

Série Tecnologia Mineral

Inovações tecnológicas para
o tratamento dos rejeitos de
carvão visando a recuperação
de áreas degradadas

Zuleica Carmen Castilhos
Ricardo Gonçalves Cesar
Silvia Gonçalves Egler
Renata Alamino
Danielly de Paiva Magalhães
Bruna Alves Pinheiro
Rafael Oliveira Dantas
Mariana Vezone Tosta Rabela
Aline Freire Serrano
Claudio Luiz Schneider



SÉRIE TECNOLOGIA MINERAL

Inovações tecnológicas para o tratamento dos rejeitos de carvão visando a recuperação de áreas degradadas

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA

Jair Messias Bolsonaro

Presidente

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÕES

Marcos Cesar Pontes

Ministro de Estado

Sergio Freitas de Almeida

Secretário-Executivo

Alex Fabiano Ribeiro de Magalhães

Subsecretário de Unidades Vinculadas

Vanessa Murta Rezende

Coordenadora-Geral de Unidades de Pesquisa e Organizações Sociais

CETEM – CENTRO DE TECNOLOGIA MINERAL

Silvia Cristina Alves França

Diretora

Marusca Santana Custodio

Coordenadora Substituta de Administração - COADM

Andréa Camardella de Lima Rizzo

Coordenadora de Planejamento, Gestão e Inovação - COPGI

Paulo Fernando Almeida Braga

Coordenador de Processamento e Tecnologias Minerais - COPTM

Marisa Nascimento

Coordenadora de Processos Metalúrgicos e Ambientais - COPMA

Leonardo Luiz Lyrio da Silveira

Coordenador de Rochas Ornamentais - CORON

Arnaldo Alcover Neto

Coordenador de Análises Minerais - COAMI

SÉRIE TECNOLOGIA MINERAL

ISSN 0103-7382

STM - 103

Inovações tecnológicas para o tratamento dos rejeitos de carvão visando a recuperação de áreas degradadas

Zuleica Carmen Castilhos

Pesquisadora Titular do CETEM/MCTI

Ricardo Gonçalves Cesar

Instituto de Geociências, Departamento de Geografia/UFRJ

Silvia Gonçalves Egler

Pesquisadora Titular do CETEM/MCTI

Renata Alamino

Bolsista do Projeto/CNPq

Danielly de Paiva Magalhães

Bióloga, D.Sc. em Química, Técnica do CETEM/MCTI

Bruna Alves Pinheiro

Bolsista PIBIC/CETEM

Rafael Oliveira Dantas

Bolsista do Projeto/CNPq

Mariana Vezzone Tosta Rabela

Instituto de Física, Universidade Federal Fluminense

Aline Freire Serrano

Bolsista PIBIC/CETEM

Claudio Luiz Schneider

Pesquisador Titular do CETEM/MCTI

CETEM/MCTI

2021

SÉRIE TECNOLOGIA MINERAL

Marisa Bezerra de Mello Monte

Editora

Claudio Luiz Schneider

Subeditor

CONSELHO EDITORIAL

Arnaldo Alcover Neto (CETEM), Fernando A. Freitas Lins (CETEM), Regina Coeli C. Carrisso, (CETEM), Reiner Neumann (CETEM), Ronaldo Luiz C. dos Santos (CETEM), Achilles Junqueira B. Dutra (UFRJ), Antonio E. Clark Peres (UFMG), José Aury de Aquino (CDTN), José Farias de Oliveira (UFRJ), Lino R. de Freitas (CVRD), Luciano Tadeu da S. Ramos (CVRD), Mário Rui M. Leite (IGM-PORTUGAL) e Maurício L. Torem (PUC-RIO).

A Série Tecnologia Mineral publica trabalhos na área minerometalúrgica. Tem como objetivo principal difundir os resultados das investigações técnico-científicas decorrentes dos projetos desenvolvidos no CETEM.

O conteúdo desse trabalho é de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Valéria Cristina de Souza

Coordenação Editorial

Editoração Eletrônica

CIP – Catalogação na Publicação

158

Inovações tecnológicas para o tratamento dos rejeitos de carvão visando a recuperação de áreas degradadas / Zuleica Carmen Castilhos [et al.]. __ Rio de Janeiro: CETEM/MCTI, 2021.

89p. - (Série Tecnologia Mineral; 103).

ISBN 978-65-5919-002-7

1. Ecotoxicologia. 2. Drenagem ácida. 3. Tratamento de resíduos - mineração. I. Centro de Tecnologia Mineral. II. Castilhos, Zuleica C. III. César, Ricardo G. IV. Egler, Sílvia G. V. Alaminio, Renata. VI. Magalhães, Danielly P. VII. Pinheiro, Bruna A. VIII. Dantas, Rafael O. IX. Rabela, Mariana V.T. X. Serrano, Aline F. XI. Schneider, Claudio L. XII. Série.

