de carvão e avaliar este processo, utilizando-se ensaios de toxicidade em organismos bioindicadores.

#### **3.2. Objetivos específicos**

. Caracterizar o rejeito de mineração de carvão utilizado como adsorvente, através da análise elementar, análise termogravimétrica, determinação os óxidos majoritários, medida da área superficial, volume de poros e diâmetro dos poros;

. Caracterizar a drenagem ácida de mina de carvão não remediada através da determinação do pH e da concentração de íons de metais;

. Avaliar a remoção da acidez e dos íons de metais majoritários nas drenagens após a sua remediação com rejeitos de carvão como adsorvente em processo estático e processo dinâmico e confrontar os dados obtidos com os previsto pela Resolução N<sup>o</sup> 357 do CONAMA.

. Efetuar estudos de adsorção de íons  $H_3O^+$  em drenagem ácida e dos íons Cu (II), Mn (II), Zn(II) e Fe (III) em soluções sintéticas, utilizando rejeito de mineração como adsorvente para evidenciar o mecanismo de remoção da acidez e íons de metais na drenagem ácida de mina;

- . Avaliar os sistemas de remediação, utilizando-se ensaios de toxicidade aguda em microcrustáceos *Daphnia magna* e *Artemia* sp e subaguda em planta *Allium cepa* L., bem como, empregando-se biomarcadores de estresse oxidativo em *Allium cepa* L.
- . Comparar os processos de remediação utilizados quanto à sua efetividade, para posterior avaliação da utilização de rejeito de mineração como alternativa de remediação de drenagem ácida de mineração de carvão.



## **4 METODOLOGIA**

### **4.1. Instrumentação**

A análise de Carbono, Hidrogênio, Nitrogênio e Enxofre (CHNS) foi determinada com analisador elementar CE Instruments- modelo CHNS EA 1100.

A análise termogravimétrica (TGA) foi efetuada, utilizando-se um analisador termogravimétrico SHIMADZU – modelo TGA-50.

A calcinação do rejeito foi efetuada utilizando-se Mufla JUNG- modelo DIGIMEC BTC 9090.

Para a caracterização dos óxidos do rejeito calcinado foi utilizado difratômetro PHILIPS-modelo X' PERT, com radiação  $\text{CuK}\alpha_1$  ( $\lambda=1.54056\text{\AA}$ ) e gerador de raio-X operado em 40KV e 30 mA.

A área superficial, o volume de poros e o diâmetro médio dos poros do rejeito calcinado foram avaliados em equipamento de fisorção AUTOSORB 1C.

A determinação dos metais majoritários para a caracterização do rejeito calcinado e dos íons de metais nos experimentos de adsorção foi efetuada empregando espectrômetro HITACHI – modelo Z8230 equipado com corretor de fundo por efeito Zeeman, atomizador ar-acetileno e óxido nitroso-acetileno e lâmpada de cátodo oco dos metais e espectrômetro VARIAN SPECTRA AA50.

As medidas de pH foram realizadas utilizando-se pHmetro CORNING - modelo pH/ION ANALYZER 350.

A remediação da drenagem em processo estático foi realizada utilizando incubadora mini shaker MARCONI-modelo MA 832.

A remediação da drenagem em processo dinâmico foi feita mediante a utilização de bomba peristáltica ISMATEC - modelo 78016-30.

As determinações espectrofotométricas para avaliação dos biomarcadores de estresse oxidativo foi efetuada utilizando-se espectrofotômetro TECHCOMP – modelo 8500 II.

Nos ensaios de fragmentação do DNA foi utilizado uma fonte para eletroforese CONSORT – modelo E8 44 e microscópio óptico LEICA – DMIL.

## **4.2. Soluções**

As soluções estoques de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  dos íons metálicos foram preparadas a partir de diluição em água bidestilada de ampolas de titrisol (MERCK). Soluções padrões de trabalho foram preparadas a partir da solução estoque. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

## **4.3. Rejeitos de mineração de carvão**

Os rejeitos de mineração de carvão depositados na superfície do solo foram coletados em companhia mineradora da região carbonífera do sul de Santa Catarina – Brasil. O rejeito em estudo classifica-se como Carbonoso, conforme informação prestada pela mineradora. As amostras foram tamizadas, utilizando-se peneiras 40 Mesh para a obtenção de granulometria mais homogênea.

As amostras de rejeito foram submetidas à análise elementar (CHNS), além da análise termogravimétrica (TGA), sendo determinada a perda de massa e a temperatura a ser empregada na sua calcinação para a obtenção dos óxidos de metais.

Posteriormente, amostras de rejeito foram calcinadas em muflas a  $800^{\circ}\text{C}$  (condição otimizada da TGA) por 1 hora. Através de isotermas de adsorção-dessorção de  $\text{N}_2$ , foi determinada a área superficial, conforme método Brunauer-Emmett-Teller (BET), bem como, o volume de poros e o diâmetro médio dos poros pelo método Barret-Joyner-Halenda (BJH).

O rejeito calcinado também foi submetido à análise química para a determinação da percentagem dos óxidos metálicos majoritários. Para tanto, 1g de rejeito calcinado foi previamente pulverizado e seco em estufa a  $100^{\circ}\text{C}$  por 1 hora, sendo posteriormente submetido a um tratamento ácido. Filtrou-se o material, sendo o filtrado diluído para posterior determinação da concentração de metais por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS). Por sua vez, o resíduo sólido obtido foi submetido à calcinação em mufla a  $1000^{\circ}\text{C}$  por 1 hora, sendo determinada a percentagem de resíduo, cujo valor corresponderia ao  $\text{SiO}_2$  presente no calcinado. A partir da massa inicial do calcinado, das

concentrações dos metais e da percentagem de resíduo obtidos foi possível determinar a percentagem dos óxidos majoritários presentes, por gravimetria.

Por fim, fez-se a caracterização dos óxidos do rejeito calcinado por Difração de Raio X (DRX), sendo o espectro obtido comparado aos catalogados pelo *International Centre for Diffraction Data* (ICDD).

#### **4.4. Drenagem ácida de minas de carvão**

As amostras de drenagem ácida de minas de carvão foram coletadas em mineração de subsolo da região carbonífera do sul de Santa Catarina – Brasil. Para tanto, foi feita uma coleta de 50 Litros em frasco de polietileno, sendo a amostra armazenada à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A amostra armazenada foi deixada em repouso por uma semana para que os íons adsorvidos pelo frasco entrassem em equilíbrio com a solução.

Caracterizou-se a amostra de drenagem coletada através da determinação do pH por potenciometria e das concentrações dos metais Al, Fe, Mn, Zn, Cu, Cd e Pb por FAAS, sendo os valores obtidos comparados aos previstos pela Resolução nº 357 do CONAMA.

#### **4.5. Remediação da drenagem em processo estático**

Diferentes massas de rejeito de mineração carvão calcinado utilizado como adsorvente (0,3, 0,5, 1,0 e 2,0 g) foram colocadas em contato com 50 mL de drenagem em erlenmeyers, sob agitação e à temperatura ambiente, até o pH atingir o equilíbrio. Posteriormente, o material foi filtrado, sendo determinadas as concentrações de metais majoritários por FAAS nas amostras de drenagem remediadas.

#### **4.6. Remediação da drenagem em processo dinâmico**

Amostras de drenagens foram submetidas à remediação em coluna de vidro (25 cm de altura x 1,2 cm diâmetro) empacotadas com 13g de rejeito de mineração de carvão

calcinado utilizado como adsorvente. A concentração dos íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  foi monitorada em fluxo, onde um eletrodo foi fixado numa cela de acrílico especificamente desenvolvida e acoplada ao sistema após a passagem da amostra pela coluna. O fluxo da amostra foi mantido constante com uma vazão de  $1\text{ mL min}^{-1}$ , utilizando-se bomba peristáltica. O pH foi monitorado durante todo o processo. Alíquotas foram coletadas em diferentes intervalos de pH, sendo determinadas por FAAS as concentrações dos íons de metais majoritários nas amostras remediadas. A Figura 4 apresenta modelo esquemático empregado para a remediação em processo dinâmico:

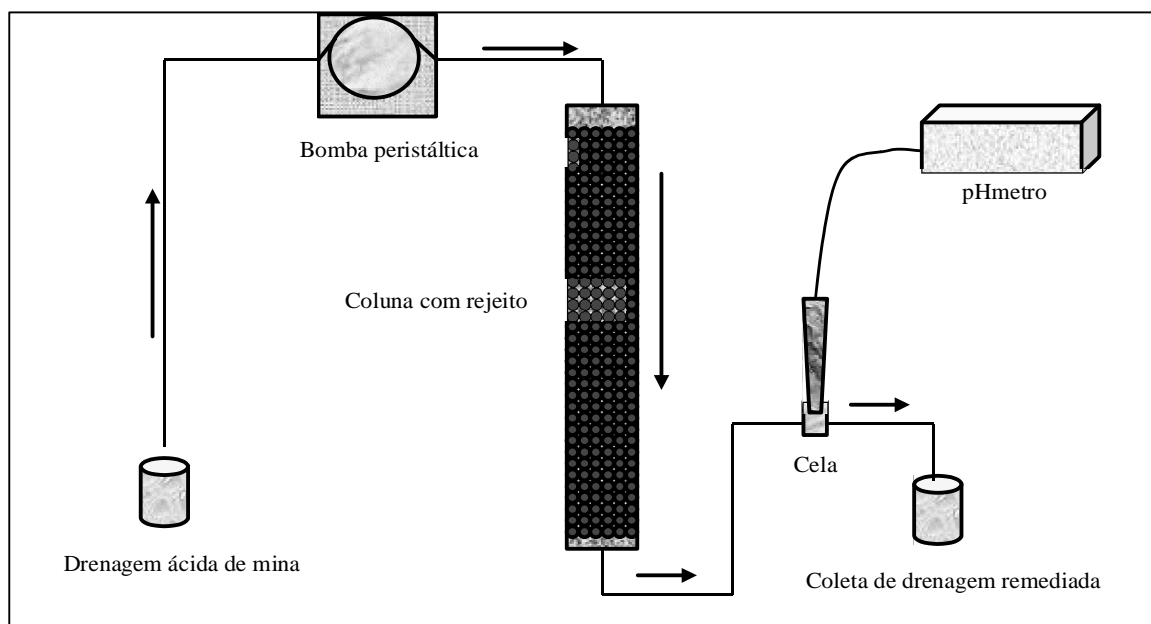


Figura 4. Modelo esquemático da remediação da drenagem em processo dinâmico

#### 4.7. Experimentos de adsorção

Todos os experimentos de adsorção foram realizados em banho termostatizado à  $25^{\circ}\text{C}$  com agitação de 250 rpm. A concentração dos íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  foi determinado por potenciometria e os íons metálicos por espectrometria de absorção atômica.

### 4.7.1. Efeito do pH na adsorção

O estudo para avaliar a dependência do pH na adsorção dos íons de metais foi conduzido com tampões KCl/HCl (pH=3), ácido acético/acetato de sódio (pH=4, 5 e 6) e tris/hidroximetil/aminometano (pH = 8). Alíquotas de 25 mL de solução 10 mg L<sup>-1</sup> de Mn (II), Cu(II) e Zn (II) foram tamponadas nos diferentes valores de pH e colocadas em contato com 200mg do adsorvente por um período de 24 horas. Ressalta-se que não foi realizado o efeito do pH na adsorção do Fe (III) em função de ser um cátion ácido e sofrer hidrólise com formação da espécie Fe(OH)<sub>3</sub> (sólido) em pH acima de 2,5. A quantidade de íons adsorvida foi determinada, utilizando-se a equação 39,

$$q_e = \frac{(C_i - C_e) V}{m} \quad (39)$$

onde:

$q_e$  = quantidade de íons adsorvido no equilíbrio em mg g<sup>-1</sup> ou em mmol g<sup>-1</sup>

$C_i$  = concentração inicial de íons em solução em mg L<sup>-1</sup> ou mmol L<sup>-1</sup>

$C_e$  = concentração de íons em solução no equilíbrio em mg L<sup>-1</sup> ou mmol L<sup>-1</sup>

$V$  = volume da solução (em litros)

$m$  = massa do adsorvente (em gramas)

### 4.7.2. Cinéticas de adsorção

As cinéticas de adsorção de H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> foram realizadas em erlenmeyer fechados contendo volume fixo de drenagem ácida de mina (50 mL) e diferentes quantidades de adsorvente. As amostras foram mantidas sob agitação, sendo o pH monitorado para posterior avaliação do equilíbrio de adsorção H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>. A cinética de adsorção dos íons Fe (III), Mn (II), Cu (II) e Zn (II) foram realizadas em erlenmeyer fechado contendo 100 mL de soluções de metais na concentração fixa de 10 mg L<sup>-1</sup>, tamponadas em pH ótimo e

colocadas em contato com 4,0g do adsorvente. Aliquotas de 100  $\mu$ L das amostras foram retiradas em diferentes intervalos de tempo, diluídas em balão volumétrica e as concentrações dos íons foram determinadas por FAAS. Para avaliar o mecanismo cinético que controla o processo de adsorção, foram empregados os modelos de pseudo primeira-ordem e pseudo segunda-ordem, conforme descrito por Wu e colaboradores (2001).

#### **4.7.3. Isotermas de adsorção**

Nos ensaios de equilíbrio de adsorção de  $H_3O^+$  foram utilizados erlenmeyers fechados contendo 25 mL de drenagem ácida de mina em contato com diferentes massas de adsorvente. Após atingir o equilíbrio de adsorção, determinou-se o pH por potenciometria para posterior avaliação da quantidade de  $H_3O^+$  adsorvida. Para os experimentos com os íons Fe (III), Mn (II), Cu (II) e Zn (II) foram utilizados erlenmeyers fechados contendo 50 mL de soluções de metais em concentrações variadas, tamponadas em pH ótimo e colocadas em contato com 2g do adsorvente até atingir o equilíbrio de adsorção. Alíquotas de 100  $\mu$ L da solução foram retiradas e diluídas em balões volumétricos para determinação da concentração dos metais por FAAS. A quantidade adsorvida de  $H_3O^+$  e dos íons de metais foi obtida empregando a equação (39). Para a interpretação dos dados de adsorção, foram testados os modelos de isoterma de Langmuir e de Freundlich.

#### **4.8. Avaliação da toxicidade da drenagem em organismos bioindicadores**

Para a avaliação da toxicidade em organismos bioindicadores foram utilizadas amostras de drenagens ácidas não remediadas e após a sua remediação no processo que apresentou maior eficácia, em termos de remoção da acidez e dos íons de metais majoritários.

##### **4.8.1. Toxicidade aguda em microcrustáceos *Daphnia magna* e *Artemia* sp**

Diferentes diluições de amostras de drenagem não remediadas e remediadas com o adsorvente foram preparadas. Posteriormente, microcrustáceos *Daphnia magna* Straus

neonatos (n=10) foram expostos por 48 horas a 20mL das mostras, à 20°C e ao abrigo da luz, sendo determinado o FDD e os valores obtidos comparados aos previstos pela Portaria Nº 017 da FATMA. Microcrustáceos *Artemia sp* (n=10) também foram expostos por 24 horas a 2mL das amostras em placas *multiwel*, à 25°C e ao abrigo da luz. Ao final da exposição, foi determinada a concentração letal (CL<sub>50</sub>), definida como a concentração na qual ocorre a mortalidade em 50% dos organismos bioindicadores, quando expostos à drenagem em estudo (SVENSSON et al., 2005) e, para tanto, foi empregado o método matemático *Trimmed Spearman-Kärber*, utilizando-se programa Probitos® .

#### **4.8.2. Toxicidade subaguda em *Allium cepa* L.**

A avaliação da toxicidade subaguda foi feita através da determinação da RC<sub>50</sub>, definida como a concentração na qual ocorre 50% de redução do crescimento das raízes de *Allium cepa* L., quando expostas à drenagem em estudo, conforme descrito por Fiskesjö (1988). Para tanto, *Allium cepa* L. (n=6) foram expostas por 7 dias a 50 mL de diluições seriadas de drenagem não remediadas e remediadas, bem como, à água mineral comercial (controle negativo), a 25°C e ao abrigo da luz, sendo as amostras renovadas diariamente. Ao final da exposição, foi medido o comprimento das raízes e determinada a RC<sub>50</sub> por função sigmoidal.

#### **4.8.3. Biomarcadores de estresse oxidativo em *Allium cepa* L**

A avaliação dos biomarcadores de estresse oxidativo foi efetuada em *Allium cepa* L. (n=6) expostas nas mesmas condições dos ensaios de toxicidade subaguda, utilizando-se a concentração de drenagem obtida na CL<sub>50</sub> . Os biomarcadores avaliados foram:

a) *Lipoperoxidação em membranas biológicas*: a avaliação da peroxidação lipídica endógena foi avaliada em homogenatos de bulbos de *Allium cepa* L., mediante a determinação da concentração de espécies que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) a qual é medida em 535 nm, conforme proposto por Bird e Draper (1984).

b) *Fragmentação do DNA*: o dano ao DNA foi avaliado em células meristemáticas das raízes de *Allium cepa* L. através do Teste Cometa, sendo os resultados expressos como Índice de Dano (ID) com escore de 0-400 (unidade arbitrária), de acordo com Singh e colaboradores (1988).

c) *Carbonilação de proteínas*: o dano oxidativo às proteínas foi determinado em homogenatos de bulbos de *Allium cepa* L, onde os grupos carbonil das proteínas oxidadas reagem com 2,4-dinitrofenilidrazina (DNPH), após precipitação em meio ácido e solubilização com guanidina, com posterior formação de um cromóforo mensurável espectrofotometricamente em 370 nm, conforme proposto por Stadtman e Levine (2000).

d) *Atividade da catalase (CAT)*: a atividade da CAT foi avaliada em homogenatos de bulbos de *Allium cepa* L. através da determinação da velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio durante 20 segundos, a qual é medida espectrofotometricamente em 240 nm, conforme descrito por Aebi (1984).

e) *Concentração de glutathiona reduzida (GSH)*: a concentração da GSH foi avaliada em homogenatos de bulbos de *Allium cepa* L. mediante a reação do ácido 2-nitrobenzóico (DTNB) com grupamentos tióis, o qual forma o ânion tiolato (TNB) de cor amarela, mensurável espectrofotometricamente em 412nm, conforme método proposto por Beutler (1963).

#### **4.8.4 Análise estatística**

As análises estatísticas dos resultados obtidos na avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo foram efetuadas através de Análise de Variância (ANOVA), completada pelos testes de *Student-Newman-Keuse e Dunnet*, quando se fez necessário. Para tanto foi utilizado o software INSTAT (GrahPad, San Diego, CA, USA), admitindo-se um nível de significância de  $P < 0,05$ .



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização físico-química da drenagem ácida de mina e do rejeito de mineração utilizado como adsorvente, aliado aos estudos de adsorção, é de suma importância para um melhor entendimento do processo de redução da acidez e da remoção de íons de metais em solução. A avaliação da toxicidade sobre organismos bioindicadores também é de grande relevância para a análise da eficácia do sistema de remediação da drenagem proposto no presente trabalho. A seguir, serão apresentados e discutidos os resultados destes parâmetros.

### 5.1. Caracterização do rejeito não calcinado

Os resultados obtidos na análise elementar (CHNS) do rejeito de mineração não calcinado estão descritos na Tabela 2 e a análise termogravimétrica (TGA) está apresentada na Figura 5. Constatou-se que o termograma apresentou três picos principais de perda de massa: o primeiro em 479,09 °C e o segundo em 573,14°C, somando uma perda de 29,70%, e o terceiro em 867,96°C com uma perda de 2,29%, perfazendo um total de 32,60% de perda de massa. O termograma indicou que a temperatura de 800°C seria suficiente para a eliminação de matéria orgânica e sulfetos observados na análise elementar, com conseqüente obtenção dos óxidos majoritários.

Tabela 2. Análise elementar de C, H, N, S do rejeito não calcinado

<b>Elemento</b>	<b>% (Média ± DP)</b>
C	29,42 ± 0,08
H	2,67 ± 0,16
N	0,73 ± 0,03
S	1,96 ± 0,59

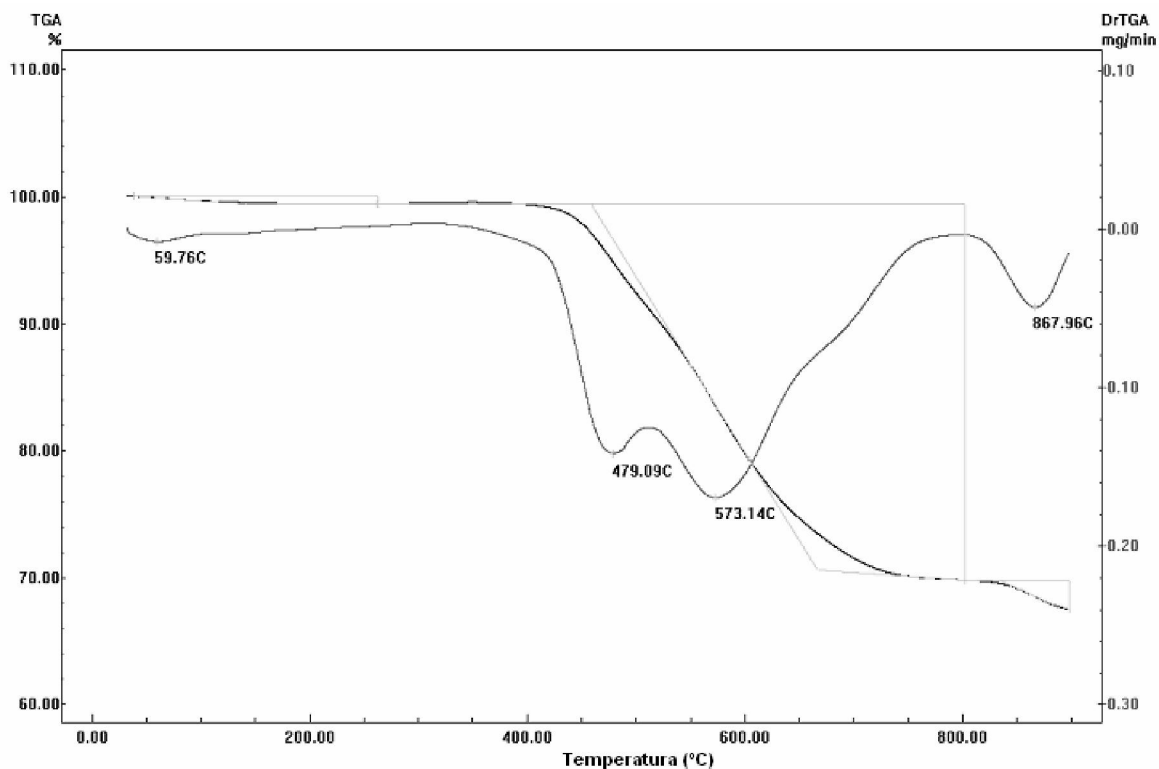


Figura 5. Análise termogravimétrica do rejeito não calcinado

## 5.2. Caracterização do rejeito calcinado

A calcinação do rejeito de mineração de carvão teve como objetivo a eliminação de matéria orgânica e sulfetos presentes nos mesmos, transformando o material em seus óxidos correspondentes. Para tanto, foi empregada a condição ótima de temperatura obtida na análise termogravimétrica (800°C). Após a calcinação, seguiram-se as etapas de caracterização do rejeito calcinado através da determinação da sua área superficial, volume de poros e diâmetros médio de poros, bem como, dos seus óxidos de metais majoritários.

A Figura 6 apresenta a isoterma de adsorção/dessorção do rejeito calcinado para determinação da sua área superficial, cujo valor obtido foi de  $4,3 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ . A Figura 7 apresenta o plote volume de poro *versus* diâmetro de poro do rejeito calcinado. O valor do volume de poro do rejeito determinado por BET foi de  $7,9 \times 10^{-3} \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ , indicando uma

baixa porosidade do rejeito. O diâmetro médio do poro determinado por BJH foi de 73,9 Å, cujo valor vem demonstrar presença majoritária de mesoporos no rejeito calcinado (TEIXEIRA, COLTINHO, GOMES, 2001).

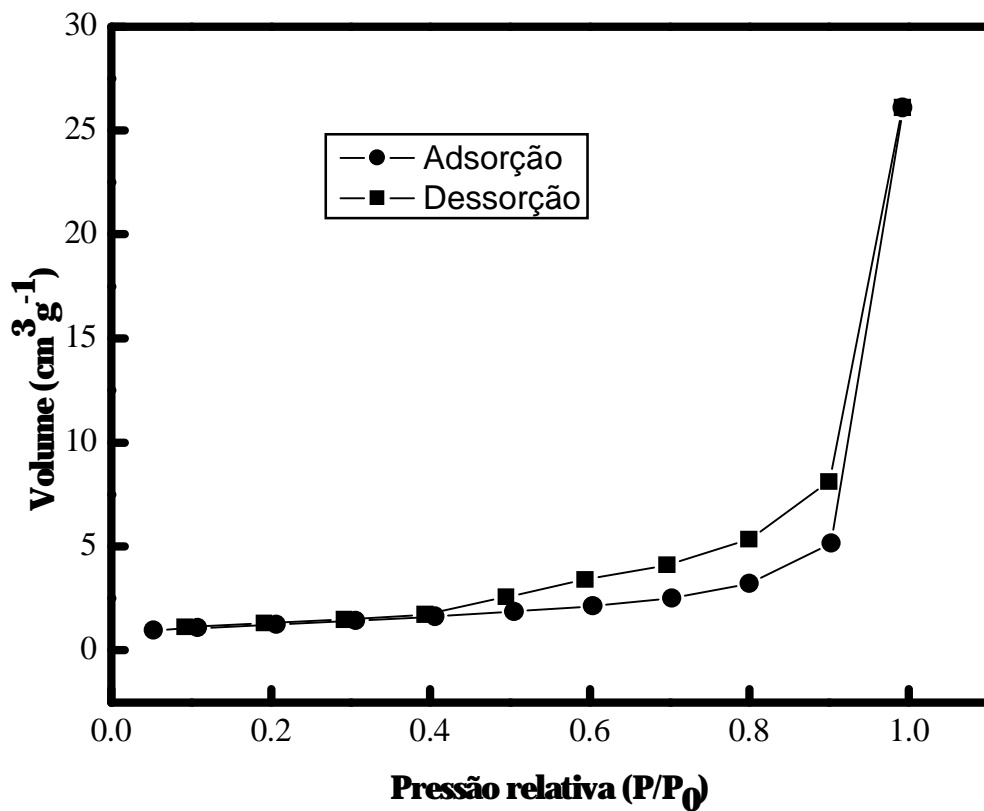


Figura 6. Isotherma de adsorção/dessorção do rejeito calcinado

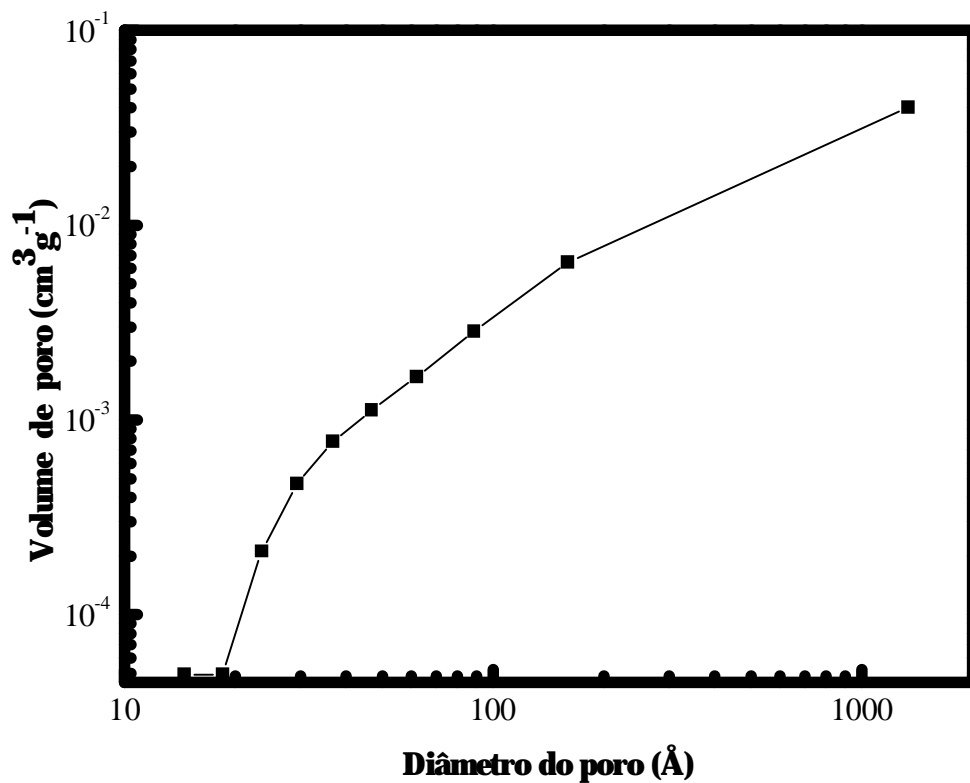


Figura 7. Volume de poro *versus* diâmetro de poro do rejeito calcinado

A Tabela 3 apresenta os resultados da determinação dos óxidos de metais do calcinado por gravimetria, indicando a presença majoritária de SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Tabela 3. Óxidos de metais majoritários presentes no rejeito calcinado

<b>Óxidos de metais</b>	<b>%</b>
SiO <sub>2</sub>	66,2
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	23,0
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	5,8

O espectro de DRX do rejeito calcinado (Figuras 8) mostra a presença majoritária dos óxidos  $\text{SiO}_2$  e  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , conforme catalogado pelo ICDD (Carta P3221S/Código 174 e Carta R3-CH/Código 15840, respectivamente). A Tabela 4 apresenta os principais picos característicos ( $2\theta$ ) e respectivas intensidades referentes aos óxidos majoritários. Ressalta-se que não foi possível observar a forma cristalina de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

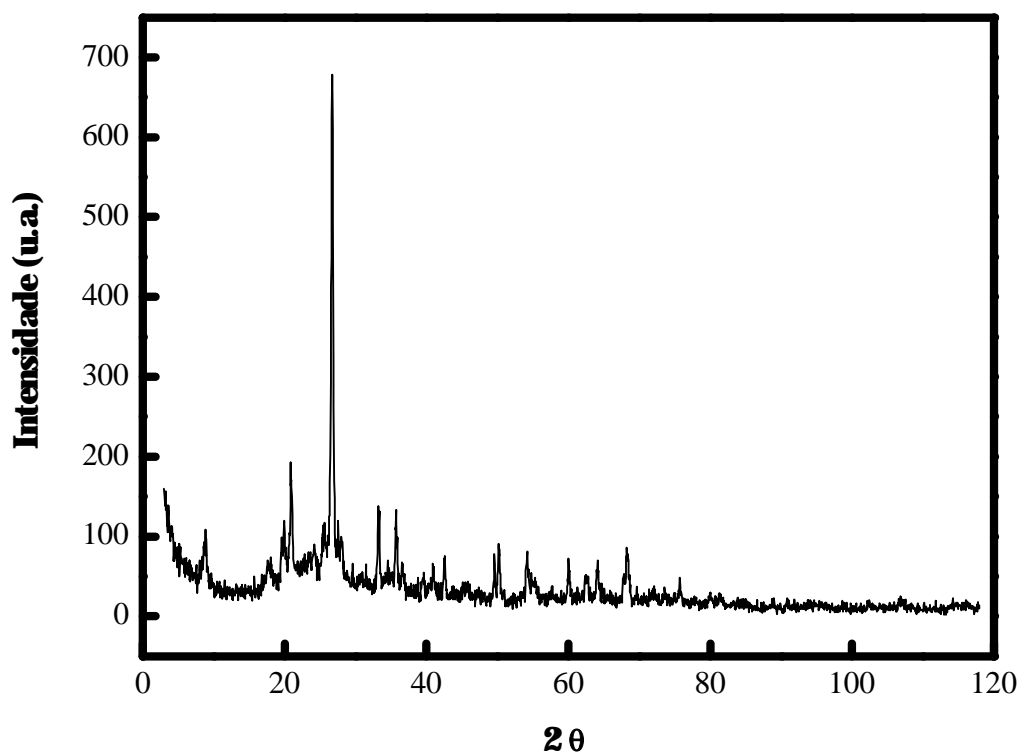


Figura 8. Espectro de DRX do rejeito calcinado

Tabela 4. Valores de  $2\theta$  característicos dos óxidos  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  e  $\text{SiO}_2$ 

<b><math>2\theta</math> (<math>\text{SiO}_2</math>)</b>	<b><math>2\theta</math> (<math>\text{Fe}_2\text{O}_3</math>)</b>
20,88	24,18
26,43	33,33
36,50	35,98
39,42	41,02
42,57	49,42
50,32	53,97
60,12	57,82
68,33	62,57
75,87	64,32
79,92	69,58
81,47	75,72

A análise de DRX também possibilitou a determinação da estrutura geométrica dos óxidos, indicando estrutura hexagonal para  $\text{SiO}_2$  e romboédrica para de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , conforme apresentado nas Figura 9 e 10, respectivamente.

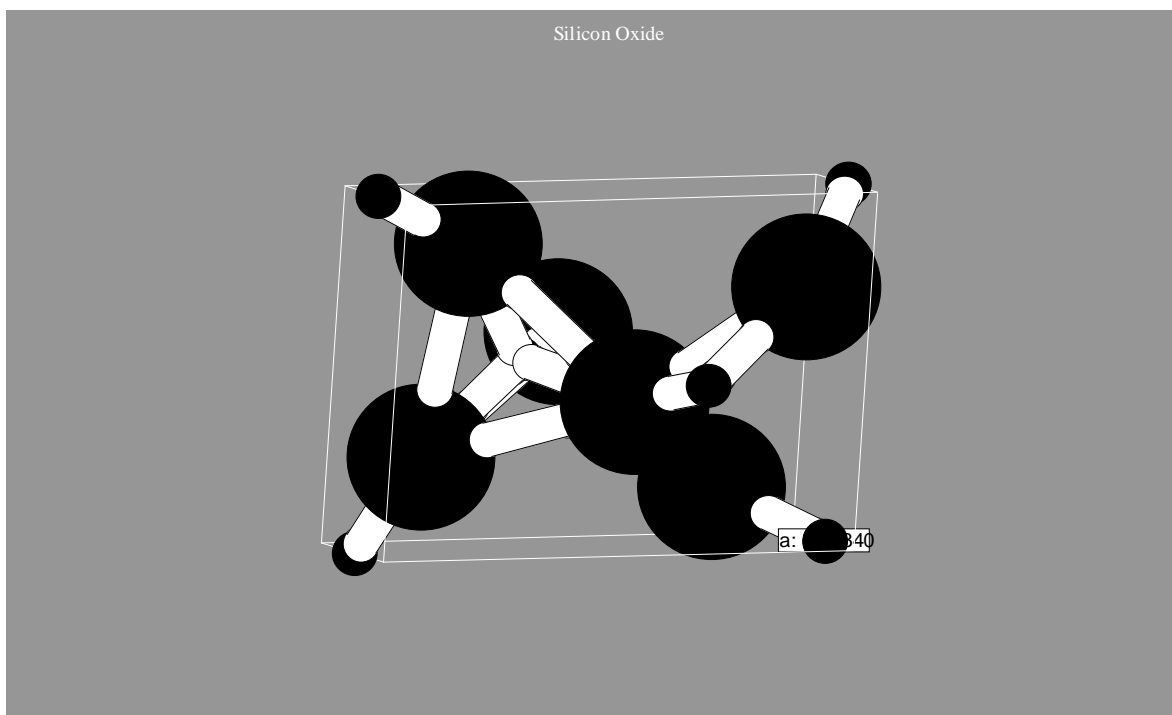


Figura 9. Estrutura geométrica hexagonal de  $\text{SiO}_2$  presente no rejeito calcinado. Parâmetros de rede:  $a=b = 4,913$ ;  $c = 5,404$

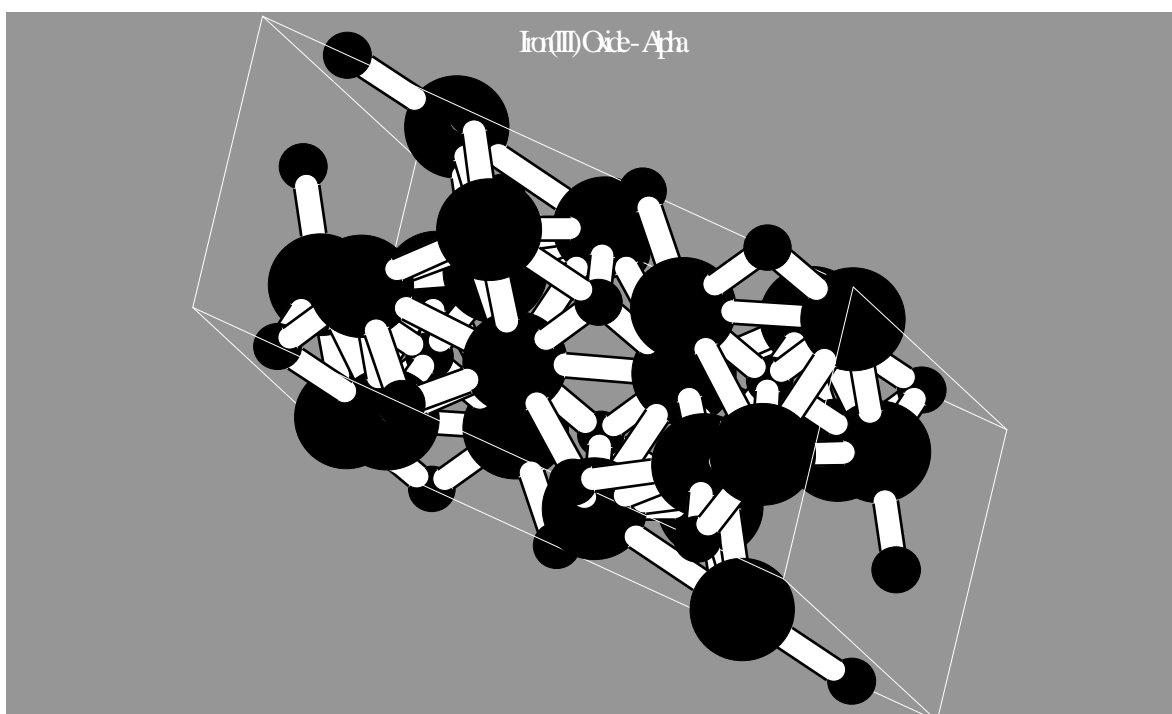


Figura 10. Estrutura geométrica romboédrica de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  presente no rejeito calcinado. Parâmetros de rede:  $a=b = 5,035$ ;  $c = 13,745$

Tem-se proposto que estes óxidos apresentam propriedades de adsorção de espécies iônicas e, desta forma, sugere-se que o rejeito seria capaz de promover a neutralização da acidez e a remoção dos metais presentes na drenagem ácida (TAMURA, FURUICHI, 1997).

### 5.3. Caracterização da drenagem ácida de mina de carvão

A Tabela 5 apresenta os resultados de pH e da concentração dos principais metais na drenagem ácida, bem como, os valores de referência previstos na Resolução n° 357 do CONAMA para efluentes industriais. Os resultados obtidos permitem demonstrar que as amostras de drenagem ácida de mina apresentaram expressiva acidez e concentração majoritária dos metais alumínio, ferro e manganês. Pode-se constatar que o pH e a concentração de ferro e manganês estão em desacordo com os preconizados pelo referido dispositivo legal.

Tabela 5. pH e concentração dos principais metais na drenagem ácida e respectivos valores máximos previstos pela Resolução n° 357 do CONAMA.

Parâmetros	Valores da Drenagem	Valores do CONAMA
pH	2,80	5,0 - 9,0
Alumínio (mg L <sup>-1</sup> )	30,60	*NP
Ferro (mg L <sup>-1</sup> )	15,88	15,0
Manganês (mg L <sup>-1</sup> )	11,43	1,0
Zinco (mg L <sup>-1</sup> )	1,20	5,0
Cobre	0,20	1,0
Cádmio	0,01	0,2
Chumbo	**ND	0,5

\*NP = Não Previsto; \*\*ND = Não detectado



De acordo com a Resolução, os efluentes de qualquer fonte poluidora poderão ser lançados de forma direta ou indireta na rede hidrográfica somente após a sua remediação e desde que apresentem parâmetros físico-químicos compatíveis com os valores de referência preconizados pela sua normativa e de outros dispositivos legais aplicáveis (CONAMA, 2005).

Neste sentido, observa-se que as drenagens avaliadas não estão em condições de serem lançadas no meio ambiente, uma vez que se apresentam potencialmente tóxicas, sendo capazes de comprometer o ecossistema, evidenciando-se a necessidade de sua remediação.

#### **5.4. Remediação da drenagem em processo estático**

Os resultados obtidos na remediação em processo estático (Figuras 11 e 12) indicam que 2,0 gramas de rejeito foram suficientes para elevar o pH de 2,8 para 7,8 após 48 horas de contato com 50 mL de drenagem. Desta forma, 1 kilograma de adsorvente seria capaz de provocar a redução da acidez de aproximadamente 25 litros de drenagem. Também se pode observar que nas condições dos ensaios o adsorvente provocou a remoção de 100% de Al (III), 100% de Fe (III) e de 89% de Mn (II). Estes resultados são de grande relevância, uma vez que após o processo de remediação utilizado, obtiveram-se valores de pH e da concentração de íons de metais dentro dos limites de referência preconizados pela Resolução nº 357 do CONAMA.

Tem sido descrito na literatura que óxidos de metais como  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  e  $\text{Al}_2\text{O}_3$  são capazes de atuar como adsorvente de íons por mecanismos de adsorção química e física através de interação por complexação, formação de par iônico, troca iônica, interação eletrostática, forças de *van der Waals* entre outras (Wu et al., 2004). Desta forma, sugere-se que os óxidos obtidos por calcinação do rejeito seriam capazes de promover a adsorção química e/ou física dos íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  do meio, o que levaria à elevação do pH, com conseqüente formação e precipitação de óxido e/ou hidróxidos insolúveis de Al (III), Fe (III) e Mn (II). Também é possível que os íons de metais estejam sendo removidos por adsorção aos óxidos presentes no rejeito através de diferentes interações.