CDD 574.52

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do CETEM/MCTI
Bibliotecário(a) Rosana Silva de Oliveira CRB7 - 5849

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivos Específicos	19
3 MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 Amostras de Resíduos e Solo Natural	20
3.2 Extrato Solubilizado (ABNT, 2004)	22
3.3 Determinação do pH e da Matéria Orgânica nos Substratos	24
3.4 Determinação de Metais Pesados em Minhocas	24
3.5 Ensaios de Lixiviação	25
3.6 Fatores de Contaminação (FC)	25
3.7 Índice de Geocumulação (IGEO)	26
3.8 Bioensaios	28
3.9 Proposta Metodológica de Balanço de Massa de Metais em Tecido de Minhocas (<i>Eisenia andrei</i>)	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 Caracterização Química do Resíduo	47
4.2 Caracterização Química das Misturas Solo Artificial: Resíduo	54

4.3 Bioensaios	55
4.4 Balanço de Massa de Metais em Tecido de Minhocas (<i>Eisenia andrei</i>)	74
5 CONCLUSÕES	77
6 AGRADECIMENTOS	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

RESUMO

Os recursos de carvão no Brasil são de grande importância na geração da energia termoelétrica, mas seu processamento mineral produz grande volume de resíduos com pirita. Este material, quando não tratado de forma apropriada, pode gerar drenagem ácida, que lixivia metais e outros contaminantes, podendo acidificar e contaminar o meio ambiente com metais tóxicos por longos períodos. Algumas ações têm sido tomadas para minimizar tais impactos, mas têm-se mostrado de baixa economicidade. Em geral, o custo incrementa com o tempo e, não havendo retorno financeiro, inviabiliza a manutenção dos processos de controle. O presente trabalho trata da avaliação do potencial tóxico associado à disposição terrestre de resíduos de mineração tratados, visando avaliar a eficácia deste tratamento aplicado na Unidade de Mineração II - Verdinho (UM-II CCSA), onde foram geradas três (3) frações a partir de concentração gravimétrica em espirais: Leve (composta basicamente por matéria orgânica/carvão), (ii) intermediária (composta principalmente dos minerais silicáticos - filito- ou formadores de cinzas) e (iii) pesada (com alto teor de pirita). Foi caracterizada a mineralogia das frações, os teores de metais foram quantificados e ensaios ecotoxicológicos agudos e crônicos foram realizados e integrados para avaliar os riscos ecológicos terrestre e aquático. A fração intermediária é a de maior interesse devido ao grande volume gerado e necessidade de disposição terrestre. Ensaios toxicológicos terrestres foram realizados utilizando diluições com solos artificiais e naturais da região. Os resultados dos bioensaios agudos com *E. andrei* indicaram baixa toxicidade, enquanto os crônicos apontaram perda de biomassa e redução da reprodução apenas nas dosagens mais elevadas (acima de 50%). Ensaio crônico com colêmbolos adultos, por sua vez, mostrou baixa toxicidade. Nos ensaios de germinação de sementes de alfaca, a fração intermediária foi não tóxica, e nos ensaios com organismos aquáticos, as toxicidades, aguda e crônica, avaliadas nos diferentes organismos testados diminuíram na fração intermediária em comparação com o rejeito não tratado. Houve, no entanto, a necessidade de ajuste de pH

próximo à neutralidade e filtração para a realização do ensaio. Estes fatos tornam os ensaios com organismos aquáticos não indicativos para estimativas de sua real toxicidade. Finalmente, o tratamento realizado na produção da fração intermediária resultou na diminuição de alguns parâmetros e elementos analisados no rejeito não tratado, decrescendo a ecotoxicidade, embora alguns fatores que favorecem a produção de drenagem ácida estejam presentes, indicando que outras medidas mitigadoras ainda são necessárias.

Palavras-chave

Ecotoxicologia, drenagem ácida, tratamento de resíduos de mineração.

ABSTRACT

Brazilian coal resources are important for thermoelectric power generation but coal washing generates a large volume of residues rich in pyrite. This material, when not treated properly, is likely to generate acid drainage, leaching metals and other existing contaminants, which can acidify and contaminate the environment with toxic metals for long periods. Some actions have been taken to minimize such impacts but have shown low economic feasibility. In general, the cost increases over time and, without financial return, making it impossible to maintain the treatment processes. This work deals with the evaluation of the toxic potential associated with the terrestrial disposal of treated mining residues, aiming at assessing the effectiveness of this treatment applied to the residues that exist at Mining Unit II - Verdinho (UM-II CCSA), where three (3) fractions were generated using gravimetric concentration in spirals: light (composed basically of organic matter/coal), (ii) intermediate (composed mainly of silicate minerals – phyllite or ash-forming minerals) and (iii) heavy (with high pyrite content). The mineralogy of the fractions was characterized, the metal contents were quantified, and acute and chronic ecotoxicological assays were performed and integrated to evaluate the terrestrial and aquatic ecological risks. The intermediate fraction is the one of greatest interest due to the large volume generated and the need for terrestrial disposal. Terrestrial toxicological tests were performed by using dilutions with artificial and natural soils of the region. The results of acute bioassays with *E. andrei* indicated low toxicity while the chronic ones indicated biomass loss and reduction of reproduction only at the highest doses (above 50%). Chronic assay with adult collembolan, in turn, showed low toxicity. In the lettuce seeds germination assays, the intermediate fraction was non-toxic. In the tests with aquatic organisms, the acute and chronic toxicities evaluated with different organisms decreased in the intermediate fraction compared to the untreated tailings. However, there was a need for filtration and pH adjustment to attain neutrality, prior to the test, which makes trials with aquatic organisms not

indicative to estimate the actual toxicity of the material. Finally, although the mineral treatment to produce the intermediate fraction from untreated tailings resulted in the reduction of some chemical parameters and metals levels, and also decreased ecotoxicity, some factors that favor the production of acid drainage of tailings are still present, indicating that other mitigating measures are necessary.

Keywords

Ecotoxicology, acid drainage of tailings, mining residues treatment.

1 | INTRODUÇÃO

Os recursos identificados de carvão no Brasil estão na ordem de 32 bilhões de toneladas, localizados na região sul do país, nos estados do Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) e Paraná (PR). Os locais de maior exploração são Candiota (RS), região do Baixo Jacuí (RS) e Região Carbonífera do Sul Catarinense (SC). Do montante de carvão produzido no país, 87% são destinados à produção de energia elétrica, suprindo 2% da energia na matriz energética do país. Devido à associação com a matéria mineral, os carvões nacionais necessitam passar por processos de beneficiamento (RUBIO, 1988), gerando rejeitos ricos em matéria mineral e pirita (FeS_2), com teores de enxofre que chegam na ordem de 15% (REDIVO, 2004; LILGE et al, 2005), tendo sido já produzidos cerca de 300 milhões de toneladas de rejeitos.

Grande volume de resíduos¹ com pirita e conseqüente drenagem ácida dos rejeitos do beneficiamento podem lixiviar metais e outros contaminantes existentes nos resíduos e estéril, que quando não tratados de forma apropriada, podem acidificar e contaminar o meio ambiente com metais tóxicos por longos períodos (ALEXANDRE, 2000; CASTILHOS, et al., 2010).

A massa de rejeitos está presente em 3.050 hectares de passivos ambientais expostos na Bacia Carbonífera de Santa Catarina, hoje submetidas a uma série de ações envolvendo um cronograma para recuperação ambiental. Somando-se a estas áreas de passivos, os depósitos de rejeitos também estão presentes nos pátios operacionais das minas em atividade na região carbonífera, cuja superfície alcança um total de 957 hectares. Esses locais geram DAM, cujo volume proporcional tratado ainda é baixo, o que acarreta a contaminação dos

¹ "Neste trabalho os termos rejeitos e resíduos estão utilizados como sinônimos."

recursos hídricos pertencentes às bacias hidrográficas dos rios Araranguá, Tubarão e Urussanga (CASTILHOS, et al., 2010; CESAR et al. 2013).

Castilhos et al. (2010) definiram segmentos críticos de contaminação hídrica nas bacias hidrográficas dos rios Araranguá, Tubarão e Urussanga. Os autores constataram que o aporte de águas fluviais provenientes do rio Fiorita desempenhou papel fundamental na baixa qualidade ambiental da bacia do rio Araranguá. Na bacia do Rio Tubarão, o segmento próximo das áreas mineradas em Lauro Müller merece posição de destaque para medidas de remediação da qualidade ambiental. Na bacia do Rio Urussanga, o segmento mais crítico de contaminação resulta possivelmente da contribuição das áreas que foram mineradas por Coquerias Rio Deserto e deveriam receber grande atenção em ações de controle ambiental e gestão da bacia. Nestas áreas, há grande quantidade de rejeitos dispostos inadequadamente nas margens dos rios. Neste sentido, Cesar e colaboradores (2013), ao investigarem o risco ecológico associado à disposição continental de resíduos de mineração de carvão expostos a céu aberto na bacia do Rio Urussanga, indicaram a ocorrência potencial de elevada toxicidade aguda para flora terrestre, fauna edáfica e aquática, em cenários que consideram possíveis misturas solo: resíduo sobre o continente, bem como a lixiviação e geração de soluções tóxicas a partir dos rejeitos. Assim, fica evidenciada a importância do tratamento dos rejeitos de beneficiamento nas considerações em torno das futuras ações de recuperação ambiental.

Em 1980, a Bacia Carbonífera Sul Catarinense foi classificada como XIV Área Crítica Nacional para Efeito de Controle de Degradação Ambiental. Em 05 de janeiro de 2000, foi proferida sentença referente à ação civil pública 93.8000533-4, que condena solidariamente as empresas carboníferas de Santa Catarina e a União a recuperarem a degradação ambiental proveniente do setor de carvão no Sul de Santa

Catarina. Desde maio daquele ano, o MCT/CETEM e CANMET (*Canada Centre for Mineral Technology*), juntamente com o Grupo de Meio Ambiente do Sindicato das Indústrias Carboníferas de Santa Catarina (SIECESC), desenvolvem planos para a recuperação ambiental da região. Atualmente, o CETEM e algumas empresas carboníferas vêm atuando em conjunto, visando a implantação de sistemas de gestão integrada. Ainda, com o objetivo de sistematizar as ações de Recuperação Ambiental, foi criado através do Decreto Presidencial de 14 de dezembro de 2000 e publicado no Diário Oficial da União nº 241 de 15/12/2000, o Comitê Gestor para Recuperação Ambiental da Bacia Carbonífera de Santa Catarina. Em 2007, o Superior Tribunal de Justiça condenou a União e mineradoras a repararem os danos ambientais, sendo que os prazos foram de 10 anos e de três anos (a contar da liminar concedida pelo juízo de primeiro grau, no ano de 2000), para a recuperação ambiental das bacias hidrográficas e área terrestre, respectivamente. Isto significa que a recuperação ambiental já deveria ser uma realidade. Entretanto, os desafios permanecem.

Uma imagem de um depósito controlado de rejeito de carvão, de onde foram recolhidas amostras utilizadas no presente projeto, é apresentada na Figura 1.