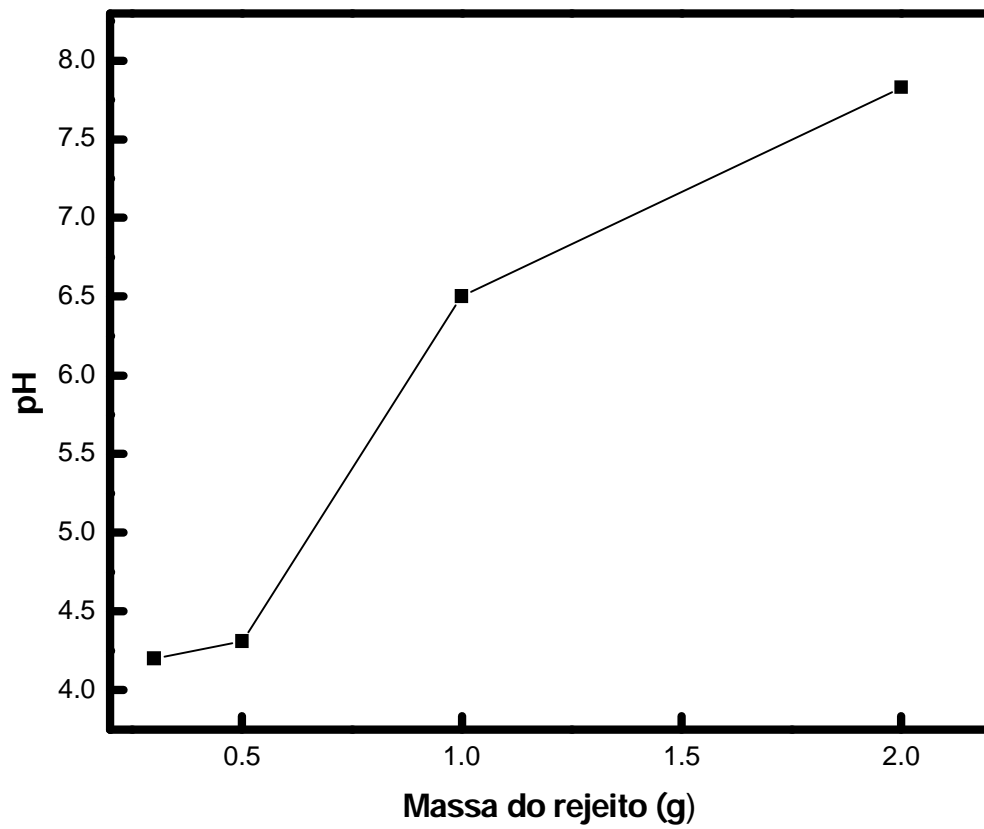


Figura 11. Redução da acidez de drenagem em processo estático

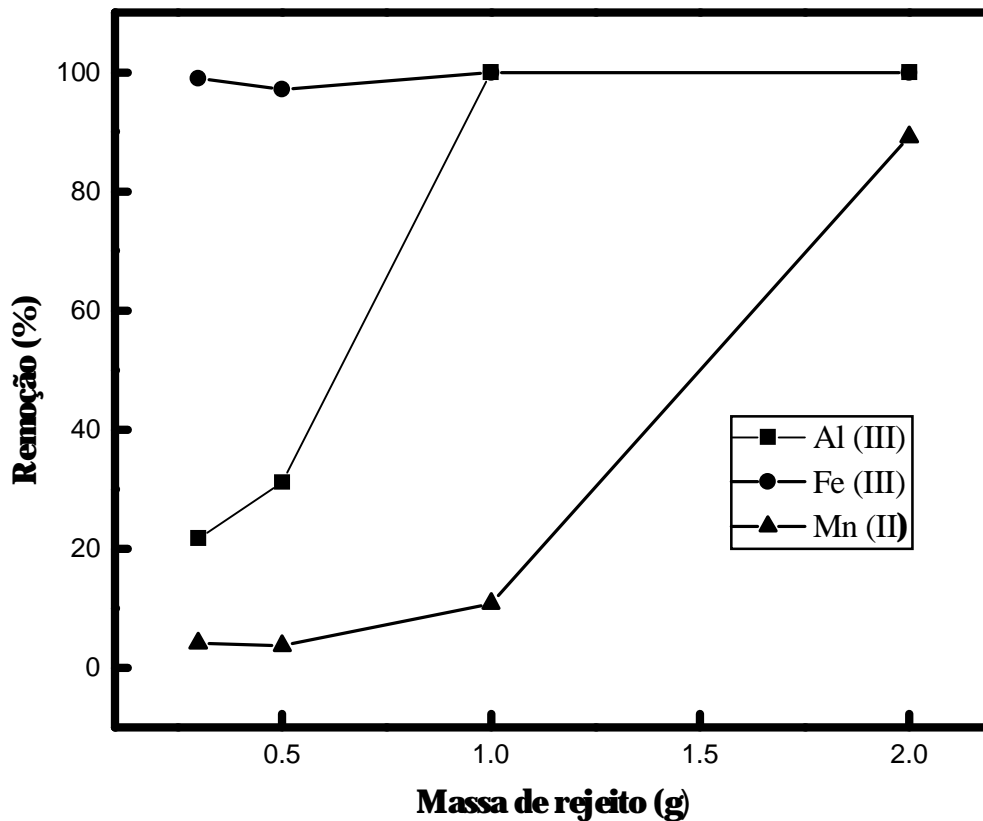


Figura 12. Remoção de íons de metais de drenagem em processo estático

### 5.5. Remediação da drenagem em processo dinâmico

Os resultados de redução da acidez e dos íons metálicos Al (III), Fe (III) e Mn (II) em drenagem ácida de mina remediada com o adsorvente em processo dinâmico estão apresentados nas Figuras 13 e 14.

Na Figura 13, observa-se que no início do tratamento houve imediata elevação do pH de 2,8 para 12,5 vindo a decrescer de forma gradual até valores próximos a 4,8 após a passagem de 300 mL de drenagem pela coluna. Esta queda poderia ser decorrente da saturação dos sítios de neutralização presentes na superfície do adsorvente, na medida em que a amostra percola pela coluna.

Na Figura 14, pode-se constatar que houve a remoção de 100% dos íons Al (III), Fe (III) e Mn (II) até a passagem de, aproximadamente, 120 mL de drenagem pela coluna, onde os valores de pH se mantiveram acima de 10 (Figura 13). Sugere-se que os mecanismos de elevação do pH e conseqüente remoção destes íons seriam semelhantes ao descritos nos resultados do tratamento em processo estático.

Entretanto, em volumes superiores a 120 mL de drenagem, somente Al (III) e Fe (III) foram efetivamente removidos (>95%), o que não ocorreu com o Mn (II), mesmo em pH entre 8 e 9, cujo intervalo ainda seria capaz de promover a sua precipitação (LEE et al., 2002). Possivelmente, o tempo de contato da amostra com o adsorvente não tenha sido suficiente para que houvesse a precipitação e conseqüente remoção do manganês, uma vez que no ensaio em processo estático foi possível a remoção deste íon após 48 horas de tratamento, cujo pH se encontrava próximo a 8 (Figuras 11 e 12).

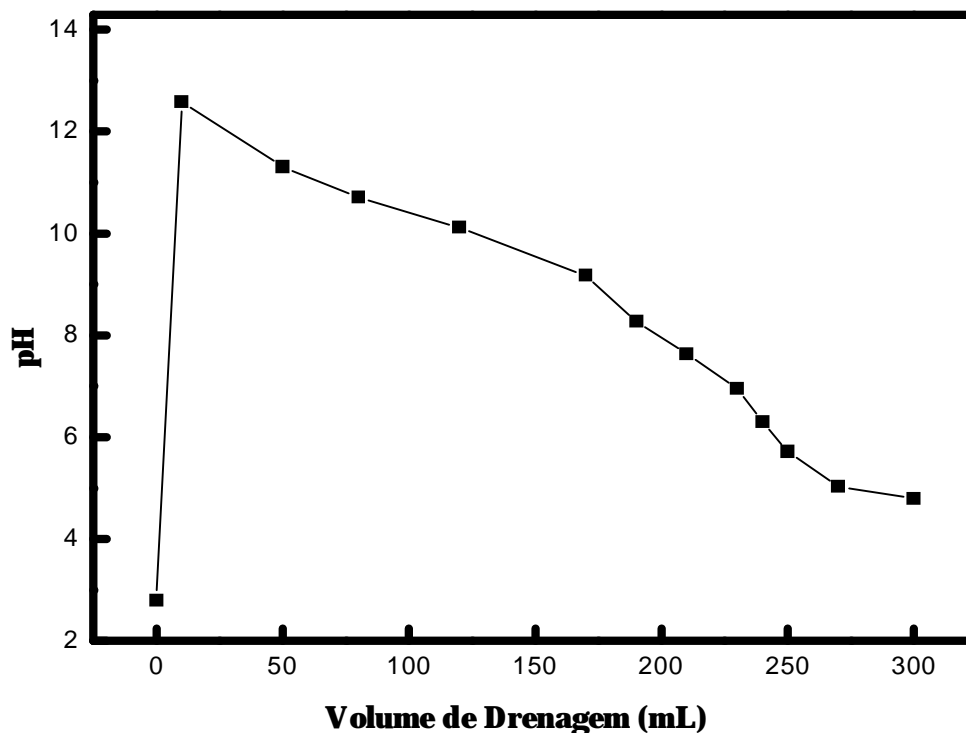


Figura 13. Redução da acidez em drenagem remediada em processo dinâmico.

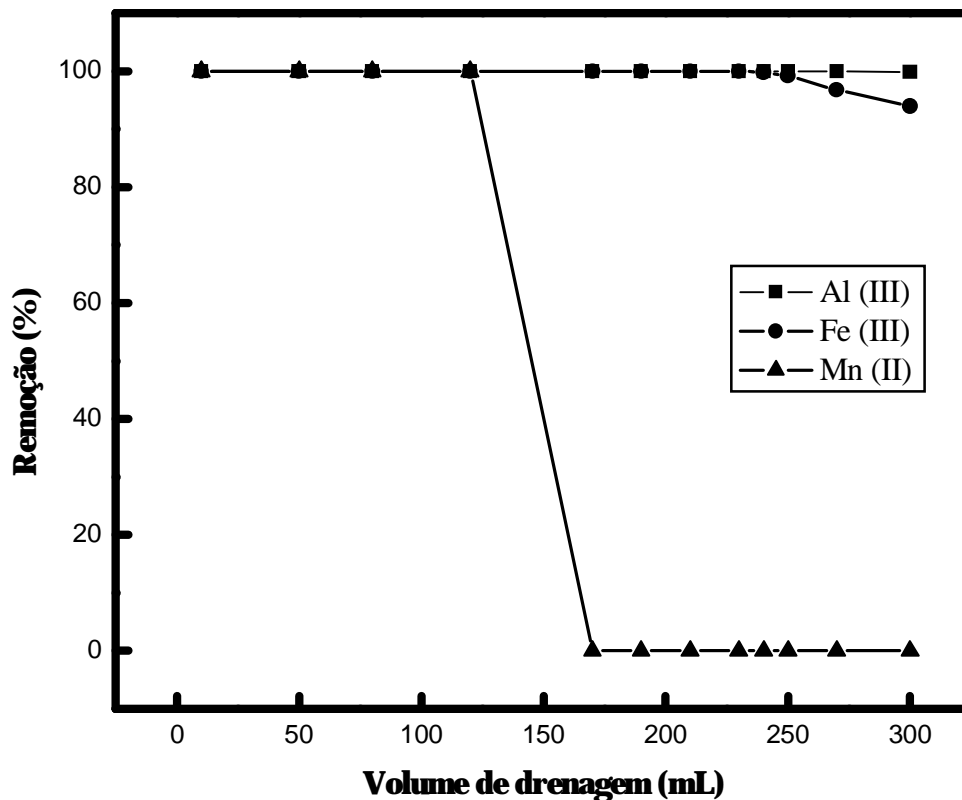


Figura 14. Remoção de íons de metais em drenagem remediada em processo dinâmico

Portanto, pode-se supor que o tratamento com o adsorvente em processo estático foi mais efetivo, uma vez que promoveu elevação do pH para valores mais próximos da neutralidade e compatíveis à sobrevivência de sistemas biológicos, além de provocar a expressiva remoção dos íons de metais avaliados. Por sua vez, o tratamento com o adsorvente em processo dinâmico somente provocou a remoção dos íons de metais em pH alcalino e inadequado à sobrevivência de sistemas biológicos, sugerindo a necessidade de uma posterior etapa de neutralização.

## 5.6. Experimentos de adsorção

O processo de adsorção dos íons em solução depende de vários fatores, incluindo-se a concentração do adsorvato, quantidade de adsorvente, pH, tamanho de partícula, porosidade, área superficial, tempo de contato e temperatura. Nestes experimentos utilizou-se rejeito de mineração de carvão calcinado como adsorvente, sendo avaliada a influência de alguns destes fatores sobre o processo de adsorção. Em nossos estudos foram executados ensaios de adsorção de íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  em drenagem ácida e dos íons metálicos Fe (III), Mn (II), Cu (II) e Zn (II) em soluções sintéticas, os quais são comumente encontrados nestes efluentes. Muito embora os íons Al (III) também se fazem presentes em drenagem, incluindo-se em nossas amostras, os resultados dos ensaios de adsorção com este metal não foram apresentados, uma vez que não se mostraram satisfatórios.

Para melhor elucidar o mecanismo cinético envolvido no processo de adsorção, foram testados os modelos cinéticos de pseudo primeira-ordem e pseudo segunda-ordem, sendo a validade desses modelos interpretada pelo melhor ajuste dos dados experimentais. O modelo de pseudo primeira-ordem (Equação 20), forneceu o valores de  $k_1$  e  $q_e$  através do gráfico do  $\log(q_e - q_t) \text{ vs } t$ . O modelo de pseudo segunda-ordem (Equação 23) forneceu os valores de  $k_2$  e  $q_e$ , a partir do intercepto e da inclinação do gráfico de  $(t/q_t) \text{ vs } t$ . A velocidade inicial de adsorção ( $h_0$ ) foi determinada através dos valores de  $q_e$  e  $k_2$ , empregando a Equação 24.

Os estudos de equilíbrio de íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  e de íons metálicos foram conduzidos no pH ótimo e no tempo de contato necessário para atingir o equilíbrio de adsorção. Para interpretação dos dados de adsorção foram testados os modelos de isotermas de Langmuir e Freundlich. A forma linear da isoterma de Langmuir (Equação 37) foi utilizada para a determinação os valores de  $K_{\text{ads}}$  e  $q_m$  a partir dos coeficientes linear e angular obtidos pelo gráfico de  $C_e/q_e \text{ vs } C_e$ . Para o modelo de Freundlich, utilizou-se a equação linearizada (Equação 38), sendo que o gráfico de  $\log q_e \text{ vs } \log C_e$  forneceu os valores de  $K_F$  e  $b_F$  a partir dos coeficientes linear e angular, respectivamente.

A seguir, estão descritos os resultados obtidos nos estudos de adsorção de  $\text{H}_3\text{O}^+$  e dos íons metálicos, utilizando-se rejeito de mineração de carvão calcinado como adsorvente.

### 5. 6.1. Cinética de adsorção de íons $\text{H}_3\text{O}^+$

A Figura 15 apresenta a cinética de adsorção de íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  da drenagem ácida pelo adsorvente, utilizando-se diferentes massas. O perfil cinético permite demonstrar que houve expressiva adsorção dos íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  nas primeiras 3 horas de contato para as diferentes massas do adsorvente. Observa-se que equilíbrio foi atingido mais rapidamente com 0,5g (3 horas), seguido de 0,3g (6 horas) e de 1,0 g (10 horas), permanecendo constante até 48 horas.

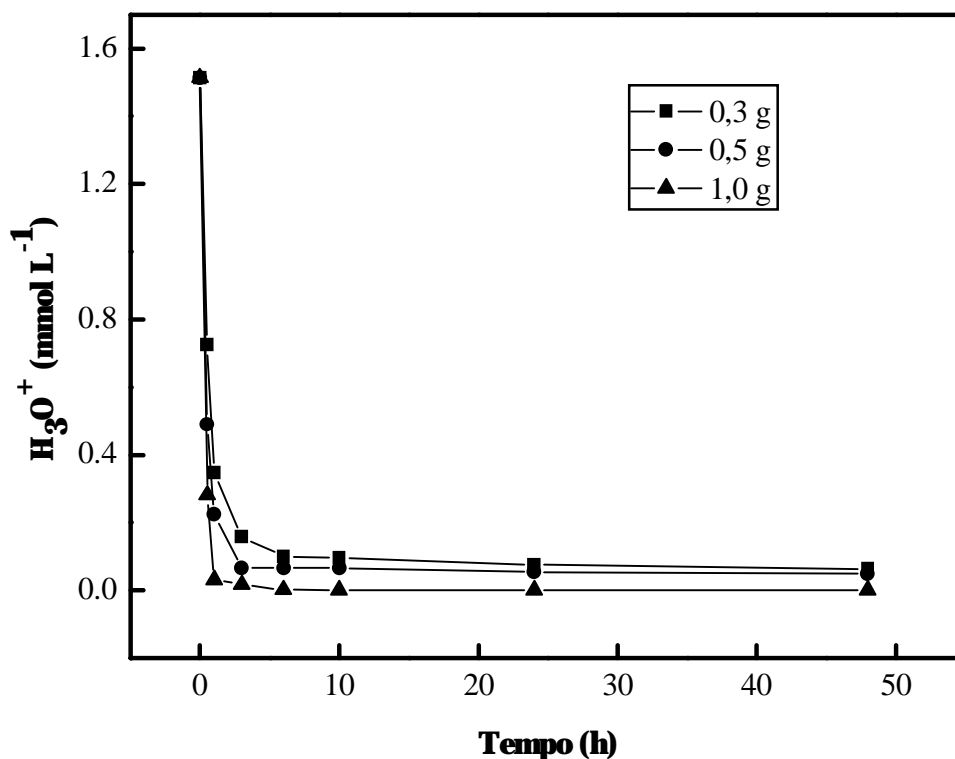


Figura 15. Cinética de adsorção de  $\text{H}_3\text{O}^+$  pelo adsorvente.  $[\text{H}_3\text{O}^+] = 1,51 \text{ mmol L}^{-1}$ ; temperatura =  $25^\circ\text{C}$ ; velocidade de agitação = 250 rpm.

Os parâmetros cinéticos de adsorção de  $H_3O^+$  da drenagem ácida pelo adsorvente em diferentes massas foram avaliados, utilizando-se o modelo de pseudo primeira-ordem e pseudo segunda-ordem.

Na Figura 16 são ilustradas as linearizações obtidas através do melhor modelo cinético, sendo que na Tabela 6 são apresentados os parâmetros determinados pelos dois modelos cinéticos testados. Tendo-se como base os coeficientes de correlação obtidos nos modelos cinéticos avaliados (Tabela 7), pode-se constatar que a equação de pseudo segunda-ordem foi a que forneceu o melhor ajuste dos dados experimentais para os ensaios com diferentes massas de adsorvente, sugerindo ser o modelo mais apropriado para a interpretação do mecanismo de adsorção. Com estes resultados, pode-se propor que a quimissorção seria a etapa determinante do mecanismo de adsorção e não uma transferência de massa em solução, evidenciando que a velocidade de adsorção é dependente das quantidades do íon na superfície do adsorvente e adsorvido no equilíbrio. Observa-se também que os valores de  $q_e$  calculados pelo modelo da equação de pseudo segunda-ordem estão em concordância com os valores de  $q_e$  experimentais. Entretanto, para o modelo de pseudo primeira-ordem, constata-se uma expressiva discrepância entre os seus valores nas diferentes massas de adsorvente, obtendo-se um erro relativo de 75% para 0,3g, 93% para 0,5g e 77% para 1,0g. Pode-se observar que a constante de velocidade ( $k_2$ ) e a velocidade de adsorção inicial ( $h_0$ ) foi maior com a utilização de 1,0g de adsorvente, cujo perfil é constatado na curva cinética.



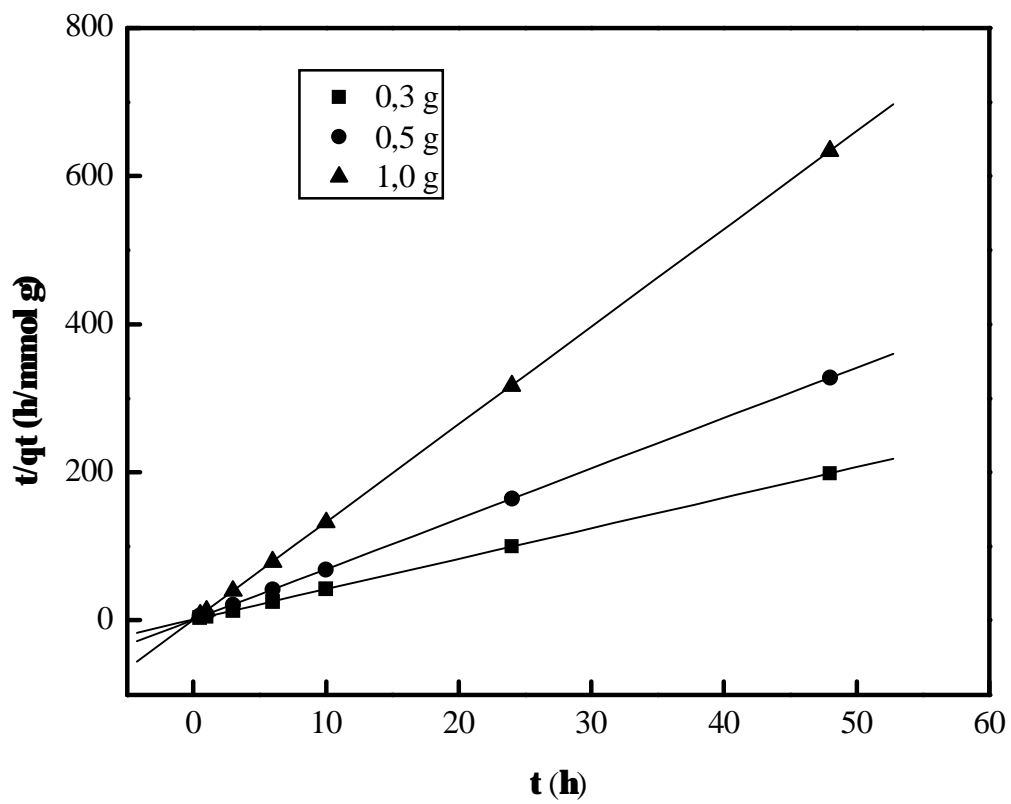


Figura 16. Linearização da equação de pseudo segunda-ordem para a adsorção de  $H_3O^+$

Tabela 6. Parâmetros cinéticos de adsorção de  $H_3O^+$ 

Massa	Pseudo primeira-ordem			Pseudo segunda-ordem			
	$q_e$ exp.	$q_e$ calc.	$k_1$	$q_e$ exp.	$q_e$ calc.	$k_2$	$h_0$
	(mmol g <sup>-1</sup> )	(mmol g <sup>-1</sup> )	(h <sup>-1</sup> )	(mmol g <sup>-1</sup> )	(mmol g <sup>-1</sup> )	(g mmol <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	(mmol g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )
0,3 g	0,241	0,038	0,141	0,243	0,241	14,45	0,84
0,5 g	0,146	0,010	0,155	0,146	0,147	40,16	0,86
1,0 g	0,075	0,001	0,157	0,075	0,075	303	1,74

Tabela 7. Equações lineares e respectivos coeficientes de correlação (R) de adsorção de  $H_3O^+$ 

Massa	Pseudo primeira-ordem		Pseudo segunda-ordem	
	Equação	R	Equação	R
0,3 g	Y= 1,418 + 0,061 X	0,845	Y= 1,171 + 4,114 X	0,999
0,5 g	Y = 1,971 + 0,067 X	0,728	Y= 1,153 + 6,803 X	0,999
1,0 g	Y = 2,775+ 0,068 X	0,686	Y = 0,576 + 13,194 X	1,000

### 5.6.2. Isoterma de adsorção de íons $\text{H}_3\text{O}^+$

A isoterma de equilíbrio de adsorção de íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  na drenagem ácida pelo adsorvente está ilustrada na Figura 17. Pode-se observar a correlação entre a quantidade de íon adsorvida na superfície do adsorvente e a concentração de íon remanescente na fase aquosa em equilíbrio. Esta relação mostrou que a quantidade adsorvida aumentou com a concentração de equilíbrio do íon na fase aquosa, alcançando progressivamente a saturação do adsorvente.