Fonte: Carbonífera Criciúma S/A, 2009.

Figura 1. Imagem de um depósito de rejeitos de carvão em operação na região Carbonífera de Santa Catarina.

Algumas ações têm sido tomadas para minimizar tais impactos, mas tem-se mostrado de baixa economicidade. Em geral, o custo incrementa com o tempo e, não havendo retorno financeiro, inviabiliza a manutenção dos processos de controle. Por exemplo, a adição de cinzas de termoelétricas alcalinas sobre o rejeito e recuperação do terreno com recobrimento com argila, solo do Horizonte A e vegetação, como no caso do Capão da Roça, Charqueadas, RS. Entretanto, o procedimento não cessou a geração da DAM, de modo que foi necessária a contenção da DAM e a implantação de uma estação de tratamento de efluentes (SCHNEIDER, 2006). No Módulo de Rejeitos da UM-II CCSA, o procedimento adotado foi a adição de finos, coletados nas bacias da água do beneficiamento. O intuito foi minimizar a transferência de ar e a percolação de água pelo módulo de rejeitos. Da mesma maneira, o processo não foi efetivo, sendo necessária a contenção da DAM e o tratamento (SCHNEIDER, 2006).

Algumas outras ações também têm sido recentemente investigadas. Uma delas é método de coberturas secas, que vem demonstrando excelentes resultados em unidades experimentais (SOARES et al, 2009). Outra é o retorno do rejeito para as minas subterrâneas, método conhecido como *backfil* (MIAO et al, 2008). Entretanto, essas técnicas acarretam custos para as mineradoras e o setor público bem como o contínuo monitoramento ambiental da área. Assim, a solução ainda tem sido o emprego de técnicas de final de tubo, como o tratamento ativo da DAM, com altos custos em reagentes, operação e disposição de lodos (SILVEIRA et al, 2009).

O tratamento do passivo, seja qual for o processo, objetiva produzir um produto inerte que possa ser descartado em pilhas ou aterros sem necessidade de tratamento da drenagem e, se possível, sem a necessidade de controle de drenagem.

De maneira geral, o passivo é formado por partículas que podem ser classificadas em três tipos fundamentais. As mais comuns, e que formam a maior parte do passivo, são partículas inertes compostas principalmente pela rocha sedimentar que é extraída juntamente com o carvão, propriamente dito. Trata-se de um filito, que é um tipo de rocha metamórfica foliada criada a partir de uma rocha sedimentar composta por argilas e cinzas vulcânicas através de um processo de metamorfismo regional. As partículas de filito têm densidades entre 2,68 e 2,80 g/cm³. Um segundo tipo de partículas são aquelas compostas principalmente por carvão. Carvão é perdido no passivo por diversas razões, porém as quantidades de partículas de carvão são pequenas já que o passivo é constituído principalmente por partículas pesadas, com densidades iguais ou superiores às partículas de filito. Partículas de carvão são partículas de densidade baixa, entre 1,2 g/cm³ e 1,8 g/cm³. O terceiro tipo de partículas são aquelas que contém pirita, principalmente. Estas são partículas com densidades mais altas, na sua maioria entre 3,0 g/cm³ e 4,2 g/cm³. Partículas que contém muita pirita terão densidades próximas a 4,2 g/cm³, que é a densidade da pirita propriamente dita, e as de densidade menor, até 3,0 g/cm³, contém filito e inclusive carvão como fases minoritárias.

Importante aqui é o estado de liberação da fase pirita. Schneider e Costa (2011) estimaram que partículas de 10 mm ou maiores contém somente partículas compostas, e nenhuma liberação da pirita. Portanto, métodos gravimétricos para partículas grossas, como jigagem por exemplo, não podem ser utilizados para produzir um passivo inerte. Desta forma fica caracterizada a necessidade de pelo menos uma etapa de britagem e classificação para possibilitar a liberação da pirita e, mais importante, a liberação de partículas inertes. Os resultados mostraram que em torno de 600 micrômetros cerca de 50% da pirita está liberada e o restante está praticamente liberado, em partículas contendo mais de 80% de pirita em volume.

Espirais são equipamentos comumente utilizados na concentração gravimétrica de minerais, com destaque para concentração de rutilo em aluviões costeiros, cassiterita aluvionar, e na concentração de carvão. Tipicamente, no beneficiamento de carvão, as espirais são utilizadas em frações relativamente finas de partículas, na faixa de aproximadamente 2,0 x 0,35 mm. Por este motivo optou-se por britar toda a amostra do passivo abaixo de 2,0 mm, e escalar, com peneira, a fração menor que 0,35 mm, gerando-se assim uma amostra dentro da faixa típica de operação de espirais. A fração menor que 0,35 mm não é apropriada para concentração gravimétrica, e esta fração foi destinada para uma investigação que contemplou a flotação como método de separação da pirita (COSTA et al. 2013). Infelizmente o processo para os finos não surtiu, até o presente momento, resultados favoráveis. Isso faz com que a geração de finos britados, < 0,35 mm, deva ser evitada ao máximo no processo de britagem. Neste estudo, o fino gerado representou apenas 3,5% do material, e o restante, 96,5%, foi tratado em uma espiral piloto, nas dependências do CETEM.

A avaliação da ecotoxicidade terrestre e aquática deste material potencialmente “inerte” é indispensável para recomendar sua disposição terrestre e transferência de tecnologia.

Ensaio ecotoxicológicos expressam inter-relações de intensidade de contaminação e respostas tóxicas. Diversos tipos de organismos (algas, vertebrados e invertebrados aquáticos e terrestres) são utilizados na avaliação da toxicidade, bem como no estudo da distribuição espacial e temporal de contaminantes em sistemas fluviais, marinhos e solos. No caso dos solos, minhocas (*Eisenia andrei*, *Eisenia fetida*), enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*, *Enchytraeus albidus*), colêmbolos (*Folsomia cándida*, *Proisotoma minuta*), nematóides (*Caenorhabditis elegans*) e ácaros predadores (*Hypoaspis aculeifer*) são comumente empregados na avaliação da ecotoxicidade do solo (PEREIRA et al. 2015; NIVA et al. 2016;

VEZZONE et al. 2018). Organismos aquáticos, tais como microcrustáceos (*Daphnia similis*; *D. magna*, *Ceriodaphnia dubia*), algas clorofíceas (*Raphidocelis subcaptata*), também têm sido usados em bioensaios, sobretudo na simulação de cenários de risco onde contaminantes possam ser lixiviados dos solos a partir da ação intempérica das águas pluviais (MAXAM et al. 2000; CESAR et al. 2013; GRENNI et al. 2018), contaminando assim os sistemas aquáticos vizinhos.

Ainda no que diz respeito à disposição terrestre de resíduos de mineração de carvão, é importante salientar que a maior parte destes trabalhos na Região Carbonífera Sul Catarinense privilegiou a avaliação do risco ecológico associado às comunidades aquáticas em detrimento à biota de solo (principalmente a fauna edáfica). Nesse sentido, a execução de bioensaios com organismos terrestres é importante não somente para a elucidação dos riscos à biota do solo, mas sobretudo para complementar os dados já existentes para organismos aquáticos, visando uma avaliação mais ampla do risco ecotoxicológico. Este tipo de informação integrada é fundamental para o planejamento ou tomada de decisão em medidas de saúde pública e de controle ambiental, definição de técnicas de remediação e hierarquização de áreas a serem priorizadas em programas de recuperação ambiental.

O presente trabalho trata da avaliação do potencial tóxico associado à disposição terrestre de resíduos de mineração tratados, visando a avaliação da eficácia deste tratamento aplicado na Unidade de Mineração II - Verدينho (UM-II CCSA), onde foram geradas três (3) frações a partir de concentração gravimétrica em espirais: (i) leve (composta basicamente por matéria orgânica/carvão), (ii) intermediária (composta principalmente dos minerais silicáticos – filito - ou formadores de cinzas) e (iii) pesada (com alto teor de pirita). Para tanto, foi caracterizada a mineralogia do resíduo, os teores de

metais foram quantificados e ensaios ecotoxicológicos foram aplicados para avaliar o risco ecológico terrestre e aquático destes materiais tratados, em cenário de disposição em solo.

As principais hipóteses de trabalho são:

- As concentrações de metais na fração intermediária estão em concordância com os valores orientadores para a disposição destes materiais em solo, e
- a toxicidade da fração intermediária é baixa para invertebrados de solo e para a biota aquática.

2 | OBJETIVOS

O objetivo geral deste projeto é avaliar a eficácia de uma metodologia para o tratamento de resíduos de mineração de carvão, visando a sua disposição terrestre com baixo risco toxicológico ambiental.

2.1 | Objetivos Específicos

- Determinar as concentrações de metais tóxicos nos resíduos e na fração intermediária gerada a partir dos processos de tratamento do resíduo;
- avaliar a toxicidade aguda da fração intermediária para minhocas em diluições com solo artificial e em comparação com o resíduo não tratado, em diluições com solo natural da Bacia Carbonífera Sul-Catarinense;
- avaliar a toxicidade crônica da fração intermediária para minhocas e colêmbolos (em diluições com solo artificial);
- avaliar a toxicidade aguda do resíduo e da fração intermediária para planta - sementes de alface, em diluições com solo natural da Bacia Carbonífera Sul-Catarinense;
- avaliar a toxicidade aquática aguda do resíduo e da fração intermediária para microcrustáceos e algas;
- avaliar o incremento de toxicidade aguda do resíduo e da fração intermediária quando expostos cronicamente a condições mimetizadoras ambientais;
- propor uma metodologia para avaliação da biodisponibilidade de metais por meio de balanço de massa (utilizando a toxicidade aguda do resíduo para minhocas em diluições com solo artificial) e,
- avaliar as alternativas de disposição do resíduo tendo em vista sua toxicidade em cenário de disposição terrestre.

3 | MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 | Amostras de Resíduos e Solo Natural

O resíduo estudado é proveniente da mineradora Carbonífera Criciúma S.A., SC, da região entre as localidades de Verdinho (município de Criciúma) e São Miguel (município de Forquilha), com 1.200.000 m² de área (coordenadas UTM: 651400 a 653500 E, 6814850 a 6811360 S). A unidade estudada, UM II Verdinho, possui um módulo B de rejeitos de carvão ROM (*Run of Mine*) lavrado, proveniente do processo de beneficiamento (SCHNEIDER, 2008). A região da mina é drenada pelo rio Sangão, afluente da margem esquerda do rio Mãe Luzia, afluente da margem esquerda do rio Araranguá. A mina produzia carvão fóssil como insumo básico de geração termelétrica a carvão (AMARAL FILHO, 2009; PRSC, 2011).