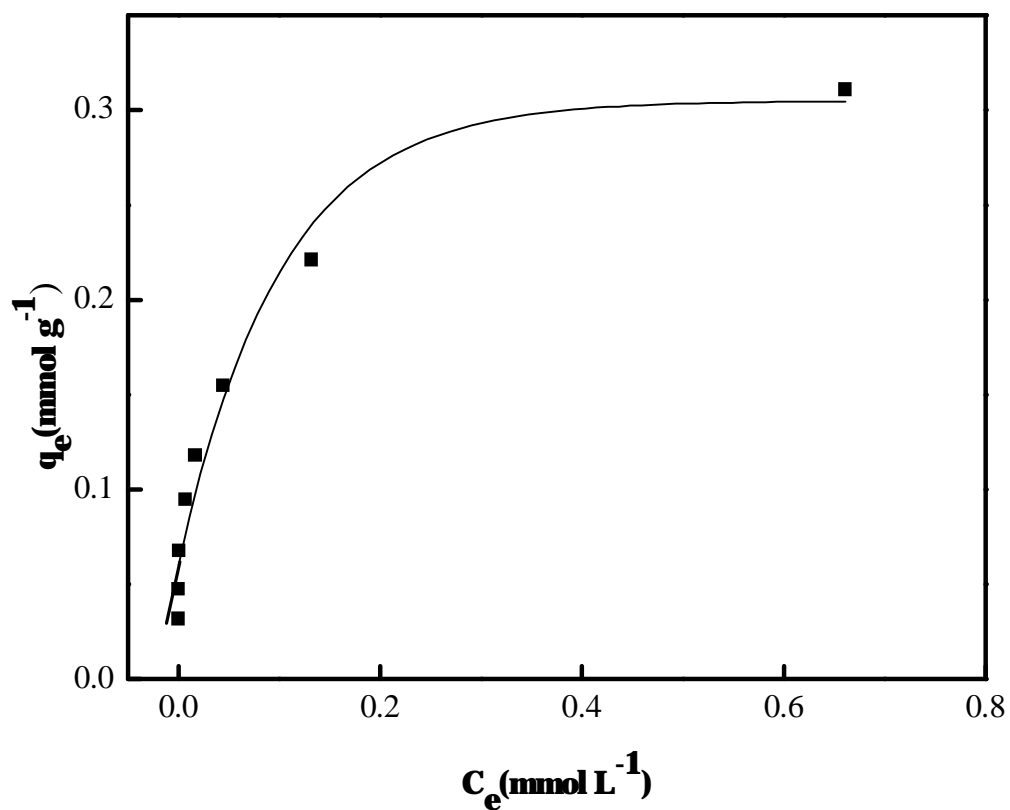


Figura 17. Isotermas de equilíbrio de adsorção dos íons  $\text{H}_3\text{O}^+$ .  $[\text{H}_3\text{O}^+]_{\text{inicial}} = 1,51 \text{ mmol L}^{-1}$ ; volume de amostra = 25 mL; variação da massa de adsorvente 0,100 – 2,00 g; tempo de contato = 24h; temperatura = 25°C; velocidade de agitação = 250 rpm.

Para interpretação dos dados de adsorção foram testados os modelos de isothermas de Langmuir e Freundlich. Na Figura 18 está apresentada a linearização da isoterma de adsorção de  $\text{H}_3\text{O}^+$  pelo adsorvente, obtidas através do melhor modelo e na Tabela 8 são apresentados os parâmetros determinados pelos dois modelos de isoterma.

Pode-se constatar que o modelo de isoterma de Langmuir apresentou melhor correlação dados experimentais de equilíbrio de adsorção ( $R > 0,99$ ), indicando a superfície do adsorvente como sendo homogênea com sítios idênticos de energia e sugerindo, portanto, uma adsorção que ocorre em monocamada. Os resultados indicam uma capacidade máxima de adsorção de 316 mmol de  $\text{H}_3\text{O}^+$  por kilograma de adsorvente.

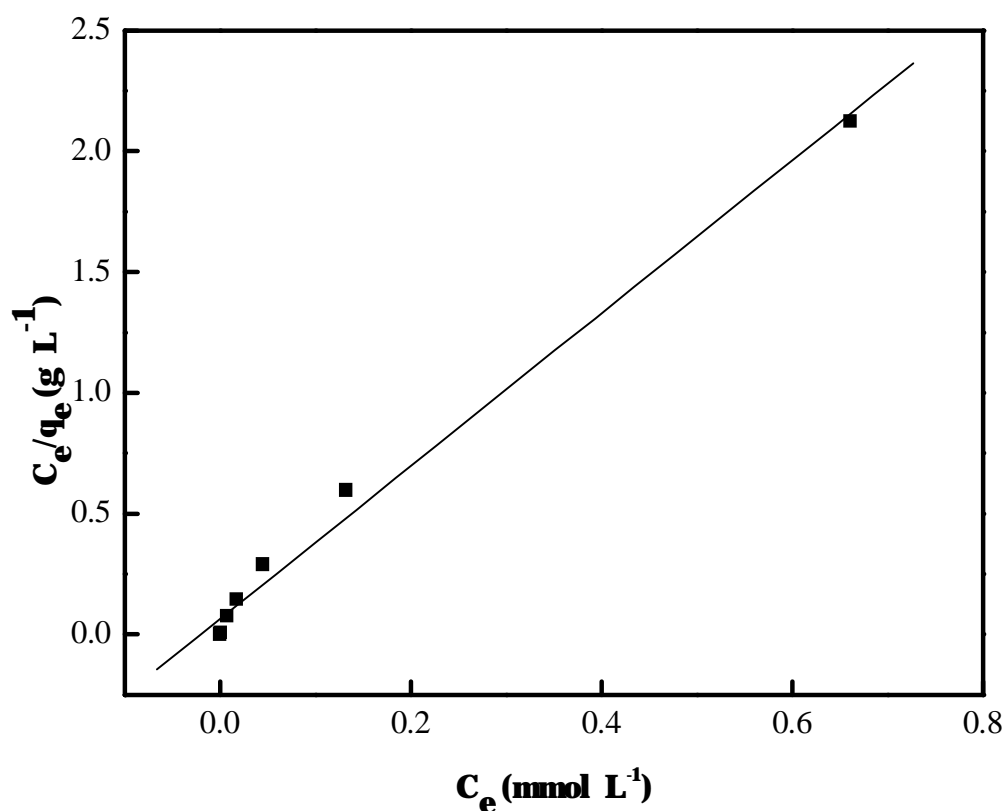


Figura 18. linearização da isoterma de adsorção de  $\text{H}_3\text{O}^+$  segundo o modelo de Langmuir

Tabela 8. Parâmetros de adsorção de  $H_3O^+$  segundo os modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich.

<b>Langmuir</b>			<b>Freundlich</b>		
$K_{ads}$ (L mmol <sup>-1</sup> )	$q_m$ (mmol g <sup>-1</sup> )	R	$K_F$ (mmol g <sup>-1</sup> ) / (mmol L <sup>-1</sup> ) <sup>b<sub>F</sub></sup>	$b_F$	R
50	0,316	0,995	0,253	0,146	0,966

### 5.6.3. Dependência do pH na adsorção de íons de metais

O efeito do pH na adsorção dos íons metálicos pelo adsorvente está ilustrado na Figura 19. Pode-se observar que a adsorção dos íons aumentou com o pH da solução, vindo a atingir o máximo de adsorção em pH = 5,6 para Cu (II), pH = 7,8 para Zn (II) e pH = 8,3 para Mn (II). Ressalta-se que para o ensaio com Cu (II) foram utilizados valores de pH < 6,0 uma vez que em valores superiores observou-se a sua precipitação.

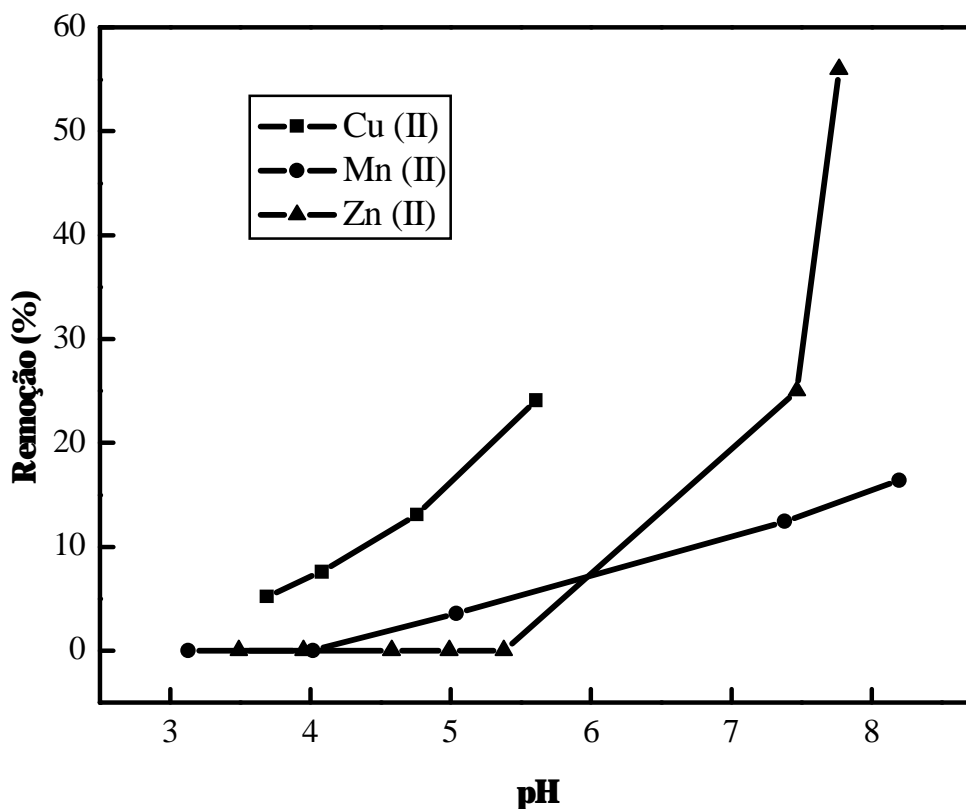


Figura 19. Efeito do pH na adsorção de íons de metais.  $[Cu^{2+}] = [Mn^{2+}] = [Zn^{2+}] = 10 \text{ mgL}^{-1}$ ; temperatura =  $25^{\circ}\text{C}$ ; tempo de contato = 24 horas; velocidade de agitação = 250 rpm; massa de adsorvente = 200 mg.

#### 5.6.4 Cinética de adsorção de íons de metais

A Figura 20 apresenta a cinética de adsorção de íons de metais pelo adsorvente. A curva cinética permite demonstrar que a adsorção foi rápida nas primeiras 3 horas de contato para os diferentes íons. Observa-se que equilíbrio foi atingido mais rapidamente (10 horas) para os íons Zn (II), permanecendo constante até 24 horas. Entretanto, para os íons Cu (II), Mn (II) e Fe (III) o perfil cinético foi mais lento, sendo o equilíbrio atingido somente em 48 horas e permanecendo constante até o final do ensaio (72 horas).

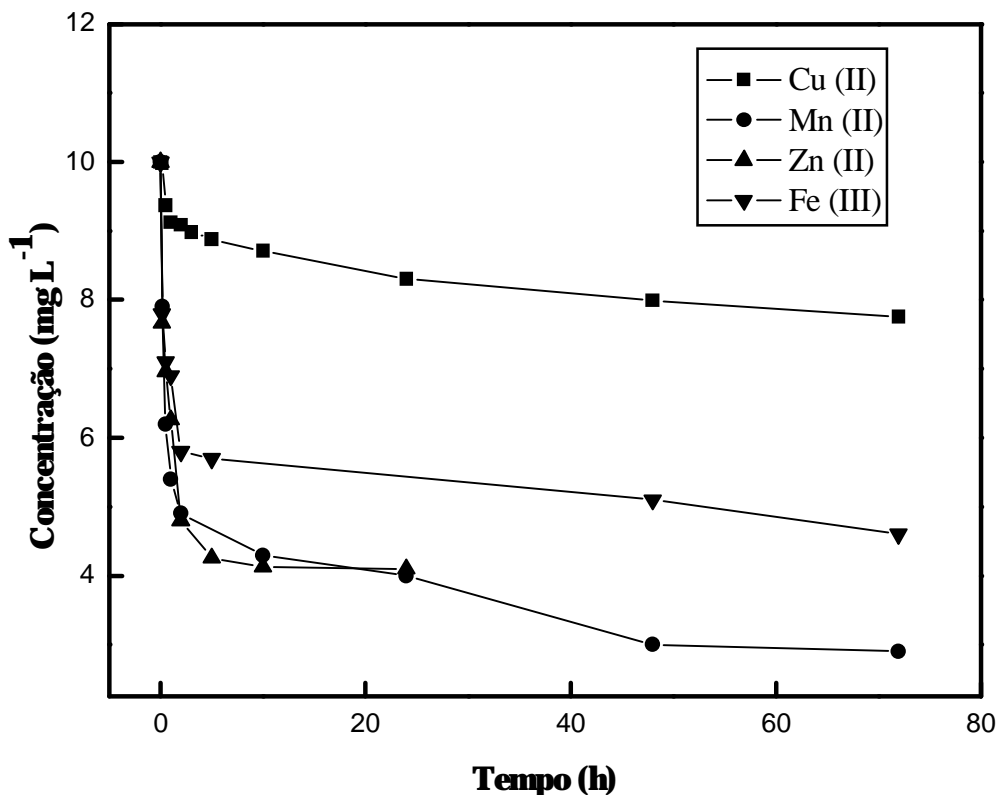


Figura 20. Cinética de adsorção dos íons de metais.  $[Cu^{2+}] = [Mn^{2+}] = [Zn^{2+}] = [Fe^{3+}] = 10 \text{ mg L}^{-1}$ ; Cu (II) pH= 5,0; 72 h; Mn (II) pH = 8,0; 72 h; Zn (II) pH = 7,0; 24 h; Fe (III) pH= 1,41; 72 h. temperatura = 25°C; velocidade de agitação = 250 rpm; massa de adsorvente = 100 mg.

A Figura 21 ilustra as linearizações da adsorção dos íons Cu (II), Mn (II), Zn (II) e Fe (III) pelo adsorvente, obtidas através do melhor modelo cinético e na Tabela 9 são apresentados os parâmetros determinados pelos dois modelos cinéticos testados. Tomando-se como base os coeficientes de correlação obtidos nos modelos cinéticos avaliados (Tabela 10), constata-se que a equação de pseudo segunda-ordem forneceu o melhor ajuste dos dados experimentais para os ensaios de adsorção dos diferentes íons de metais pelo adsorvente. Este perfil se mostrou semelhante aos resultados obtidos para adsorção de íons  $H_3O^+$ , evidenciando-se que a quimissorção seria a etapa determinante do mecanismo de adsorção. Constata-se que os valores de  $q_e$  calculados pelo modelo da equação de pseudo

segunda-ordem estão em concordância com os valores de  $q_e$  experimentais para os diferentes íons de metais. Para o modelo de pseudo primeira-ordem, entretanto, observa-se uma expressiva discrepância entre os seus valores obtendo-se um erro relativo de 53% para Mn (II), 93% para Cu (II) e 66% para Fe (III) e 49% para Zn (II). Pode-se observar que a constante de velocidade ( $k_2$ ) e a velocidade de adsorção inicial ( $h_0$ ) para Zn (II) foi maior do que os valores encontrados para Mn (II), Cu (II) e Fe (III).

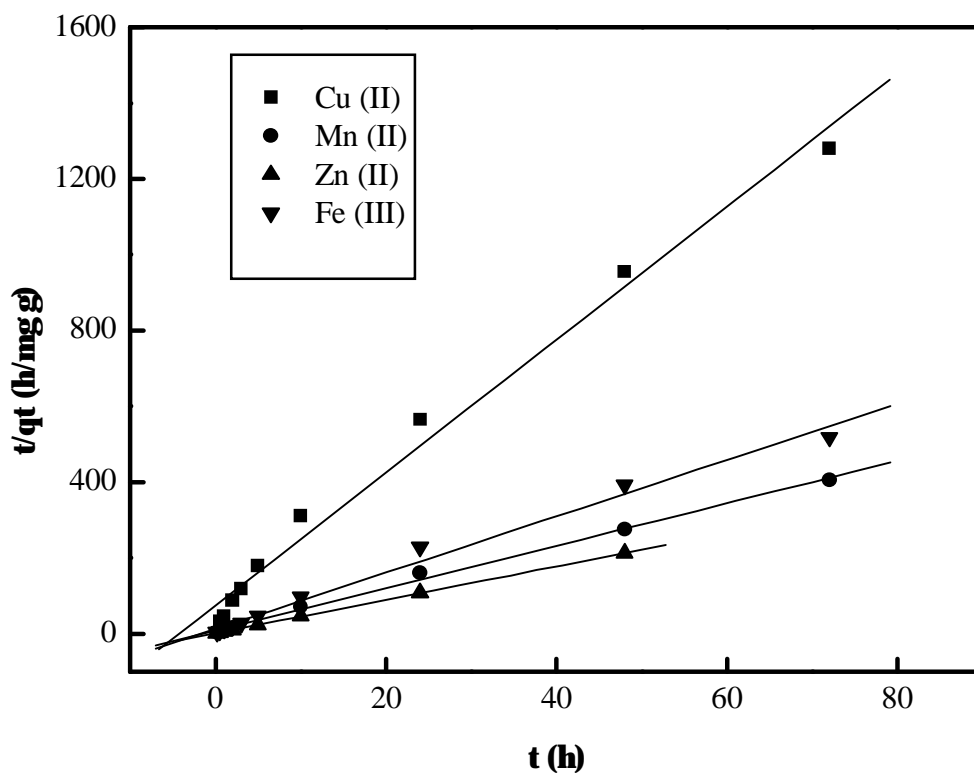


Figura 21. Linearização da cinética de pseudo segunda-ordem para a adsorção de Cu (II), Mn (II), Zn (II) e Fe (III).



Tabela 9. Parâmetros cinéticos de adsorção de íons de metais

<b>Metal</b>	<b>Pseudo primeira-ordem</b>			<b>Pseudo segunda-ordem</b>			
	q <sub>e</sub> exp. (mg g <sup>-1</sup> )	q <sub>e</sub> calc. (mg g <sup>-1</sup> )	k <sub>1</sub> (min <sup>-1</sup> )	q <sub>e</sub> exp. (mg g <sup>-1</sup> )	q <sub>e</sub> calc. (mg g <sup>-1</sup> )	k <sub>2</sub> (g mg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	h <sub>0</sub> (mg g <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
Mn (II)	0,177	0,083	0,068	0,177	0,178	4,255	0,13
Cu (II)	0,038	0,056	0,040	0,057	0,056	4,133	0,01
Fe (III)	0,135	0,045	0,026	0,135	0,134	4,572	0,08
Zn (II)	0,147	0,074	0,489	0,147	0,150	17,968	0,40

Tabela 10. Equações lineares e respectivos coeficientes de correlação (R) de adsorção de íons de metais

<b>Metal</b>	<b>Pseudo primeira-ordem</b>		<b>Pseudo segunda-ordem</b>	
	Equação (R)	R	Equação	R
Cu (II)	Y= 1,412 + 0,017 X	0,972	Y= 74,381 + 17,534 X	0,994
Mn (II)	Y = 1,079 + 0,029 X	0,962	Y = 7,404 + 5,605 X	0,998
Zn (II)	Y = 1,129 + 0,212 X	0,981	Y = 2,466 + 6,655 X	0,999
Fe (III)	Y = 1,339 + 0,011 X	0,755	Y = 12,090 + 7,432 X	0,994

### 5. 6. 5. Isoterma de adsorção de íons de metais

A Figura 22 apresenta as isotermas de equilíbrio de adsorção obtidas para Cu (II), Mn(II), Zn (II) e Fe (III) pelo adsorvente. Observa-se a correlação entre a quantidade de íon metálico adsorvida na superfície do adsorvente e a remanescente na fase aquosa em equilíbrio. Esta relação mostra que a capacidade de adsorção aumentou com a concentração de equilíbrio dos diferentes íons de metais na solução até a saturação do adsorvente, conforme também observado nos ensaios de adsorção de íons  $H_3O^+$ .