As amostras de resíduos do módulo B e do solo da região foram enviadas pela Carbonífera Criciúma S.A. Ambas as amostras foram secas a temperatura ambiente. O resíduo de mineração de carvão foi submetido a um processo de tratamento realizado pela equipe do CETEM, que consistiu, basicamente, na separação das partículas conforme sua densidade. As amostras do resíduo bruto foram cominuidas e peneiradas abaixo de 2 mm e separadas em três granulometrias (- 2 mm + 0,710 mm, - 0,710 mm + 0,355 mm e - 0,355 mm), a primeira fração foi homogeneizada, quarteada e separada em sub-amostras de 5 kg. As amostras de solo também foram peneiradas abaixo de 2 mm, homogeneizadas, quarteadas e separadas em sub-amostras de 2 kg.

O processo de concentração mineral foi realizado utilizando uma Espiral concentradora de minério. Quarenta e três quilos do resíduo, com granulometria de - 2 mm + 0,710 mm, foi condicionado por 5

minutos em 113 L de água tratada (solução com 30% de sólidos). Após este período a polpa foi bombeada, com bomba vertical, em uma vazão de 18 L por minuto para a parte superior da espiral iniciando a separação de três frações distintas.

Ao final da separação as frações foram secas a temperatura ambiente, sendo a massa específica de cada fração calculada pelo teste de picnometria a gás (Picnometro marca Micromeritics, modelo AccuPyc II 1340).

Dessa forma, foram geradas três (3) frações: (i) leve (composta basicamente por matéria orgânica/carvão), (ii) intermediária (composta principalmente dos minerais silicáticos (filito) ou formadores de cinzas) e (iii) pesada (com alto teor de pirita).

A fração pesada, rica em pirita, não foi estudada do ponto de vista ecotoxicológico, visto que este tipo de material constitui a fração tóxica do passivo e o objetivo é aproveitá-la como insumo para outros processos industriais, como por exemplo na fabricação industrial de ácido sulfúrico. A fração leve corresponde, basicamente, a carvão e apresenta, reconhecidamente, menor toxicidade e poderá ser utilizada na geração de energia. Portanto, no âmbito da avaliação ecotoxicológica, neste trabalho, são apresentados somente os resultados de toxicidade referentes à fração intermediária, de maior interesse ambiental devido não só ao grande volume de material gerado como também à necessidade frequente de disposição terrestre.

As análises mineralógicas por Difração de RX e composição química semiquantitativa por Fluorescência de RX foram realizadas na Coordenação de Análises Mineralis do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM). As análises de Difração XR foram realizadas com o equipamento Bruker-D4 Endeavor, com as condições de funcionamento: Radiação Co Ka, $\lambda = 0,179021$ nm, gerador operado a 40 kV e 40 mA; velocidade do goniômetro de $0,02 \text{ } 2\theta$ por etapa com

tempo de contagem de 0,5 segundos por passo e coleta de 4 a 80 2 θ com um detector sensível de posição LynxEye. As interpretações qualitativas do espectro foram realizadas em comparação com as normas contidas no banco de dados PDF-04 (CID, 2014) no software Bruker-AXS Diffrac.Eva 4.1. As análises de Fluorescência de XR foram realizadas utilizando equipamento WDS-2, na marca PANalítico, modelo AXIOS.

As análises químicas utilizaram os métodos: Turbidimétrico, marca Hach, modelo DR 5000 (sulfato - SO₄), Combustão direta com detecção por Infra-vermelho, marca LECO, modelo SC 632 (carbono - C, matéria orgânica - MO e enxofre total - S), Espectrofotometria de emissão ótica c/ plasma induzido - ICP-OES, marca Horiba, modelo ULTIMA 2 (alumínio - Al, ferro - Fe, chumbo - Pb, zinco - Zn, vanádio - V, cobre - Cu, bário - Ba, cádmio - Cd, níquel - Ni, cromo - Cr, manganês - Mn e mercúrio - Hg) e Cromatografia Iônica, marca Metrohm, modelo 820 IC (nitrogênio total).

O cálculo do enxofre piritico e sulfático foi realizado por estequiometria utilizando os valores do enxofre total e do sulfato.

A acidez trocável e o pH em água foram obtidos utilizando o método da EMBRAPA (1997). O Potencial de Geração de Acidez foi obtido multiplicando-se o percentual do enxofre total pela constante de Skousen (31,25) (Cechella, 2010).

3.2 | Extrato Solubilizado (ABNT, 2004)

Para cada parte do resíduo foram adicionadas quatro partes de água deionizada, dependendo do volume final de solução necessária para os ensaios. A solução foi agitada em baixa velocidade por cinco minutos e mantida por sete (7) dias, em temperatura de até 25 °C, conforme a norma ABNT 10006 (ABNT, 2004) (Figura 2). Após esse período, o

sobrenadante foi retirado com o auxílio de pipeta e filtrado com membrana de nylon de 45 μm e armazenado em garrafas de polietileno. Em alguns ensaios o sobrenadante foi filtrado em membrana de fibra de vidro de 45 μm . Medidas de pH (marca Digimed, modelo DM-2), Oxigênio Dissolvido - O.D. (marca Digimed, modelo DM-4P) e dureza (titulação EDTA) foram realizadas. O extrato foi testado imediatamente ou congelado.



Figura 2. Resíduos em repouso para obtenção de solubilizado.