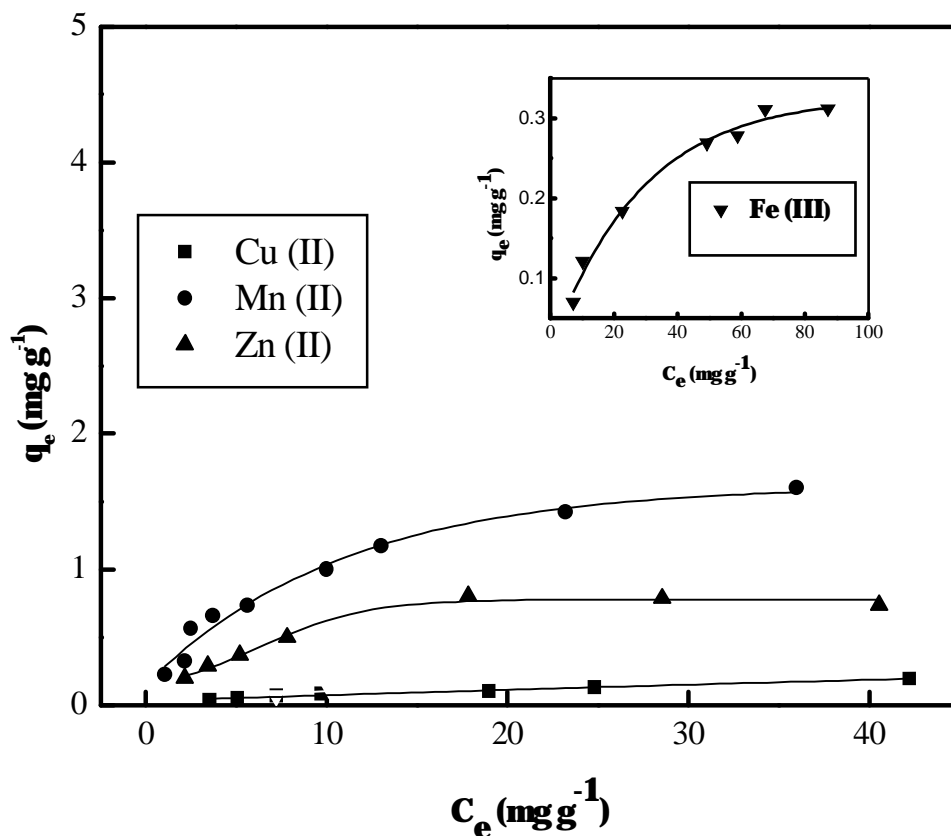


Figura 22. Isotermas de equilíbrio de adsorção dos íons Cu (II), Mn (II), Zn (II) e Fe (III). Cu (II): pH = 5,0; Mn (II): pH = 8,0; Zn (II): pH = 7,0; Fe (III): pH = 1,4; tempo de contato = 72h; temperatura = 25°C; velocidade de agitação = 250 rpm; massa de adsorvente = 2g.

Os modelos de isothermas de Langmuir e Freundlich foram testados para a interpretação dos dados de adsorção. Na Figura 23 estão ilustradas as linearizações da isoterma de adsorção de Mn (II), Zn (II) e Fe (III) pelo adsorvente, obtidas através do melhor modelo. Na Tabela 11 são apresentados os parâmetros determinados pelos dois modelos de isoterma. Ressalta-se que a isoterma de adsorção de Cu (II) apresentou um perfil isotérmico linear, demonstrando que a quantidade de metal adsorvida na fase sólida aumentou com a concentração deste na fase aquosa.

Os resultados permitem sugerir que o modelo de isoterma de Langmuir apresentou melhor ajuste dos dados experimentais de equilíbrio de adsorção dos íons metálicos pelo adsorvente, o que pode ser observado a partir dos valores dos coeficientes de correlação. Este perfil também foi observado nos experimentos de adsorção de íons  $H_3O^+$ , evidenciando, portanto, uma adsorção homogênea, ou seja, em monocamada. Pode-se observar que a capacidade máxima de adsorção ( $q_m$ ) obtida para Mn (II) foi superior aos valores encontrados para Zn (II) e Fe (III), indicando uma ordem de capacidade: Mn (II) > Zn (II) > Fe (III).

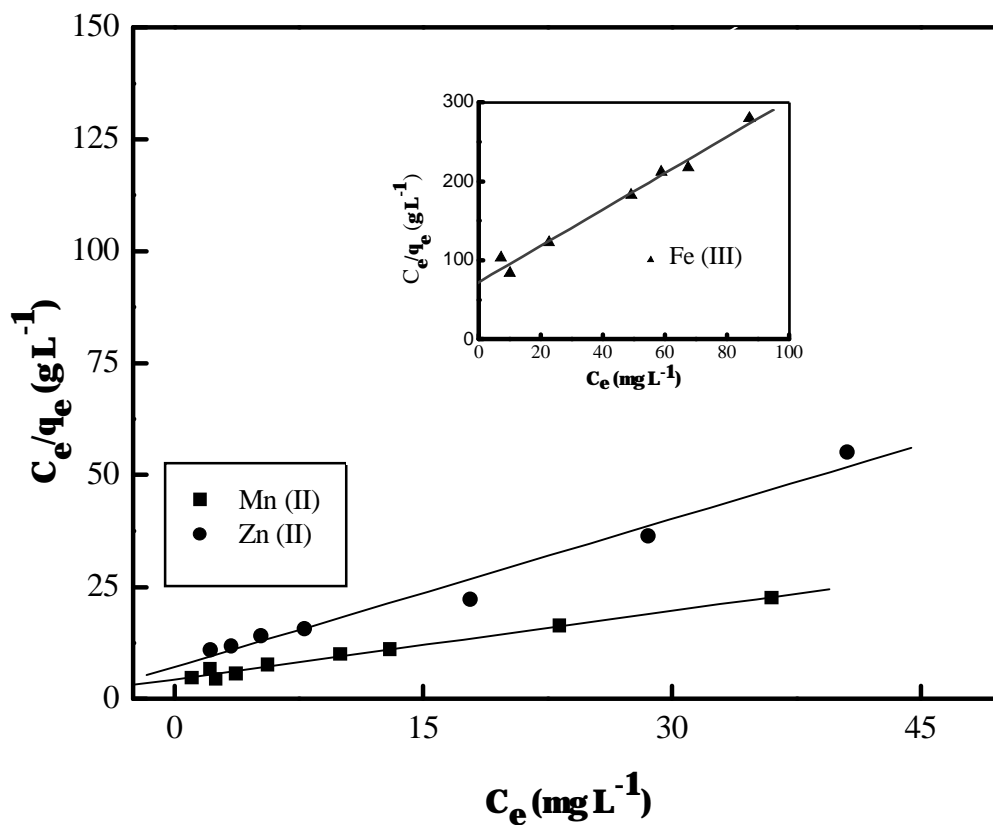


Figura 23. Linearização da isoterma de adsorção de Mn (II), Zn (II) e Fe (III) segundo o modelo de Langmuir.

Tabela 11. Parâmetros de adsorção de Mn (II), Zn (II), Fe (III) segundo os modelos de isoterma de Langmuir e Freundlich.

Metal	Langmuir			Freundlich		
	$K_{ads}$ ( $L\ mg^{-1}$ )	$q_m$ ( $mg\ g^{-1}$ )	R	$K_F$ ( $mg\ g^{-1} / (mg\ L^{-1})^{b_F}$ )	$b_F$	R
Mn (II)	0,116	1,963	0,993	0,266	0,547	0,966
Zn (II)	0,154	0,907	0,986	0,162	0,472	0,952
Fe (III)	0,031	0,434	0,991	0,028	0,566	0,975

Os resultados obtidos nos experimentos de adsorção com os íons metálicos individuais em seus pHs ótimos permitem demonstrar que a capacidade máxima de adsorção dos metais estudados pelo adsorvente foi relativamente pequena. Quando se compara a percentagem de remoção dos íons de metais da drenagem ácida (Figura 12) com as soluções sintéticas (Figura 19), observa-se que a eficiência de remoção é ocasionada prevalentemente pela precipitação dos metais em decorrência da elevação do pH da solução. Desta forma, sugere-se que o rejeito calcinado utilizado como adsorvente tem pouca afinidade pelos metais em solução e, como conseqüência, apresenta baixa capacidade de adsorção dos mesmos.

### **5.7. Avaliação da toxicidade das águas de drenagem utilizando organismos bioindicadores**

A seguir estão descritos os resultados da avaliação da toxicidade das águas de drenagem ácida não remediada e remediada com rejeito de mineração de carvão calcinado utilizado como adsorvente sobre os organismos bioindicadores *Daphnia magna*, *Artemia* sp e *Allium cepa* L. Salienta-se que para estes ensaios foi utilizada drenagem remediada em processo estático, uma vez que o mesmo se mostrou mais efetivo em termos de redução da acidez e remoção de íons metálicos, conforme resultados anteriormente apresentados.

#### **5.7.1. Toxicidade aguda sobre microcrustáceos *Daphnia magna* e *Artemia* sp**

A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos da toxicidade aguda em *Daphnia magna* exposta à drenagem ácida não remediada e remediada pelo adsorvente.

Tabela 12. Toxicidade aguda em *Daphnia magna* exposta a diferentes diluições de drenagem ácida não remediada (NR) e remediada (R) pelo adsorvente

Diluição	Fator de Diluição (FDd)	Mortalidade (%)	
		NR	R
1:1	1	100	0
1:2	2	100	0
1:3	3	100	0
1:6	6	100	0
1:12	12	100	0
1:24	24	40	0
1:48	48	30	0
1:96	96	0	0

Estes resultados permitem demonstrar que a drenagem ácida não remediada apresentou expressiva toxicidade aguda sobre *Daphnia magna*, obtendo-se um valor de FDd = 96 o qual está acima do limite máximo previsto pela Portaria N° 017 da FATMA (FDd ≤ 8). Desta forma, conforme preconizada pela Portaria, faz-se necessário a remediação prévia destas drenagens antes de serem lançadas ao meio ambiente, como forma de evitar os possíveis danos provocados por este contaminante.

Em nossos estudos, observou-se que após a remediação da drenagem com o adsorvente não houve toxicidade aguda para *Daphnia magna* para as diferentes diluições, não sendo possível a determinação o FDd. Salienta-se que estes resultados são de suma importância, uma vez que o sistema de remediação proposto foi capaz de conferir uma melhora da qualidade da drenagem, obtendo-se parâmetros de toxicidade dentro dos valores preconizados pela Portaria N° 017.

A literatura tem demonstrado toxicidade aguda em *Daphnia magna* quando expostas às águas e seus sedimentos atingidas por efluentes de mineração de carvão, tendo sido sugerido que o efeito tóxico estaria relacionado à acidez (pH<4,0) e à elevada

concentração de metais como o ferro e o manganês presentes nas amostras (SOUCEK et al., 2000; GERHARDT et al., 2005).

Em trabalho descrito por Siva e Syed (1999), foi observada expressiva toxicidade em microcrustáceo *Daphnia magna* quando expostas a soluções de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  e  $\text{AgNO}_3$ , sendo que houve uma significativa diminuição da toxicidade após a remoção destes compostos por agentes quelantes.

Rao (1985) relata a toxicidade em *Daphnia magna* expostas a diferentes concentrações de metais como Pb, Cd, Cr e Cu, o que permitiu demonstrar o efeito deletério sobre os organismos em presença destes elementos químicos.

Em estudos realizados por Yim e colaboradores (2006) também foi constatada expressiva toxicidade aguda para *Daphnia magna* quando exposta à solução de metais Cd, Cu, Pb e Zn, tanto de forma individual, quanto no conjunto dos mesmos, além da exposição à drenagem de mina, tendo sido sugerido que o efeito tóxico seria decorrente de alterações de permeabilidade de membrana, com conseqüente distúrbios do fluxo de íons.

Tem-se proposto que ambientes aquáticos de baixo pH e de elevada concentração de metais são capazes de provocar efeitos deletérios e até a morte da biota exposta (RIDGE, 1998). Portanto, pode-se sugerir que a toxicidade das águas de drenagem sobre o microcrustáceo em estudo poderia estar associada à sua expressiva acidez e elevada concentração dos metais Al (III), Fe (III) e Mn (II), conforme observado nos resultados da avaliação dos parâmetros físico-químicos (Tabela 5). Observa-se também que o tratamento da drenagem com o adsorvente provocou a elevação de pH para valores próximos à neutralidade além da efetiva remoção dos metais (Figura 11 e 12), o que possivelmente resultou no desaparecimento da mortalidade sobre *Daphnia magna*.

Além da toxicidade sobre *Daphnia magna*, em nosso estudo também foi observada uma relevante toxicidade aguda sobre *Artemia* sp (Figura 24) quando expostos a diferentes concentrações de drenagem ácida de mina não remediada, obtendo-se um valor de  $\text{CL}_{50} = 4,97\%$ .

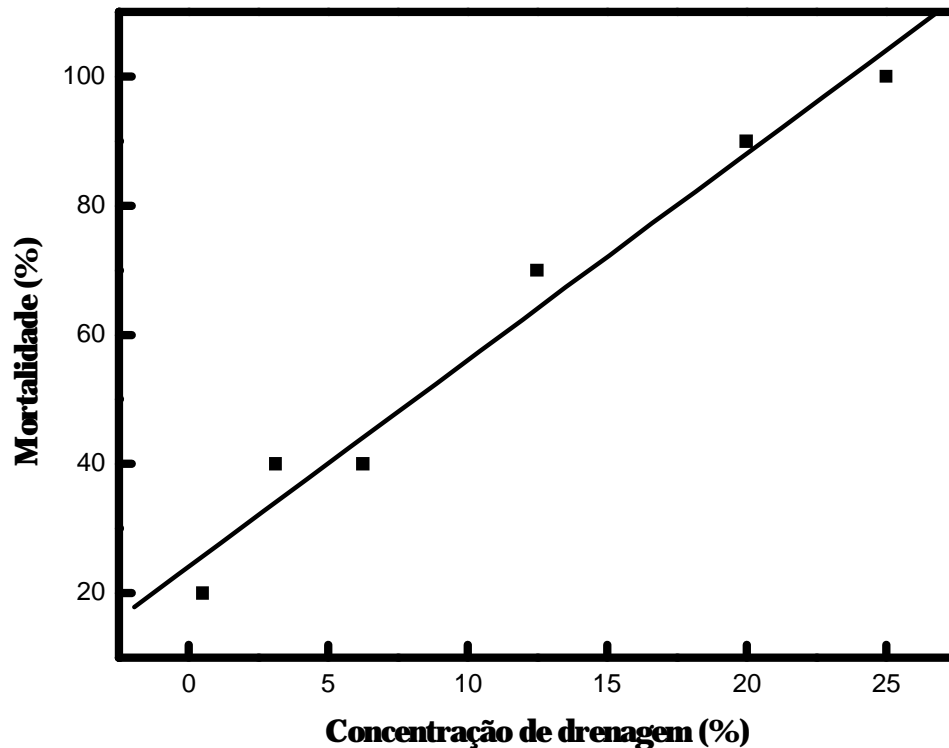


Figura 24. Mortalidade de *Artemia* sp expostos a diferentes concentrações de drenagem não remediada.

Em trabalho efetuado na região carbonífera de Criciúma/SC, também foi constatada expressiva mortalidade em *Artemias* sp expostas às águas de drenagem de mina de subsolo ( $CL_{50} = 3,1\%$ ), a efluente de infiltração de bacias de decantação ( $CL_{50} = 6,7\%$ ), bem como, às águas de rio atingidas pelos efluentes de mineração de carvão ( $CL_{50} = 2,5\%$ ), sendo sugerido que a toxicidade seria decorrente da acidez e da presença de íons de metais como Fe, Mn, Zn, Cu e Pb nas amostras (GEREMIAS et al., 2003).

Também tem sido relatada na literatura a toxicidade de metais sobre *Artemia* sp e outros microcrustáceos, podendo-se citar o de Hadjispyrou e colaboradores (2001) que observaram mortalidade em *Artemia franciscana* quando expostas à solução de cádmio e cromo hexavalente.



Confirmando os resultados obtidos com *Daphnia magna*, em nossos estudos constatou-se que após a remediação da drenagem com o adsorvente não houve toxicidade aguda para *Artemia* sp, não sendo possível a determinação matemática da CL<sub>50</sub>. Semelhante ao proposto nos ensaios com *Daphnia magna*, a toxicidade aguda sobre *Artemia* sp também poderia estar associada à acidez e à presença de metais na drenagem, uma vez que após a sua remediação não mais se observou efeito deletério sobre os organismos bioindicadores.

Portanto, pode-se sugerir que o sistema de remediação da drenagem utilizando-se o adsorvente se mostrou efetivo na remoção da toxicidade aguda sobre os organismos bioindicadores em estudo, possivelmente em decorrência de sua capacidade de remoção da acidez e dos íons de metais em solução.

### **5.7.2. Toxicidade subaguda em *Allium cepa* L.**

Os resultados da toxicidade subaguda avaliados através da inibição do crescimento de raízes de *Allium cepa* L. expostas a diferentes diluições de drenagem não remediada estão apresentados na Figura 25. A partir dos resultados foi possível determinar a RC<sub>50</sub>, obtendo-se um valor de 10,4%. Com este resultado, pode-se observar que em baixa concentração de drenagem não remediada houve expressiva inibição do crescimento das raízes quando comparado ao grupo controle negativo. Constatou-se que após a remediação da drenagem com o adsorvente não houve inibição do crescimento das raízes de *Allium cepa* L., não sendo possível a determinação matemática da RC<sub>50</sub>.

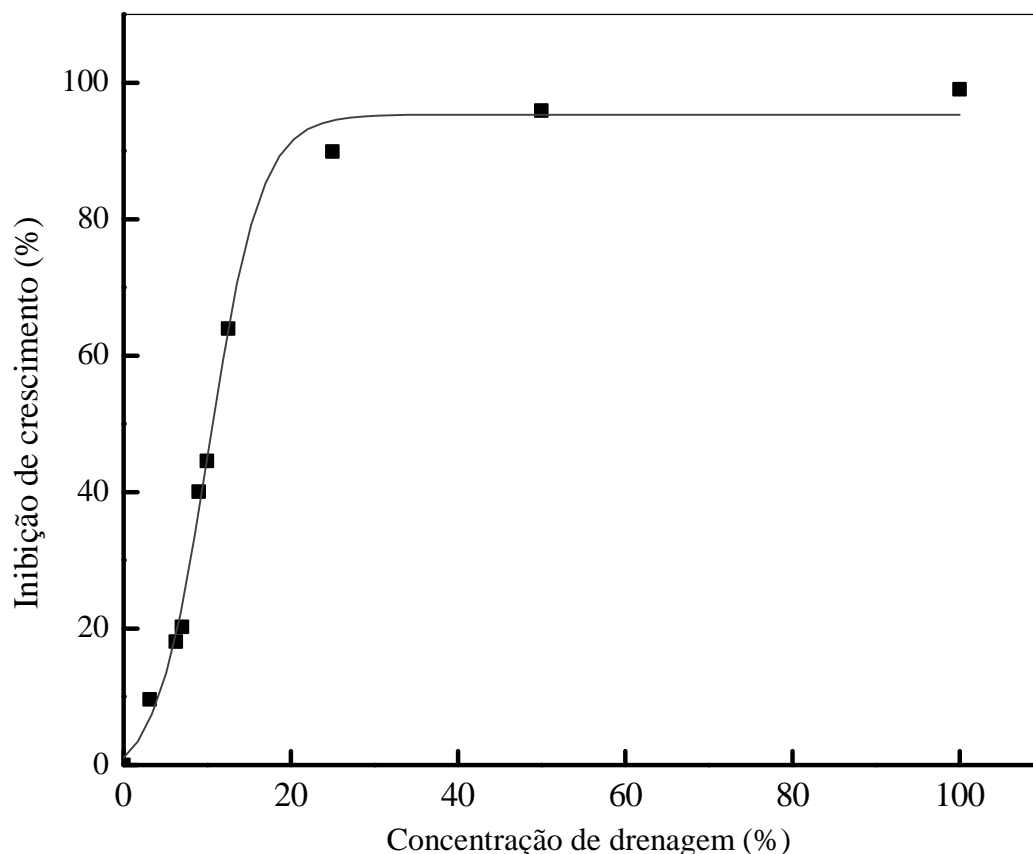


Figura 25. Inibição do crescimento das raízes em *Allium cepa* L. expostas a diferentes concentrações de drenagem não remediada.

Trabalhos na literatura têm descrito a inibição do crescimento de raízes em plantas quando exposta a efluente de mineração de carvão e a diferentes metais. Geremias e colaboradores (2008) observaram expressiva inibição do crescimento de raízes em *Allium cepa* L. ( $RC_{50} = 9,21\%$ ) exposta a efluentes de mineração de carvão, o qual apresentava elevada acidez ( $pH = 2,72$ ) e alta concentração de metais como ferro, alumínio e manganês.

Em trabalho realizado por Teixeira e colaboradores (2004), foi constatado a inibição do crescimento de raízes de *Allium cepa* L. ( $RC_{50}=25,2\%$ ) quando expostas a águas de rio da região carbonífera de Criciúma contaminadas por efluentes da mineração.

Tiwari e colaboradores (2006) observaram que efluentes de mineração de carvão contendo elevada concentração de Fe, Mn, Cu, Zn, Cr, Cd, Ni e Pb foram capazes de

provocar expressiva inibição de crescimento de raízes em *Oryza sativa* L. além de bioacúmulo dos metais avaliados.

A inibição de crescimento de raízes de *Allium cepa* L. foi observada quando exposta a esgoto doméstico contendo metais pesados (SRIVASTAVA et al., 2005).

Em estudos de avaliação dos efeitos fitotóxicos sobre *Allium cepa* L. exposta a diferentes concentrações de sais dos metais Cd, Pb, Ni, Al, Cu e Zn foi observado inibição do crescimento de raízes, bem como, da germinação de sementes (DOVGALIUK et al., 2001).

Os mecanismos envolvidos na inibição do crescimento de raízes de plantas frente à exposição a metais ainda não estão bem estabelecidos. Sugere-se que este efeito fitotóxico estaria relacionado à capacidade dos metais de serem acumulados pela planta e interagirem com sítios específicos localizados na parede celular (ex: interação com pectinas e hemiceluloses), na membrana plasmática (ex: interação com lipídeos ou proteínas) e no núcleo celular. Como consequência, poderiam ser desencadeadas diversas alterações fisiológicas, bioquímicas e moleculares na célula, tais como: alteração do fluxo de água e nutrientes, alteração da homeostase do fluxo de cálcio e comprometimento de eventos de sinalização celular, distúrbios do ciclo celular e da atividade mitótica de células meristemáticas. Estes efeitos poderiam trazer como resultados a inibição do crescimento de tecidos da planta, incluindo-se os das raízes (DOVGALIUK et al., 2001; PATRÍCIA et al., 2003; EZAKI et al. 2004; LEDISLAV et al., 2006; GLI SKA et al. 2007).