Para ajuste de pH na faixa de tolerância das espécies testadas (6-9 para *Daphnia* e 6-8 para *Raphidocelis*) foram utilizadas soluções de NaOH 1 e 0,1N (ABNT, 2009; ABNT, 2011).

Análises químicas foram realizadas na Coordenação de Análises Mineraiis do CETEM para a identificação dos principais contaminantes por Espectrofotometria de emissão ótica c/ plasma induzido - ICP-OES, marca Horiba, modelo ULTIMA 2 (alumínio - Al, bário - Ba, cádmio - Cd, cromo - Cr, cobre - Cu, ferro - Fe, mercúrio - Hg, manganês - Mn, níquel - Ni, chumbo - Pb, enxofre - S, vanádio - V e zinco - Zn).

3.3 | Determinação do pH e da Matéria Orgânica nos Substratos

A determinação do pH foi realizada por meio de eletrodo combinado imerso, na proporção 1:2,5 (solo:água) (Figura 3 A), com o emprego de equipamento da marca DIGIMED (Figura 3 B). A quantificação do carbono orgânico foi efetuada em 1g de amostra, previamente submetida à lavagem com ácido clorídrico (HCl), para remoção do carbono oriundo dos carbonatos (não-orgânicos). Após esta etapa, a amostra foi submetida à pirólise no Equipamento LECO SNS-2000, sendo o teor de carbono orgânico determinado por análise elementar. A determinação do teor de matéria orgânica foi calculada pela multiplicação da concentração de COT por um fator de 1,724 (EMBRAPA, 1997).

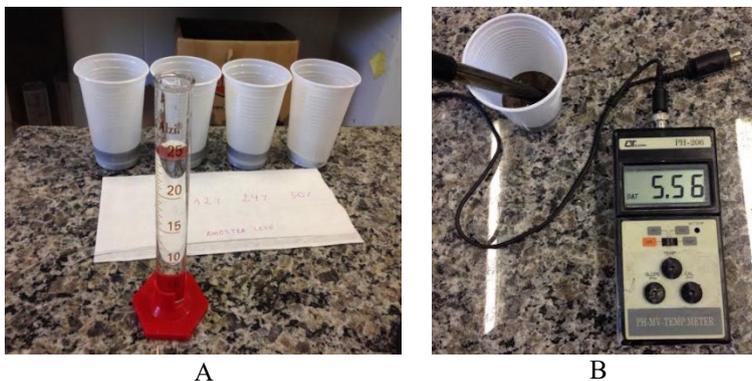


Figura 3. Solubilização das amostras de solo em água (A) para determinação do pH (B).

3.4 | Determinação de Metais Pesados em Minhocas

A determinação das concentrações totais de alumínio (Al), cádmio (Cd), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), níquel (Ni), chumbo (Pb),

zinco (Zn) e manganês (Mn) foram realizadas em amostras abióticas. A determinação de teores de Cu, Cr, Ni, Pb e Zn foram realizadas também em amostras bióticas. As análises foram realizadas via solubilização de 1g de amostra em 40 ml de uma mistura ácida de HF:HCl:HClO₄ (2:1:1). A concentração de metais nos extratos foi quantificada por espectrometria de emissão atômica de plasma acoplada indutivamente (ICP-OES; Horiba Jobin Yvon, Ultima 2). Antes de serem submetidas a estes procedimentos, as minhocas foram congeladas, liofilizadas e trituradas.

3.5 | Ensaios de Lixiviação

Para avaliar a capacidade da água em carrear os metais contidos no rejeito do carvão para os solos, nos quais eles rotineiramente são dispostos, ou para corpos d'água adjacentes, ensaios de lixiviação foram conduzidos no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM (LECOMIN/CETEM). Triplicatas da fração intermediária foram misturadas com água tipo 2 - na proporção 1g:4mL - e levadas a um agitador orbital por períodos preestabelecidos de 1 h, 24 h, 48 h e 72 h. Ao final de cada período, as amostras foram separadas por meio de centrifugação seguida de filtração e as concentrações nos lixiviados foram determinadas por meio de ICP-OES.

Os limites de detecção foram de 0,4 mg/kg para Al; 0,1 mg/kg para Cd; 0,2 mg/kg para Cu; 0,01 mg/kg para Cr; 0,4 mg/kg para Fe; 0,4 mg/kg, para Mn; 0,2 mg/kg para Ni; 0,2 mg/kg para Pb e 1,4 mg/kg para Zn.

3.6 | Fatores de Contaminação (FC)

Tendo em vista as concentrações totais de metais no resíduo puro e em solos puro, foram estimados os teores totais de metais para

misturas de diferentes proporções de solo-resíduo, visando a simulação da disposição terrestre do material. A avaliação do incremento da concentração de metais com o aumento de dose de resíduo no solo foi avaliada com base no cálculo dos fatores de contaminação (FC), uma razão entre o teor do metal no solo puro (sem adição de resíduo) pela concentração no solo contaminado (misturado com resíduo). Valores maiores do que uma (1) unidade indica incremento na concentração de metais. As concentrações de metais obtidas nos resíduos foram comparadas aos valores orientadores estabelecidos pela legislação brasileira para qualidade do solo (CONAMA 420/2009 e CETESB DD N° 068/2016/E 2016), onde:

- Valor de referência: concentração de determinada substância que define a qualidade natural do solo – *background* geoquímico do solo para o Estado de São Paulo;
- valor de prevenção: concentração de valor limite de determinada substância no solo, tal que ele seja capaz de sustentar as suas funções principais, com base nos riscos em receptores ecológicos do solo; e
- valor de intervenção: concentração de determinada substância no solo acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, considerando cenário de exposição e atividade desenvolvida na área investigada: agrícola, residencial ou industrial.