Neste contexto, a toxicidade constatada em nossos estudos sobre *Allium cepa* L. quando expostas à drenagem poderia ser decorrente da acidez e da presença de metais em solução, os quais foram efetivamente removidos após a remediação com o adsorvente, com consequente redução do efeito fitotóxico sobre a planta.

A partir dos resultados obtidos, pode-se constatar que o sistema de remediação da drenagem ácida utilizando-se rejeito de mineração de carvão como adsorvente se mostrou efetivo na remoção da toxicidade sobre os organismos bioindicadores *Daphnia magna*, *Artemia* sp e *Allium cepa* L., contribuindo para o seu uso como alternativa de tratamento desta fonte de contaminação ambiental.

### 5.7.3. Biomarcadores de estresse oxidativo em *Allium cepa* L.

A seguir, serão descritos os resultados obtidos com os biomarcadores de estresse oxidativo em *Allium cepa* L. expostas à drenagem não remediada e após remediação em processo estático com o rejeito calcinado utilizado como adsorvente. Os ensaios foram conduzidos utilizando-se ambas as amostras na concentração de 10%, o qual representou o valor aproximado obtido na RC<sub>50</sub> (10,4%), e água mineral como controle negativo.

Os resultados obtidos da lipoperoxidação, proteína carbonilada, atividade da catalase e glutatona reduzida (GSH) em *Allium cepa* L. expostas a diferentes amostras estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Lipoperoxidação (TBARS), proteína carbonilada (PC), atividade da catalase (CAT) e glutatona reduzida (GSH) em *Allium cepa* L. (n=6) exposta à água mineral como controle negativo (CN), à drenagem não remediada (NR) e à drenagem remediada (R) com o adsorvente

Amostras	Biomarcadores (Média ± Erro Padrão da Média)			
	TBARS (nmol g <sup>-1</sup> )	PC (μmol mg <sup>-1</sup> )	CAT (μmol min <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> )	GSH (mM g <sup>-1</sup> )
CN	94,4 ± 5,4	64,2 ± 15,1	7,18 ± 0,46	0,71 ± 0,11
NR	128,1 ± 7,1 <sup>a,b</sup>	186,3 ± 16,9 <sup>a,b</sup>	10,57 ± 1,42 <sup>a,b</sup>	0,64 ± 0,11
R	61,3 ± 4,7 <sup>a</sup>	128, 2 ± 14,2 <sup>a</sup>	6,30 ± 0,14	0,75 ± 0,09

(a) e (b) representam diferenças significativas em relação ao CN e ao R, respectivamente. (P<0,05)

Em relação à avaliação da lipoperoxidação sobre *Allium cepa* L. (Tabela 13), pode-se observar que a exposição à drenagem não remediada provocou significativa indução da peroxidação lipídica, cujos valores de TBARS se mostraram 35,6% maiores quando comparados ao controle negativo. Constata-se que após a remediação da drenagem com o adsorvente, houve significativa diminuição do dano oxidativo, quando comparado ao grupo

exposto à drenagem não remediada, como também, vindo a assumir valores menores do que o grupo controle negativo.

A literatura tem apontado efeito de lipoperoxidação sobre *Allium cepa* L. e outros vegetais quando expostos a metais. Em trabalho desenvolvido por Achary e colaboradores (2008), foi constatada elevação significativa da lipoperoxidação em *Allium cepa* L. quando exposta a diferentes concentrações de alumínio. Foram observados valores aumentados de produtos da peroxidação lipídica em termos de malondialdeído (MDA) em aproximadamente 50, 100 e 150% com o tratamento de 1, 10 e 100  $\mu\text{M}$  de Al, respectivamente, quando comparados ao controle negativo. Também foi constatado a elevação da concentração de peróxido de hidrogênio e da geração de ânion superóxido e radical hidroxil, sugerindo-se que os mesmos estariam envolvidos na peroxidação lipídica frente à exposição ao metal.

Plantas da espécie *Populus cathayana* foram expostas a concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mM de manganês, sendo avaliada a peroxidação lipídica pela determinação do conteúdo de MDA. Foi constatado aumento crescente de MDA em até aproximadamente 2,5 vezes frente à exposição ao metal, quando comparado ao grupo controle não exposto, além do seu bioacúmulo em tecidos da planta. A exposição ao manganês também provocou aumento significativo na geração de peróxido de hidrogênio, o qual estaria envolvido no processo de lipoperoxidação (LEI, KORPELAINEN, CHUNYANG, 2007).

Sinhá e colaboradores (1997) realizaram experimentos em planta *Hydrilla verticillata* (L.f.) expostas a concentrações crescentes de ferro (0,5, 1,0, 2,0 e 5,0  $\text{mg L}^{-1}$ ), sendo avaliada os níveis de peroxidação lipídica em termos de MDA, além do bioacúmulo do metal. Constatou-se um aumento significativo de até 79% do conteúdo de MDA no tratamento com 5,0  $\text{mg L}^{-1}$  de ferro e o acúmulo do metal em tecidos nas diferentes concentrações do tratamento. Foi sugerido que o dano oxidativo seria decorrente principalmente da ação do metal sobre lipídeos de membrana.

A peroxidação de lipídeos constitui num dos principais danos oxidativos provocados pelas espécies reativas de oxigênio, sendo capaz de promover alterações estruturais e funcionais em membranas biológicas. Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) são mais susceptíveis ao ataque das EROS, devido ao carbono metilênico *bis* alílico. A lipoperoxidação consiste em reações de cadeia que podem ser divididos em 3

etapas: iniciação, propagação e terminação. Na etapa de iniciação (Equação 40), os PUFAs (RH) sofrem abstração do hidrogênio alílico pelos radicais livres, fundamentalmente pelo HO<sup>•</sup>, gerando um radical lipídico R<sup>•</sup>. Na etapa de propagação (Equação 41 e 42), o radical lipídico formado reage com o oxigênio molecular, gerando um lipoperóxido (ROO<sup>•</sup>). Por sua vez, este lipoperóxido pode abstrair um novo hidrogênio de outro carbono molecular, persistindo o processo auto-catalítico que converte o carbono dos ácidos graxos de fosfolípidos de membrana em hidroperóxidos (ROOH). Na etapa de terminação (Equação 43 e 44), os radicais livres anteriormente gerados reagem entre si, formando produtos estáveis ROOR e R-R (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1999).



Os PUFAs linoleico (18:2) e linolênico (18:3) são os principais ácidos graxos de membranas em vegetais. Estes lipídeos são particularmente susceptíveis ao ataque por HO<sup>•</sup>, gerando uma mistura complexa de produtos da peroxidação, incluindo-se o 4-hidroxi-2-nonenal (HNE), oxilipina cíclica, malondialdeído (MDA) e ácido hidroxi-octadecatriênico (13-HOTE) (Figura 26), os quais também são capazes de provocar dano oxidativo (MØLLER, JENSEN, HANSSON, 2007).

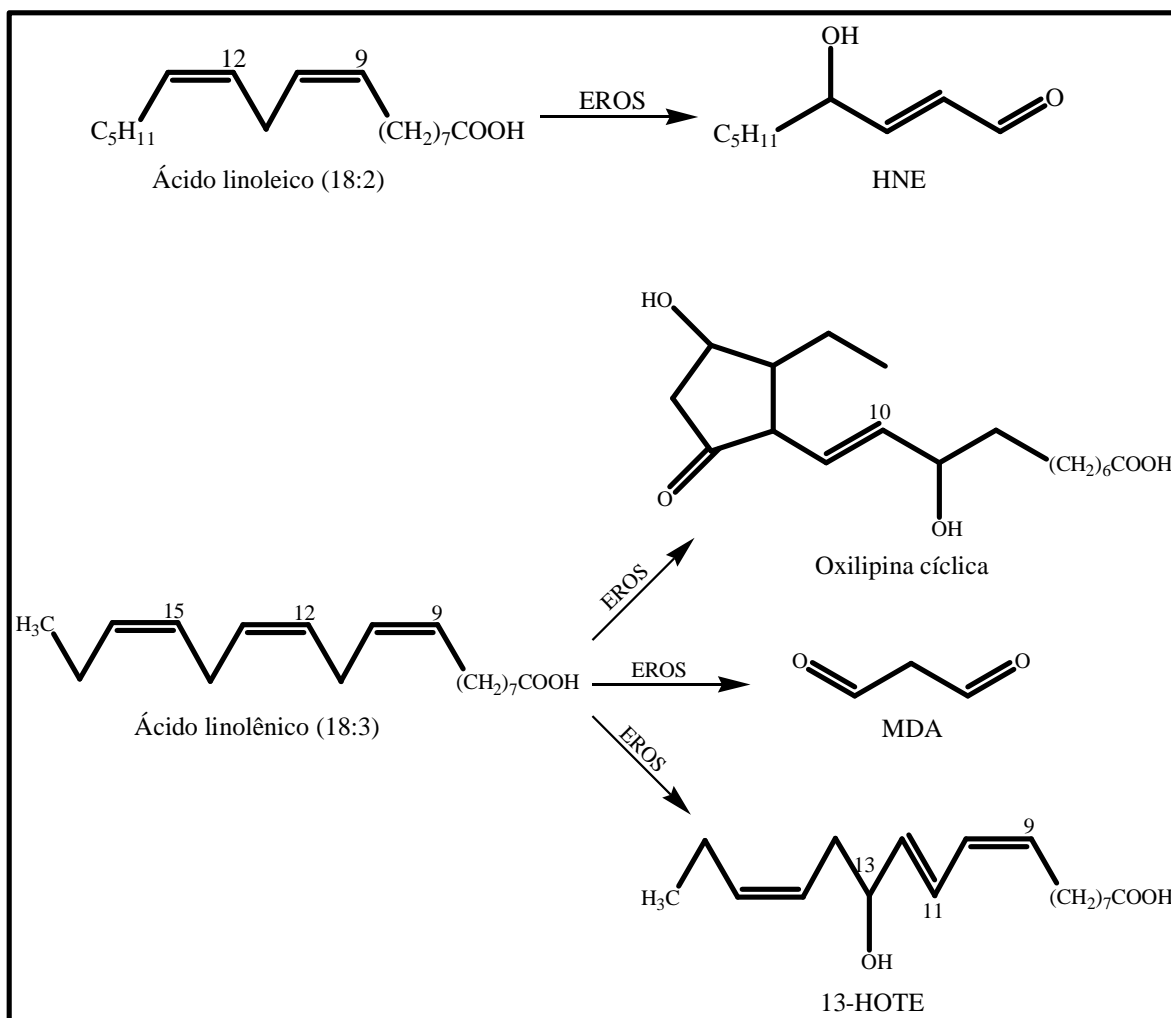
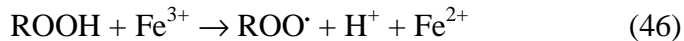


Figura 26. Produtos da peroxidação de ácidos graxos polinsaturados por EROS (MØLLER, JENSEN, HANSSON, 2007; Com adaptações).

Em nossos estudos de avaliação dos parâmetros físico-químicos da drenagem ácida foi observada a presença de metais, incluindo-se, o ferro. Tem-se proposto que este metal está envolvido na geração de radical  $\text{HO}^\bullet$ , via reação de Fenton. Além do radical  $\text{HO}^\bullet$ , espécies como  $\text{Fe}^{2+}\text{O}_2$ ,  $\text{Fe}^{3+}\text{O}_2^-$ ,  $\text{FeO}_2^+$  podem ser responsáveis pela iniciação das reações em cadeia que se processam na lipoperoxidação. O ferro também pode participar na etapa de propagação da peroxidação lipídica, aumentando a velocidade de oxidação de lipídeos através da conversão dos hidroperóxidos lipídicos ( $\text{ROOH}$ ) em radicais alcoxil ( $\text{RO}^\bullet$ ) e peroxil ( $\text{ROO}^\bullet$ ) conforme Equação 45 e 46 (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1999).



Portanto, pode-se sugerir que o dano oxidativo a lipídeos observados em *Allium cepa* L. exposta à drenagem ácida não remediada poderia estar associada à presença de metais, especialmente do ferro, através da ação de radical HO• e de sua ação sobre as reações em cadeias no processo de lipoperoxidação. Isto pode ser evidenciado pela diminuição significativa do dano oxidativo após o tratamento com o adsorvente, o qual foi capaz de remover os metais em solução.

Os resultados da avaliação do dano oxidativo ao DNA sobre células meristemáticas de *Allium cepa* L., utilizando-se teste de fragmentação (Teste Cometa) estão apresentados na Figura 27. Pode-se constatar que a exposição à drenagem não remediada provocou um aumento significativo no índice de dano ao DNA, cujos valores estavam 12,8 vezes maiores do que o grupo controle negativo. Após a remediação da drenagem com o rejeito calcinado, houve uma diminuição significativa do dano oxidativo, quando comparado ao grupo exposto à drenagem não remediada.



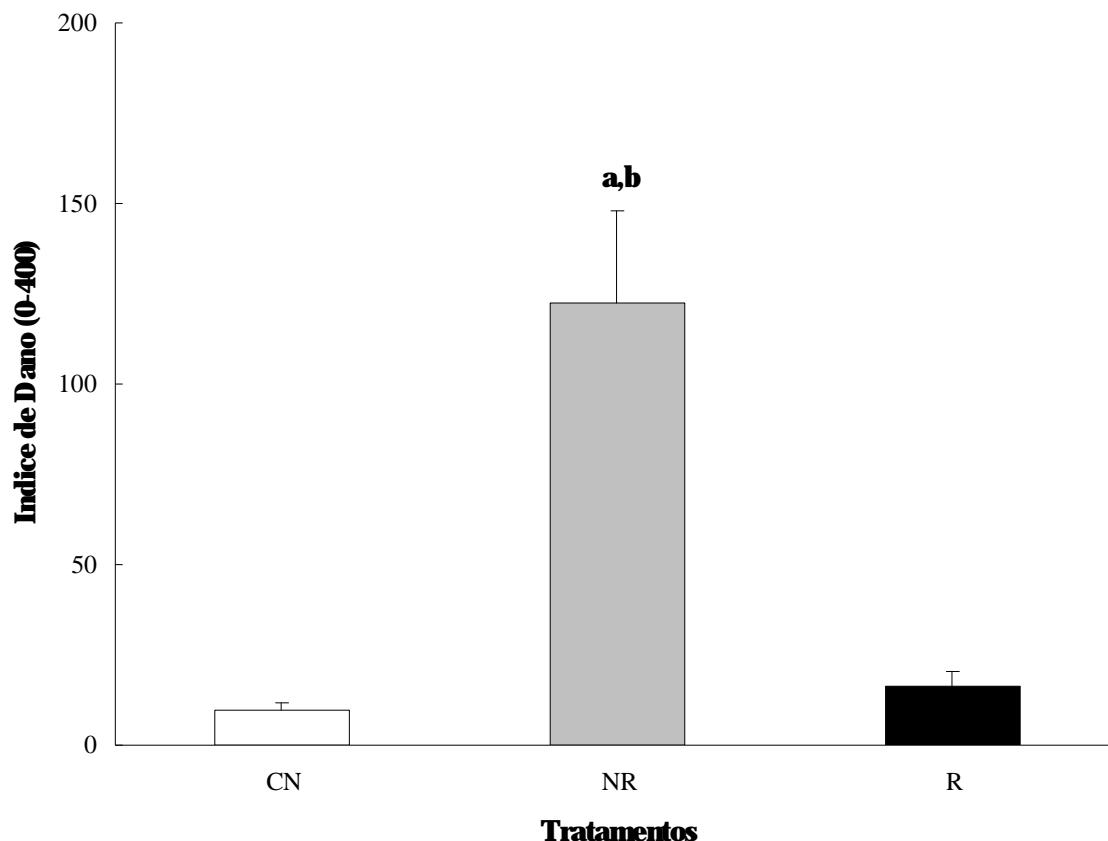


Figura 27. Índice de Dano ao DNA (ID) em *Allium cepa* L. (n=6) exposta à água mineral como controle negativo (CN), à drenagem não remediada (NR) e à drenagem remediada (R) com o adsorvente. Os valores estão expressos em Média  $\pm$  Erro Padrão da Média. (a) e (b) representam diferenças significativas em relação ao CN e R, respectivamente ( $P < 0,001$ ).

Trabalhos na literatura têm demonstrado o uso de *Allium cepa* L. para avaliação de dano oxidativo ao DNA frente à exposição a efluentes de mineração de carvão e a metais. Geremias e colaboradores (2008) observaram significativa elevação do índice de dano ao DNA (ID=  $254,5 \pm 15,1$ ) em células meristemáticas de *Allium cepa* L. exposta a efluentes de mineração de carvão, quando comparado ao grupo controle negativo (ID =  $53,1 \pm 5,9$ ). Foi sugerido que o dano estaria associado à elevada acidez e expressiva concentração de metais como ferro, alumínio, manganês, zinco e chumbo presentes no efluente.

Em outro estudo, *Allium cepa* L. foram expostas a amostras de águas de rio da região carbonífera de Criciúma, as quais são contaminadas com efluentes de mineração de carvão, tendo sido observado um significativo índice de dano ao DNA ( $ID = 150,3 \pm 11,5$ ), quando comparado ao controle negativo ( $ID = 47,1 \pm 4,5$ ), sugerindo-se que o dano oxidativo seria decorrente da acidez e da presença de metais gerados pela mineração (TEIXEIRA et al., 2004).

Em trabalho descrito por Chandra e colaboradores (2005), foi avaliado o efeito genotóxico em *Allium cepa* L. exposta a efluente industrial em diferentes diluições, os quais continham metais, incluindo-se o ferro e o manganês. Foi observado quebra e fragmentação de cromátides em 2,52, 6,27 e 14,21% das células meristemáticas quando expostas ao efluente a 2,5, 5,0 e 10% de diluição, respectivamente, cujos valores estiveram acima do grupo controle negativo (1,4%). Foi sugerido que o efeito genotóxico estaria associado à geração de EROS pelos metais presentes no efluente.

*Allium cepa* L. foram expostas a cinzas de carvão provenientes de indústria termoelétricas ricas em metais Zn, Pb, Cu, Ni, Cd sendo avaliada o seu efeito sobre o DNA em células meristemáticas. Constatou-se uma incidência 4,6 vezes maior de células com dano ao DNA e aumento de sua fragmentação em 2,6 vezes no tratamento com as cinzas, quando comparado ao grupo controle negativo. Os autores sugeriram que o dano oxidativo ao DNA seria decorrente da presença de metais (CHAKRABORTY, KUMAR, MUKHERJEE, 2008).

O dano oxidativo ao DNA constitui um importante efeito deletério das EROS sobre os sistemas biológicos, podendo o mesmo ocorrer tanto nas bases nitrogenadas como nas pentoses. O radical  $HO\bullet$  é o mais reativo, sendo capaz de interagir com as bases, por sua adição às insaturações em sítios de alta densidade eletrônica, onde a formação da 8-hidroxi guanidina é a modificação mais comumente observada. As EROS também podem provocar a oxidação do DNA de forma indireta, onde a conjugação de produtos da peroxidação de ácidos graxos insaturados (ex: MDA) com as bases nitrogenadas representaria um dos principais mecanismos (Figura 28) (MØLLER, JENSEN, HANSSON, 2007).

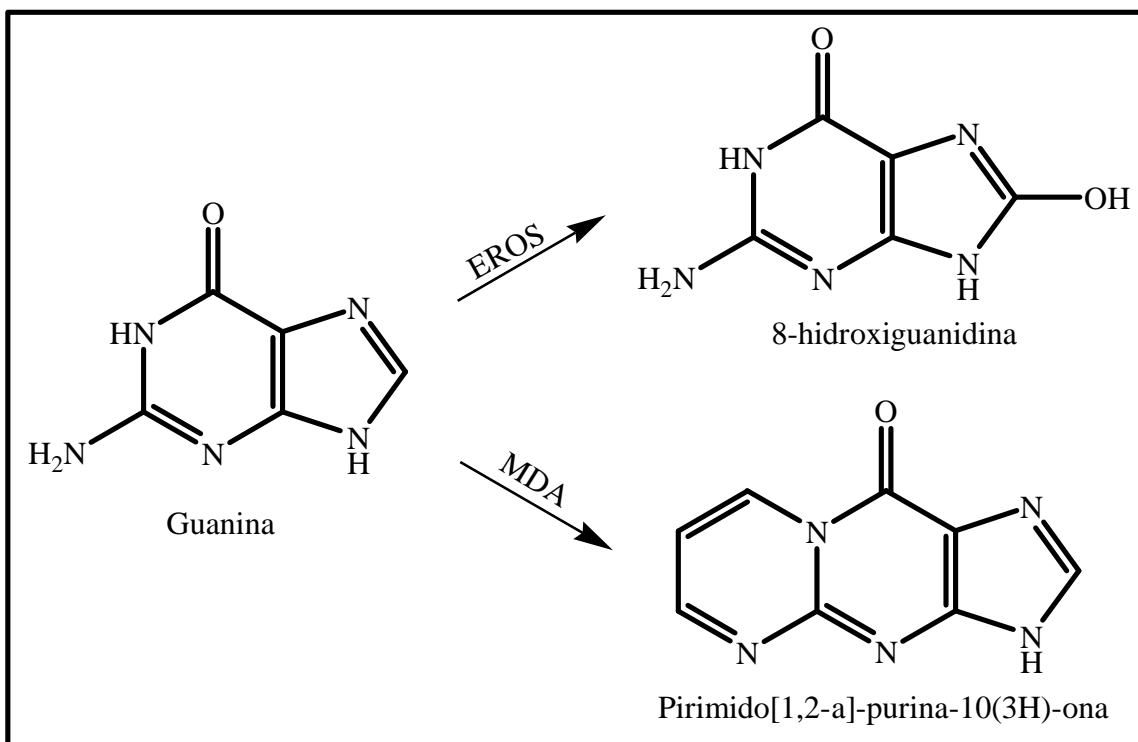


Figura 28. Oxidação da base nitrogenada do DNA por EROS (MØLLER, JENSEN, HANSSON, 2007; Com adaptações).

O ataque das EROS sobre a pentose do DNA pode ser realizado por abstração de um dos átomos de hidrogênio conforme demonstrado na Figura 29.

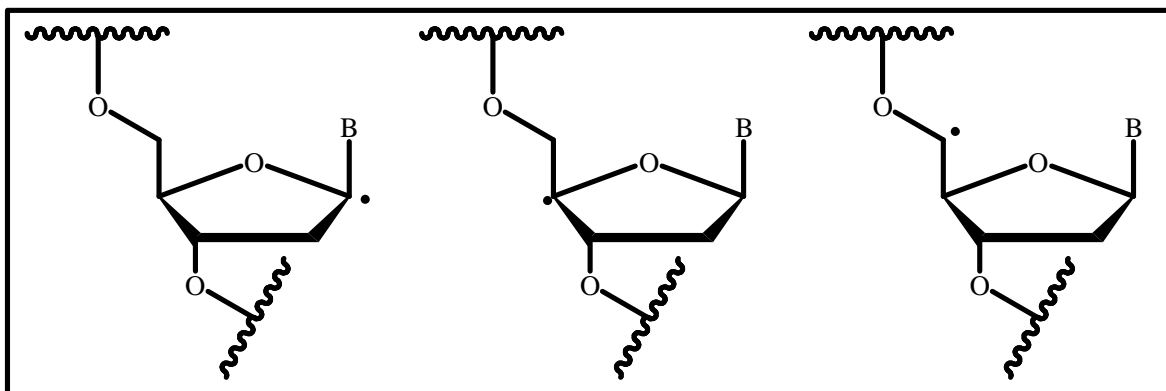


Figura 29. Oxidação da pentose do DNA por EROS (BARREIROS, DAVID, 2006; Com adaptações)

O dano oxidativo é capaz de provocar alteração estrutural e funcional do DNA com conseqüente processo de mutagênese, carcinogênese, teratogênese, aberrações cromossômicas, distúrbios do ciclo celular e da divisão celular, fragmentação e presença de micronúcleos, apoptose entre outros distúrbios, muito embora a célula apresenta mecanismos de reparo, tais como, a reversão direta do dano, recolocação da base ou do nucleotídeo (GERBER et al., 2001).

Dentre os agentes capazes de provocar dano oxidativo ao DNA, via geração de EROS, encontram-se os metais, conforme evidenciado nos trabalhos da literatura aqui anteriormente descritos. Em nossos estudos foi observado expressivo efeito genotóxico em *Allium cepa* L. exposta à água de drenagem contendo ferro, alumínio e manganês, sendo que após a remoção dos mesmos pela remediação com o adsorvente, houve significativa redução deste efeito (Figura 27). Portanto, pode-se sugerir que o dano oxidativo ao DNA estaria associado à presença destes metais em solução.

Em relação à concentração de proteínas carboniladas em *Allium cepa* L. (Tabela 13), observa-se que exposição à drenagem não remediada provocou significativa elevação da carbonilação de proteínas, cujos valores estiveram 190% maiores, quando comparados ao grupo controle. Após a remediação com o adsorvente, o dano oxidativo se mostrou significativamente diminuído (45%) quando comparado ao grupo exposto à drenagem não remediada, muito embora os valores se mantivessem ainda acima do controle negativo.

Estudos de avaliação de dano oxidativo a proteínas em *Allium cepa* L. e em outras plantas frente à exposição a metais tem sido relatado na literatura. Achary e colaboradores (2008) avaliaram a oxidação a proteínas em *Allium cepa* L., quando expostas a alumínio nas concentrações de 0, 1, 10, 50, 100 e 200  $\mu\text{M}$ , sendo os resultados estimados em termos de grupo carbonil. Foi constatado que a exposição à 200  $\mu\text{M}$  de alumínio provocou aumento significativo do conteúdo de carbonil em aproximadamente 30%, quando comparado ao grupo negativo não exposto, sendo sugerido que o dano estaria associado à geração de EROS no meio intra ou extracelular em razão da exposição ao metal.

Em estudos realizados por Pena e colaboradores (2008), planta *Helianthus annuus* L. foi exposta a 100  $\mu\text{M}$  de diferentes soluções de metais ( $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{CrCl}_3$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{PbCl}_2$  e  $\text{ZnCl}_2$ ), sendo avaliado a oxidação de proteínas. Observou-se que houve significativo aumento do conteúdo de grupo carbonil para Co, Cu, Hg e Ni (46%, 162%,

128% e 53%, respectivamente), quando comparado ao grupo controle, sendo o dano atribuído às condições de estresse da planta decorrente da exposição aos metais.

Em trabalho descrito por Sandalio e colaboradores (2001), foi avaliado a oxidação de proteínas em planta *Pisum sativum* L. Lincoln exposta a cádmio nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40 e 50  $\mu\text{M}$ . Constatou-se que houve expressivo aumento do conteúdo de grupo carbonil em aproximadamente 3 vezes no tratamento com 40 e 50  $\mu\text{M}$  de cádmio quando comparado ao controle não tratado. O dano oxidativo às proteínas foi atribuído ao acúmulo do metal na planta, o qual estaria envolvido na geração de EROS e no comprometimento das defesas antioxidantes.

A oxidação de proteínas constitui num dos principais danos biológicos decorrentes do estresse, podendo a mesma ser induzida diretamente pelas EROS ou indiretamente pela reação com produtos oxidativos secundário. O dano oxidativo à proteína pode ser provocado por diferentes mecanismos, o que resulta em uma variedade de modificações covalentes que incluem a formação de pontes dissulfeto, aductos de glicooxidação, nitração e carbonilação em sítios específicos de resíduos de aminoácidos (MØLLER, JENSEN, HANSSON, 2007).

O sistema de oxidação catalisadas por metais (MCO: *metal-catalyzed oxidation systems*) constitui em um dos principais mecanismos propostos na elucidação da oxidação de proteínas. Neste sistema, o oxigênio molecular é reduzido a peróxido de hidrogênio, com concomitante redução do Fe (III) a Fe (II), o qual pode ligar-se a sítios de ligação de metais presentes em proteínas, com conseqüente formação de complexo Fe-proteína. Por sua vez, o complexo Fe-proteína sofre reação com peróxido de hidrogênio formado, gerando *in situ* espécies reativas (ex:  $\text{HO}^\bullet$ ,  $\text{HO}^-$ , íon ferril). Estas espécies podem reagir com resíduos de aminoácidos da proteína, provocando modificações em sua estrutura, com conseqüente formação de derivados carbonílicos (STADTMAN, OLIVER, 1991).

A carbonilação é o dano oxidativo mais comum em proteínas, sendo que aminoácidos como arginina, prolina, lisina e triptofano são os principais alvos das EROS para produção de grupo carbonil, conforme demonstrado na Figura 30.

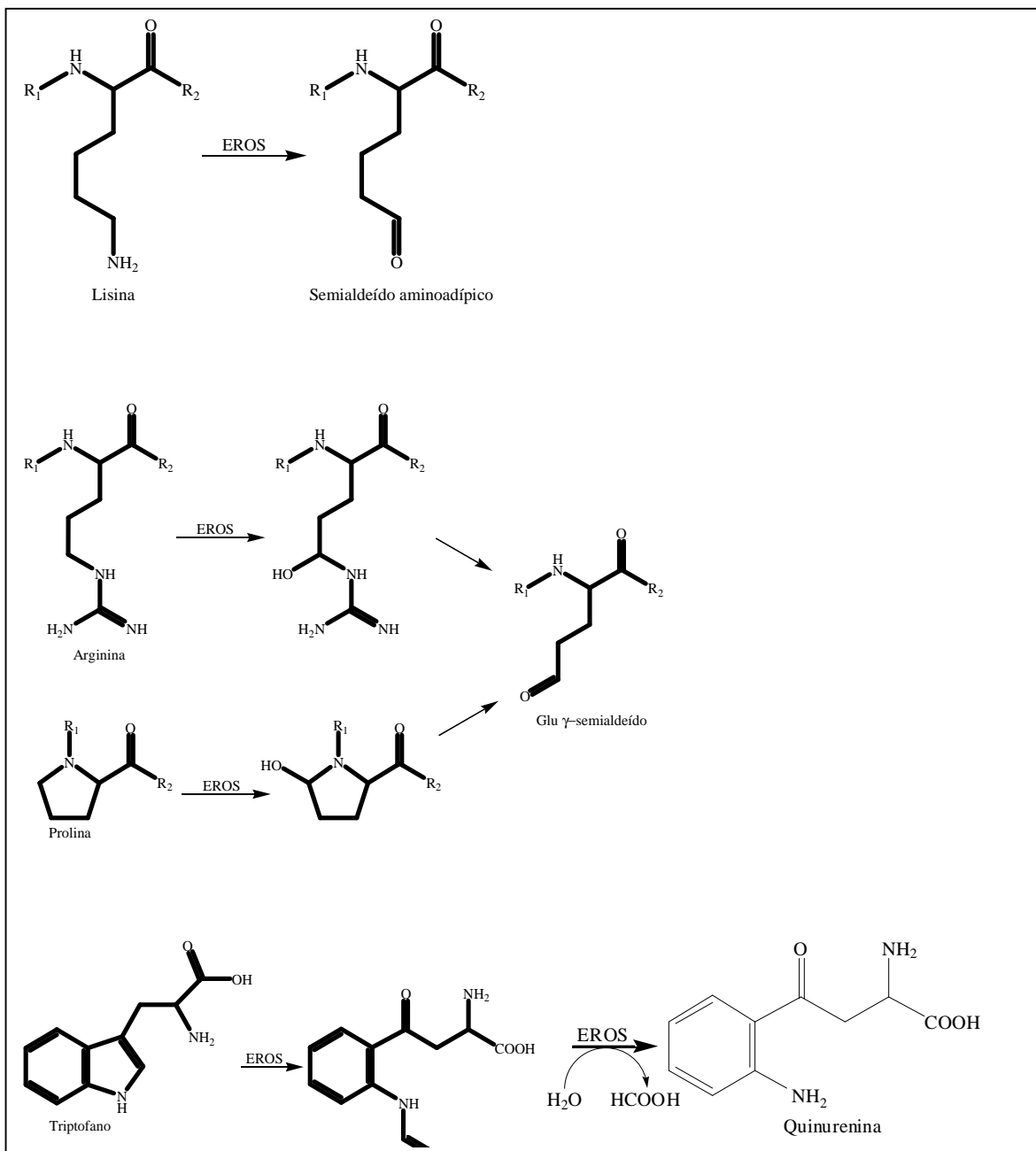


Figura 30. Carbonilação de aminoácidos por EROS (MØLLER, JENSEN, HANSSON, 2007; Com adaptações).

Dentre os fatores que podem estar envolvidos no aumento da carbonilação, encontram-se o declínio dos sistemas de defesas antioxidantes, o aumento de produção de EROS, a diminuição da capacidade de remoção das proteínas oxidadas e o aumento da susceptibilidade das proteínas ao ataque oxidativo. O dano oxidativo pode provocar

alterações estruturais e funcionais das proteínas afetadas. O ataque aos aminoácidos que compõem as proteínas pode, por exemplo, provocar clivagens de ligações, com ou sem geração de fragmentos, e/ou ligações cruzadas, com conseqüente desnaturação e perda de atividade enzimática, dificuldades no transporte ativo através das membranas celulares, citólise e morte celular (JOHANSSON, OLSSON, NYSTRÖM, 2004; NGUYEN, DONALDSON, 2005).

Em nossos estudos, observou-se um aumento significativo de proteína carbonilada em *Allium cepa* L. promovida pela exposição à drenagem ácida contendo metais, incluindo-se o ferro. Conforme já descrito, o ferro é capaz de participar do processo de carbonilação de proteínas via sistema de oxidação catalisadas por metais (MCO) e, portanto, pode-se sugerir que o dano oxidativo observado, poderia estar associado à presença deste metal na drenagem. Muito embora a remediação com o rejeito promoveu a remoção do metal em solução e diminuição do dano, os valores de proteína carbonilada ainda se mantiveram acima do grupo controle negativo. Sugere-se que outros mecanismos poderiam estar associados à oxidação ou que não houve uma remoção completa de outros metais na drenagem, sendo necessários estudos complementares para sua melhor elucidação.

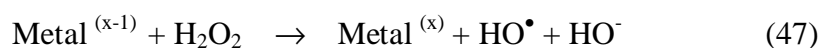
Em relação aos resultados da atividade da catalase em *Allium cepa* L. (Tabela 13), pode-se constatar que a exposição à drenagem não remediada provocou significativa indução da atividade enzimática, cujos valores se encontraram 47,2% acima do grupo controle. Após a remediação da drenagem com o rejeito o adsorvente, houve significativa diminuição da atividade da enzima, apresentando valores próximos ao do grupo controle negativo.

A atividade da catalase em *Allium cepa* L. e em outras plantas em decorrência da exposição a compostos químicos potencialmente tóxicos tem sido relatado na literatura. Em trabalho realizado por Fatima e Ahamad (2005), foi avaliada a indução da atividade da catalase em *Allium cepa* L. quando exposta a metais como Cd, Cr, Cu, Hg, Pb e Zn em concentrações de 1 a 10.000  $\mu$ M. Foi observada indução significativa da atividade enzimática em até aproximadamente 4 vezes frente à exposição à 10  $\mu$ M dos metais Hg, Pb e Cr, sendo este perfil atribuído ao aumento da produção de peróxido de hidrogênio, cuja enzima está envolvida na sua detoxificação.

Subhadra e colaboradores (1991) avaliaram o efeito sobre a atividade da catalase em *Allium cepa* L. expostas a diferentes concentrações de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ : 0,0007 a 2,95  $\text{mg L}^{-1}$ ;  $\text{MeHgCl}_2$ : 0,00007 a 0,07  $\text{mg L}^{-1}$ ). Os resultados obtidos permitiram demonstrar que houve significativa indução da atividade da enzima em até 176,7% no tratamento com  $\text{HgCl}_2$  nas concentrações de 0,001 a 1  $\text{mg L}^{-1}$  e de até 146,2% no tratamento com  $\text{MeHgCl}_2$  nas concentrações de 0,001 a 0,01  $\text{mg L}^{-1}$ , quando comparados ao grupo controle não tratado. Foi sugerido que a indução enzimática seria um mecanismo de defesa da planta em virtude do efeito fitotóxico apresentado pelo metal.

O efeito sobre a atividade da catalase foi avaliado nas plantas *Andropogon virginicus* L. e *Miscanthus sinensis* Anders expostas à 900  $\mu\text{M}$  alumínio. Constatou-se que houve uma indução significativa na atividade da enzima em até 2,5 vezes nos grupos expostos, quando comparado ao grupo controle não exposto, possivelmente em resposta ao aumento da concentração de peróxido de hidrogênio também observado frente à exposição ao metal (EZAKI et al., 2008).

Sabe-se que a catalase é uma enzima de defesa antioxidante, estando envolvida na dismutação do peróxido de hidrogênio em oxigênio e água. Sua ação é de extrema importância, uma vez que o peróxido de hidrogênio, comumente formado em reações biológicas e difundível pela célula, é capaz de reagir com metais de transição como  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ , com conseqüente produção de radical hidroxil (Equação 47), o qual pode provocar danos oxidativos em estruturas celulares.



Em nossos resultados, foi observado que a drenagem não remediada provocou significativa indução da atividade da catalase. Pode-se sugerir que esta indução seria um mecanismo de defesa frente à exposição a metais presentes no meio. Desta forma, menos peróxido de hidrogênio estaria disponível para a formação de radical hidroxil em presença de metais, o que protegeria a célula do dano oxidativo. Isto pode ser evidenciado pelos resultados obtidos após a remediação da drenagem com o adsorvente, uma vez que, com a



remoção dos metais, a atividade da enzima se manteve semelhante ao grupo controle negativo.

Em relação à concentração de GSH em *Allium cepa* L (Tabela 13), pode-se constatar que não houve diferença significativa entre os diferentes grupos avaliados.

Diferente perfil tem sido descrito na literatura, onde foi observada diminuição significativa da concentração de GSH em aproximadamente 7,5 vezes em *Allium cepa* L exposta à solução contendo os metais Cd, Cr, Cu, Hg, Pb e Zn e a efluentes industriais contendo os mesmos, quando comparado ao controle negativo. Foi sugerido que a depleção poderia estar associada ao aumento do *status* prooxidante da célula promovida pelos metais, ao aumento da síntese de fitoquelatinas ou à regeneração do ascorbato reduzido via ciclo GSH-ascorbato, eventos estes que promoveriam o consumo de GSH (FÁTIMA, AHAMAD, 2005).

A GSH constitui em uma linha de defesa antioxidante não-enzimática, atuando na dismutação do peróxido de hidrogênio, bem como, no seqüestro de agentes oxidantes e na quelatção de metais, conferindo proteção frente ao dano oxidativo causados pelas EROS. Neste contexto, tem-se comumente associado a sua depleção como consequência do estresse oxidativo a que o organismo está exposto (BARREIROS, DAVID, 2006; B. DONG et al, 2002).

Em nossos estudos, entretanto, não foi observada alteração do conteúdo de GSH em *Allium cepa* L. exposta à drenagem ácida, muito embora tenha sido constatado dano oxidativo em lipídeos, proteínas e DNA. Sabe-se que, além da GSH, a planta apresenta outras linhas de defesa antioxidantes não enzimáticas. Dentre os mesmos, podendo-se citar o ascorbato, o qual é capaz de atuar como agente redutor na conversão do peróxido de hidrogênio em água, além de promover seqüestro de EROS. Tocoferóis também se apresentam como antioxidantes principalmente na inibição da peroxidação lipídica, atuando como doadores de H para o radical peroxil, interrompendo a reação radicalar em cadeia. Os carotenóides constituem-se em outra linha de defesa antioxidante não enzimática, podendo agir como seqüestradores dos radicais peroxila, reduzindo a oxidação do DNA e lipídios. Compostos fenólicos também podem atuar como antioxidantes não enzimáticos através do seqüestro de peróxido de hidrogênio, diminuindo sua difusão pela célula (BLOKHINA, 2003; APEL, HIRT, 2004; BARREIROS, DAVI, DAVI, 2006)

Desta forma, pode-se sugerir que ação destes antioxidantes frente ao estresse promovido pela exposição à drenagem poderia poupar o consumo de GSH, evitando a sua depleção. Entretanto, faz-se necessários estudos complementares para melhor elucidar os resultados obtidos na avaliação da concentração de GSH em *Allium cepa* L., podendo-se sugerir a determinação do conteúdo de ascorbato, carotenóides e compostos fenólicos.

Portanto, os resultados obtidos permitem sugerir que a drenagem ácida de mina foi capaz de promover toxicidade sobre os organismos bioindicadores *Daphnia magna*, *Artemia* sp e *Allium cepa* L., o que poderia estar associado a sua acidez e à presença de metais como ferro, alumínio e manganês, conforme observados na avaliação físico-química. Pode-se constatar que a remediação da drenagem utilizando-se rejeito de mineração calcinado como adsorvente se mostrou efetiva na redução da acidez e remoção de metais, bem como, na remoção da toxicidade sobre os organismos bioindicadores avaliados, sugerindo a sua utilização como alternativa para o tratamento destas fontes de contaminação ambiental.

## 6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A partir dos resultados obtidos, pode-se chegar as seguintes conclusões:

- . A análise termogravimétrica (TGA) do rejeito de mineração de carvão indicou que a temperatura de 800°C seria suficiente para a eliminação de matéria orgânica e sulfetos observados na análise elementar (CHNS), com conseqüente obtenção dos óxidos majoritários;
- . A caracterização do rejeito não calcinado revelou que o mesmo apresenta uma baixa porosidade, predominância de mesoporos e presença majoritária dos óxidos SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>;
- . As drenagens ácidas de mina não remediadas apresentaram expressiva acidez e concentração majoritária dos íons metálicos Al (III), Fe (III) e Mn (II), cujos valores estiveram superiores aos previstos pela Resolução n° 357 do CONAMA;
- . A remediação da drenagem em processo estático utilizando-se o rejeito calcinado como adsorvente se mostrou mais efetiva, uma vez que foi capaz de provocar a redução da acidez e promover expressiva remoção dos íons de metais presentes em solução, possivelmente em função da presença de óxidos de metais na superfície do adsorvente, os quais apresentam propriedades de adsorção de espécies iônicas;
- . Nos estudos de adsorção dos íons H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, Mn (II), Zn (II) e Fe (III) utilizando-se o adsorvente, constatou-se que o modelo da equação de pseudo segunda-ordem foi o que melhor correlacionou os dados cinéticos experimentais para todos os sistemas estudados, indicando que a quimissorção seria a etapa determinante do mecanismo de adsorção e não uma transferência de massa em solução, evidenciando que a velocidade de adsorção é dependente das quantidades do íon na superfície do adsorvente e adsorvido no equilíbrio;

. Nos estudos de equilíbrio de adsorção dos íons  $\text{H}_3\text{O}^+$ , Mn (II), Zn (II) e Fe (III) pelo adsorvente, constatou-se que a isoterma que melhor correlacionou os dados experimentais foi o modelo de Langmuir. A isoterma de adsorção de Cu (II) mostrou uma relação linear, onde a quantidade de metal adsorvida na fase sólida aumentou com a concentração deste na fase aquosa;

. Comparando-se a capacidade de remoção dos íons de metais da drenagem ácida com as soluções sintéticas, observa-se que a eficiência de remoção é ocasionada prevalentemente pela precipitação dos metais com elevação do pH da solução. Este perfil sugere que o rejeito calcinado utilizado como adsorvente tem pouca afinidade pelos metais em solução e, como consequência, apresenta baixa capacidade de adsorção dos mesmos;

. A drenagem não remediada apresentou expressiva toxicidade aguda para *Daphnia magna* e *Artemia* sp e subaguda para *Allium cepa* L., sendo que a remediação com o adsorvente promoveu a remoção da toxicidade sobre estes organismos bioindicadores;

. A drenagem não remediada provocou elevação significativa da liperoxidação, da fragmentação do DNA, da carbonilação de proteínas e da atividade da catalase em *Allium cepa* L., sendo que a remediação com o adsorvente foi capaz de prevenir estes danos oxidativos;

. Os resultados obtidos sobre os organismos bioindicadores permitem sugerir que a toxicidade da drenagem poderia estar associada a sua acidez e à presença de metais majoritários Al (III), Fe (III) e Mn (II).

. A partir dos resultados, pode-se constatar que a remediação da drenagem utilizando-se rejeito de mineração calcinado como adsorvente se mostrou efetiva na redução da acidez e remoção de metais, bem como, na remoção da toxicidade sobre os organismos bioindicadores avaliados, sugerindo a sua utilização como alternativa para o tratamento destas fontes de contaminação ambiental.

Como perspectivas para complementação dos estudos, pode-se propor:

- . Realização de modificações no material adsorvente de forma a promover uma melhor capacidade de adsorção dos íons de metais em solução;
- . Estudos de adsorção de outros metais pelo adsorvente;
- . Ensaio de dessorção dos íons metálicos para possibilitar o reuso do adsorvente;
- . Estudos de seletividade para íons metálicos específicos e de interesse ambiental;
- . Utilização de outros biomarcadores de estresse oxidativo para melhor elucidar os danos oxidativos promovidos pela exposição à drenagem, bem como, os mecanismos de defesa antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos em *Allium cepa* L.
- . Avaliação do conteúdo de ácido ascórbico e monodeidroascorbato nas amostras

## REFERÊNCIAS

ACHARY, V.M.; JENA, S.; PANDA, K.K.; PANDA, B.B. Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa* L. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 70, p. 300-10, 2008.

AEBI, H. Catalase in vitro. **Meth. Enzymol.** v. 105, p.121-126, 1984.

ALSCHER, R.G.; ERTURK, N.; HEATH, L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **J. Exp. Bot.** v. 53, p.2-5, 2002.

APEL, KLAUS; HIRT, HERIBERT. Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. **Annu. Rev. Plant Biol.** v. 55, p. 373–99, 2004.

ARUN, K.S.; CARLOS, C.; HERMINIA, L.; AVUDAINAYAGAM, S. Chromium toxicity in plants. **Environ. Int.** v. 31, p.739-753, 2005.

ASCHNER, M; ERIKSON, K.M.; DORMAN, D.C. Manganese dosimetry: species differences and implications for neurotoxicity. **Crit. Rev. Toxicol.** v. 35, p.1-32, 2005.

AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A.M. **Metais: gerenciamento da toxicidade.** São Paulo: Atheneu, 2002, 554 p.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova.** v. 29, p.113-123, 2006.

BENASSI, J.C. **O uso de bioindicadores e biomarcadores na avaliação do processo de remediação de efluente de lixiviação de carvão mineral, utilizando microesfera de quitosana.** Dissertação de Mestrado em Biotecnologia da Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

BEUTLER, E.; DURAN, O.; KELLY, B. M. Improved method for the determination of blood glutathione. **J. Lab. Clin. Med.** v. 61, p. 882-890, 1963.

BIRD, R.P.; DRAPER, A.H. Comparative studies on different methods of malondyaldehyde determination. **Meth. Enzymol.** v. 90, p. 105-110, 1984.

BITAR, O.Y. **Avaliação da recuperação de áreas degradadas por mineração na região metropolitana de São Paulo.** Tese de Doutorado em Engenharia Mineral. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1997, 184 p.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Ann. Bot.** v. 91, p. 1-4, 2002.

BROFFT, J.E.; MCARTHUR, J.V.; SHIMKETS, L.J. Recovery of novel bacterial diversity from a forested wetland impacted by reject coal. **Environ. Microbiol.** v. 4, p. 764-9, 2002.

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

CAMPOS, M.L.; ALMEIDA, J.A.; SOUZA, L.S. Avaliação de três áreas de solo construído após mineração de carvão a céu aberto em Lauro Müller, Santa Catarina. **Rev. Bras. Ciênc. Solo.** v. 27, p.1-6, 2003.

CAVALCANTE, M.F.; OLIVEIRA, M.C.C.; VELANDIA, J.R.; ECHEVARRIA, A. **Síntese de 1,3,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente à artemia salina leach.** Relatório parcial. Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1999.

CHAKRABORTY, R.; MUKHERJEE, A.; MUKHERJEE, A. Evaluation of genotoxicity of coal fly ash in *Allium cepa* root cells by combining comet assay with the *Allium* test. **Environ. Monit. Assess.** *In press*, 2008

CHANDRA, S.; CHAUHANA, L.K.S.; MURTHYB, R.C.; SAXENAA, P.N.; PANDEC, P.N; GUPTA, S.K. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. **Sci. Total Environ.** v. 347, p. 46–52, 2005.

CLEMENS, S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. **Biochimie.** v. 88, p.1707-19, 2006.

CONAMA. Resolução N° 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação de corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil.** Disponível em <http://www.fatma.sc.gov.br>. Acessado em 25 nov. 2005.

CONNOLLY, E.L; GUERINOT, M.L. Iron stress in plants. **Genome Biol.** v. 3, p.1024.1–1024.4, 2002

DALHOFF, K.; BUUS, J.K.; ENGHUSEN, P.H. Cancer and molecular biomarkers of phase 2. **Meth. Enzymol.** v. 400, p. 618-27, 2005.

DIAS, L.E; MELLO, J.W.V. **Recuperação de áreas degradadas.** Viçosa: Editora Folha de Viçosa, 1998, 257 p.

DIXIT, V.; PANDEY, V.; SHYAM, R. Differential antioxidative response to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). **J. Exp. Bot.** v. 52, p.1101-1109, 2001.

DOVGALIUK, A.L.; KALINIYAK, T.B.; BLIUM, I.A.B.; Cytogenetic effects of toxic metal salts on apical meristem cells of *Allium cepa* L. seed roots. **Tsitol. Genet.** v. 35, p.3-10, 2001.



DOYE, I.; DUCHESNE, J. Neutralization of acid mine drainage with alkaline industrial residues: laboratory investigation using batch-leaching tests. **Appl. Geochem.** v. 18, p. 1197-1213, 2003.

DZONBAK, D.A.; MOREL, F.M.M. **Surface Complexation Modeling: Hydrous Ferric Oxide.** New York: Wiley-Interscience, 1990.

EZAKI, B.; NAGAO, E.; YAMAMOTO, Y.; NAKASHIMA, S.; ENOMOTO, T. Wild plants, *Andropogon virginicus* L. and *Miscanthus sinensis* Anders, are tolerant to multiple stresses including aluminum, heavy metals and oxidative stresses. **Plant Cell Rep.** v. 27, p. 951–961, 2008.

EZAKI, B.; SUZUKI, M.; MOTODA, H.; KAWAMURA, M.; NAKASHIMA, S.; MATSUMOTO, H. Mechanism of gene expression of Arabidopsis glutathione-S-transferase, At GST1 and AtGST11 in response to aluminum stress. **Plant Physiol.** v. 134, p.1672–1682, 2004.

FATIMA, R.A.; AHMAD, M. Certain antioxidant enzymes of *Allium cepa* as biomarkers for the detection of toxic heavy metals in wastewater. **Sci. Total Environ.** v. 346, p. 256-273, 2005.

FATIMA, R.A.; AHMAD, M. *Allium cepa* EROD as a potential biomarker for the presence of certain pesticides in water. **Chemosphere.** v. 62, p. 527-537, 2006.

FATMA. Portaria Nº17 de 18 de abril de 2002 da Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina - FATMA. Estabelece os Limites Máximos de Toxicidade Aguda para efluentes de diferentes origens e dá outras providências. Disponível em <http://www.fatma.sc.gov.br/default/default.asp>. Acessado em 20 jun 2006.

FÁVERE, V.T; LAUS, R.; LARANJEIRA, M.C.M; MARTINS, A.O.; PEDROSA, R.C. Use of chitosan microspheres as remedial material for acidity and iron (III) contents of coal mining wastewaters. **Environ. Technol.** v. 25, p. 861-66, 2004.

FISKESJÖ, G. The allium test in wastewater monitoring. **Environ. Toxicol. Water Qual.** v. 8, p. 3291 – 298, 2006.

FISKESJO, G. The Allium test. An alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal íons. **Mutat. Res.** v. 197, p. 243-60, 1988.

FRITZEN, M.B. **Adsorção de Cr (VI) na interface água-minerais sedimentários. Efeito das condições de reação e modelo de adsorção.** Dissertação de Mestrado em Química da Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

GASEA, B.; ADAM, K.; KONTOPOULOS, A. A review of passive systems for the treatment of acid mine drainage. **Miner. Eng.** v. 9, p. 23-42, 1996.

GERBER, G.B.; LÉONARD, A.; HANTSON, P. Carcinogenicity, mutagenicity and teratogenicity of manganese compounds. **Crit. Rev. Oncol. Hematol.** v. 42, p. 25–34, 2002.

GEREMIAS, R.; PEDROSA, R.C.; BENASSI, J.C.; FÁVERE, V.T.; STOLBERG, J.; MENEZES, C.T.B.; LARANJEIRA, M.C. Remediation of coal mining wastewaters using chitosan microspheres. **Environ. Technol.** v. 24, p. 1509-15, 2003.

GEREMIAS, R.; MACAN, J.M.; TEIXEIRA, G.A.; PICH, C.T.; AVILA-JÚNIOR, S.; SCHOENFELDER, T.; MENEZES, C. T. B.; GRINEVICIUS, V.M.A.S.; LARANJEIRA, M. M. C.; FAVERE, V. T. **Utilização de *Allium cepa* L para o monitoramento da remediação de efluente de mineração de carvão**, In: Setac: “Química Y Toxicología Ambiental En América Latina”, 2008.

GERHARDT, A.; DE BISTHOVEN, L.J.; SOARES, A.M. Evidence for the Stepwise Stress Model: *Gambusia holbrooki* and *Daphnia magna* under acid mine drainage and acidified reference water stress. **Environ. Sci. Technol.** v. 39, p. 4150-8, 2005.

GLI SKA, S.; BARTCZAK, M.; OLEKSIK, S.; WOLSKA, A.; GABARA, B.; POSMYK, M.; JANAS, K. Effects of anthocyanin-rich extract from red cabbage leaves on meristematic cells of *Allium cepa* L. roots treated with heavy metals. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 68, p. 343-50, 2007.

GUPTA, S.S.; BHATTACHARYYA, K.G. Adsorption of Ni (II) on clays. **J. Colloid Interface Sci.** v. 295, p.21-32, 2005.

HADJISPYROU, S.; KUNGOLOS, A.; ANAGNOSTOPOULON, A.; Toxicity, bioaccumulation, and chromium on *artemia franciscana*. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 49, p. 179-86, 2001.

HALLIWELL B.;GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals in Biology and Medicine.** 2 ed. Oxford: Clarendon Press, 1999, 936 p.

HO, Y.S.; MCKAY, G.M. Pseudo-second order model for sorption process. **Process Biochem.** v. 34, p. 451-465, 1999.

JOHANSSON, E.; OLSSON, O.; NYSTRÖM, T. Progression and specificity of protein oxidation in the life cycle of *Arabidopsis thaliana*. **J. Biol. Chem.** v. 279, p. 22204-8, 2004.

KELLER, J; OWENS, C.T; LAI, J.C.; DEVAUD, L.L. The effects of 17 beta-estradiol and ethanol on zinc- or manganese-induced toxicity in SK-N-SH cells. **Neurochem. Int.** v. 46, p. 293-303, 2005.

LEDISLAV, T.; JANA, H.; IGOR, M.; MARTA, S.; BEATA, S. Aluminum-induced drought and oxidative stress in barley roots. **J. Plant Physiol.** v.163, p. 781-784, 2006.

LEI, Y.; KORPELAINEN, H.; CHUNYANG, L. Physiological and biochemical responses to high Mn concentrations In two contrasting *Populus cathayana* populations. **Chemosphere**. v. 68, p. 686-94, 2007.

MADEJÓN, P.; MARAÑÓN, T.M ; MURILLO, J. Biomonitoring of trace elements in the leaves and fruits of wild olive and holm oak trees. **Sci. Total Environ**. v. 15, p. 1-203, 2006.

MANIOS, T.; STENTIFORD, E.I.; MILLNER, P. Removal of heavy metals from a metaliferous water solution by *Typha latifolia* plants and sewage sludge compost. **Chemosphere**. v. 53, p. 487-94, 2003.

MARTI, F.B. **Química Analítica Cualitativa**. 16 ed. Madri: Paraninfo, 1998, 1050 p.

MCKAY, G. **Use of adsorbents for removal of pollutants from wastewater**. Florida: CRC Press, 1996, 186 p.

MEAGHER, E. A.; FITZGERALD, G. A. indices of lipid peroxidation in vivo: Strengths and limitations. **Free Radic. Biol. Med**. v. 26, p. 202-226, 2000.

MERIGA, B.; REDDY, B. K.; R., K. RAJENDER; REDDY, L.A.; KISHO, P.B.K. Aluminium-induced production of oxygen radicals, lipid peroxidation and DNA damage in seedlings of rice (*Oryza sativa*). **J. Plant Physiol**. v. 161, p. 63-68, 2004.

MØLLER, I.M.; JENSEN, P.E.; HANSSON, A. Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants. **Annu. Rev. Plant Biol**. v. 58, p. 459-481, 2007.

NAKANO Y; ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific preoxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiol**. v. 22, p. 860-7, 1981.

NG, J.C.Y.; CHENG, W.H.; MCKAY, G. Equilibrium studies for the sorption of lead from effluents using chitosan. **Chemosphere**. v. 52, p. 1021-1030, 2003.

NGUYEN, A.T.; DONALDSON, R.P. Metal-catalyzed oxidation induces carbonylation of peroxisomal proteins and loss of enzymatic activities. **Arch. Biochem. Biophys.** v. 439, p. 25-31, 2005.

OKEY A.B. Enzyme induction in the cytochrome P-450 system. **Pharmacol. Ther.** v. 45, p. 241-98, 1990.

PASCOAL, V.C.P. Bauxita refratárias: composição química, fases e propriedades. Parte I. **Cerâmica**. v. 46, p.76-82, 2000.

PATRICIA, R.S.B.; MARCELO, M.; RENATO A.J. Aluminum induced oxidative stress in maize. **Phytochemistry**. v. 62, p. 181-189, 2003.

PENA, L.B.; ZAWOZNIK, M.S.; TOMARO, M.L.; GALLEGO, S.M. Heavy metals effects on proteolytic system in sunflower leaves. **Chemosphere**. v. 72, p. 741-746, 2008.

PENG, J.; JONES, G. L.; WATSON, K. Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: effects of antioxidant supplements. **Free Radic. Biol. Med.** v. 28, p. 1598-1606, 2000.

RAND, G.M. **Fundamentals of Aquatic Toxicology Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment**. 2ed. Washington: Taylor & Francis, 1995, 1125 p.

RAO, S.V.R. Effect of metal chelation on the toxicity of some environmentally hazardous trace metals to daphnia magna. **Inter. J. Environmental Studies**. v. 26, p. 87-90, 1985.

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

RIDGE, T.; SEIF, J.M. **Coal mine drainage prediction and pollution prevention in Pennsylvania**. Pennsylvania: Pennsylvania Department of Environmental Protection, 1998, 398 p.

SANDALIO, L.M.; DALURZO, H.C.; GÓMEZ, M.; ROMERO-PUERTAS, M.C.; DEL RIO, L.A. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. **J. Exp. Bot.** v. 52, p. 2115-26, 2001.

SASOWSKY, I.D.; FOOS, A.; MILLER, C.M. Lithic controls on the removal of iron and remediation of acidic mine drainage. **Water Res.** v. 34, p. 2742-2746, 2000.

SAURABH, C.; CHAUHANA, L.K.S.; MURTHYB, R.C.; SAXENAA, P.N.; PANDEC, P.N.; GUPTAA, S.K. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using Allium test. **Sci. Total Environ.** v. 347, p. 46-52, 2005.

SIECESC - SINDICATO DAS INDÚSTRIAS DA EXTRAÇÃO DE CARVÃO DO ESTADO DE SC. **Carvão mineral: Dados estatísticos ano 2002**. Disponível em: <<http://www.siecesc.com.br/estatisticas/>>. Acesso em: 26 fev 2006.

SINGH, N.P.; MCCOY, M.T.; TICE, R.R.; SCHNEIDER, E.L. A simple technique for quantitation of levels of DNA damage in individual cells. **Exp. Cell Res.** v. 175, p.184-191, 1988.

SINHÁ, S.; GUPTA, M.; CHANDRA, P. Oxidative Stress Induced by Iron in *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle: Response of Antioxidants1. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 38, p. 286-291, 1997.

SIVA, K.S.; SYED, R.Q. Metal toxicity evaluation using bioassay and micotox. **Inter. J. Environmental Studies.** v. 56, p.187-199, 1999.

SNOEYINK, V.L.; JENKINS, D. **Water Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 1980, 465 p.

SOUCEK, D.J., CHERRY, D.S., TRENT, G.C. Relative acute toxicity of acid mine drainage water column and sediments to *Daphnia magna* in the Puckett's Creek Watershed, Virginia, USA. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** v. 38, p. 305-10, 2000.

SRIVASTAVA, R.; KUMAR, D.; GUPTA, S.K. Bioremediation of municipal sludge by vermitechnology and toxicity assessment by *Allium cepa*. **Bioresour. Technol.** v. 96, p.1867-71, 2005.

STADTMAN, E.R.; LEVINE, R.L. Protein oxidation. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** v. 899, p. 191-208, 2000.

STADTMAN, E.R.; OLIVER, C.N. Metal-catalyzed Oxidation of Proteins. Physiological Consequences. **J. Biol. Chem.** v. 266, p. 2005-2008, 1991.

STREB, C.; RICHTER, P.; NTEFIDOU, M.; LEBERT, M.; HADER, D.P. ECOTOX – Biomonitoring based on real time movement analysis of unicellular organisms. **J. Gravit. Physiol.** v. 9, p. 345-6, 2002.

STUMM, W.; MORGAN, J.J. **Aquatic Chemistry**. 3 ed. New York: John Wiley & Sons, 1996.

SUBHADRA, A.V.; NANDA, A.K.; BEHERA, P.K.; PANDA, B.B. Acceleration of Catalase and Peroxidase Activities in *Lemna minor* L. and *Allium cepa* L. in Response to Low Levels of Aquatic Mercury. **Environ. Pollut.** v. 69, p.169-179, 1991.

SVENSSON, B.M.; MATHIASSEN, L.; MÅRTENSSON, L.; BERGSTRÖM, S. *Artemia salina* as test organism for assessment of acute toxicity of leachate water from landfills. **Environ. Monit. Assess.** v. 102, p. 309-21, 2005.

TAMAS, L.; HUTTOVA, J.; MISTRİK, I.; SIMONOVICOVA, M.; SIROKA, B. Aluminum-induced drought and oxidative stress in barley roots. **J. Plant Physiol.** v. 163, p. 781-784, 2006.

TAMURA, H.; FURUICHI, R. Adsorption affinity of divalent heavy metal ions for metal oxides evaluated by modeling with the Frumkin Isotherm. **J. Colloid Interface Sci.** v. 195, p. 241-9, 1997.

TEIXEIRA, E.C.; PIRES, M.J.R. **Meio Ambiente e Carvão.** Porto Alegre: FINEP/CAPES/PADCT/GTM/PUCRS/UFSC/FEPAM, 2002, 489 p.

TEIXEIRA, G.A.; GEREMIAS, R.; PICH, C.T.; SCHOENFELDER, T.; ÁVILA JUNIOR, S.; PEDROSA, R.C.; DIEDRICH, R.; MACAN, J.M.; **Avaliação da toxicidade de mineração de carvão, utilizando-se parâmetros físico-químicos e teste cometa em *Allium cepa* L.** In: XIX Reunião Anual da Federação de Sociedade de Biologia. Águas de Lindóia/SP. Caderno de Resumos, 2004.

TEIXEIRA, V.G.; COUTINHO, F.M.B.; GOMES, A.S. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Quim. Nova.** v. 24, p. 808-818, 2001.

TIWARI, K. K.; DWIVEDI S.; RAI, U. N.; PANDEY, A. K.; CHATTERJEE, C.; SINGH, N. K.; TRIPATHI, R. D. Phytotoxic Effect of Coal Mine Effluent on Growth Behavior, Metabolic Changes, and Metal Accumulation in Rice Plants (*Oryza sativa* L.) *c.f.* IR-36. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** v. 77, p. 194–202, 2006.

TOMASEVI, M.; VUKMIROVI, Z.; RAJSI, S.; TASI, M.; STEVANOVI, B. Contribution to biomonitoring of some trace metals by deciduous tree leaves in urban areas. **Environ. Monit. Assess.** v.137, p. 393-401, 2008.



TURNER, A.; RAWLING, M.C. Sorption of benzo(a)pyrene to sediment contaminated by acid mine drainage: contrasting particle concentration-dependencies in river water and seawater. **Water Res.** v. 36, p. 2011-9, 2002.

VAN RENSBURG, L.; MORGENTHAL, T.L. Evaluation of water treatment sludge for ameliorating acid mine waste. **J Environ Qual.** v. 32, p. 1658-68, 2003.

WINSTON, G. W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals. **Comp. Biochem. Physiol.** v. 100, p. 173-176, 1991.

WU, C.H.; LIN, C.F.; CHEN, W.R. Regeneration and reuse of water treatment plant sludge: adsorbent for cations. **J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst.** v. 39, p.717-28, 2004.

WU, F.; TSENG, R.; JUANG, R. Kinetic modeling of liquid-phase adsorption of reactive dyes and metal ions on chitosan. **Water Res.** v. 35, p. 613-618, 2001.

YIM, J.H.; KIM, K.W.; KIM, S.D. Effect of hardness on acute toxicity of metal mixtures using *Daphnia magna*. Prediction of acid mine drainage toxicity. **J. Hazard. Mater.** v. 138, p. 16-21, 2006.