3.7 | Índice de Geoacumulação (IGEO)

A avaliação quantitativa do grau de poluição de metais no resíduo foi realizada através do cálculo do Índice de Geoacumulação (IGEO) (MÜLLER, 1979), com base em teores de *background* determinados em folhelhos (Equação 1; Tabela 1). O IGEO pode ser agrupado em 7

classes (de 0 a 6), as quais descrevem o incremento do metal em relação ao *background* e os respectivos graus de poluição. A utilização dos valores de *background* obtidos em folhelhos (TUREKIAN; WEDEPOHL, 1961) decorre do fato destas rochas serem abundantes, de terem origem sedimentar, apresentarem textura fina e elevado teor de matéria orgânica – ou seja, trata-se de uma litologia que reúne atributos que favorecem a fixação de metais.

$$IGEO = 1,5 \log_2 \frac{Me}{NBN_{Me \times 1,5}} \quad (1)$$

Onde,

Me: Concentração do metal no sedimento; NBNMe: *Background* geoquímico do metal no folhelho médio (folhelho padrão) ou obtido a partir de um *background* da geoquímica regional.

Tabela 1. Índice de geoacumulação (IGEO) de metais pesados nos sedimentos do Rio Reno (Alemanha).

Intensidade da Poluição	Acumulação no Sedimento (IGEO)	Classe IGEO
Muito fortemente poluído	> 5	6
Forte a muito fortemente poluído	> 4 – 5	5
Fortemente poluído	> 3 – 4	4
Moderado a fortemente poluído	> 2 – 3	3
Moderadamente poluído	> 1 -2	2
Pouco a moderadamente poluído	> 0 – 1	1
Praticamente não poluído	< 0	0

Fonte: Müller, 1979.

3.8 | Bioensaios

3.8.1 | Organismos terrestres

3.8.1.1 | *Cultivo de Eisenia andrei*

As minhocas (*Eisenia andrei*) utilizadas nos bioensaios foram cultivadas no Laboratório de Ecologia e Ecotoxicologia de Solos (LECOTOX) do Departamento de Geografia da UFRJ e no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Tecnologia Mineral (LECOMIN/CETEM). No LECOTOX os animais foram criados em caixas plásticas contendo esterco de cavalo (Figura 4 A), previamente submetido a dois ciclos de congelamento para desfaunagem preliminar do material. Uma vez por semana, aveia cozida em água destilada era servida aos organismos como fonte alternativa de alimento. Os animais foram criados sob temperatura controlada (20 ± 2 °C) e foto:período (16:8h – luz: escuridão) constante.

A remoção do húmus produzido pelas minhocas e a renovação do conteúdo de esterco nas caixas de cultivo foi realizada periodicamente a cada três (3) meses. Para tanto, os organismos foram manualmente retirados das caixas de cultivo e separados em novas caixas de acordo com sua idade (adulto ou não-adulto), tendo em vista a ocorrência de clitelo visualmente bem desenvolvido (Figura 4 B).



Figura 4. Cultivo de minhocas no LECOTOX (A); Aspecto de indivíduo adulto de *Eisenia andrei*, com indicação do clitelo (B).

No LECOMIN os organismos foram cultivados em caixas plásticas de 14 L (altura: 14 cm x largura: 32 cm x comprimento: 53 cm) e caixas de 50 L contendo esterco de boi (Figura 5). Nas caixas de 14 L os organismos eram separados por tamanho e presença de clitelo (adultos e jovens), na de 50 L ficavam misturados. Mensalmente o humus produzido foi trocado por esterco fresco com os organismos sendo removidos manualmente para as caixas novas. Quinzenalmente todas as caixas eram umedecidas com água deionizada para manter a umidade do substrato. A temperatura de cultivo foi de 22 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 h de luz e 8 de escuro.



Figura 5. Cultivo das minhocas no LECOMIN.

3.8.1.2 | *Cultivo de colêmbolos*

Os colêmbolos (*Folsomia candida*) utilizados nos experimentos foram cultivados na Empresa Brasileira de Agropecuária (EMBRAPA-Agrobiologia). Os animais foram cultivados em potes plásticos arredondados contendo um substrato composto de carvão ativado, água e gesso (Figura 6 A e B). A umidade do substrato era ajustada três vezes por semana. Organismos adultos eram deixados para produção de casulos após a adição de alimento (fermento moído). Após essa etapa, os casulos eram separados dos animais adultos, e inoculados separadamente para substratos de cultivo recém preparados. Somente organismos jovens com 10-12 dias de idade eram utilizados nos experimentos. O cultivo de *Folsomia candida* e os bioensaios foram executados em incubadora a 20 ± 2 °C e foto-período de 16h:8h (luz:escuridão).



Figura 6. Aspecto dos cultivos de *Folsomia candida*. Em incubadora (A) e organismos em detalhe em substrato de cultivo (B).

3.8.1.3 | Bioensaios com minhocas em diluições de resíduo com solo artificial tropical (SAT)

3.8.1.3.1 | Bioensaio agudo com *Eisenia andrei*

O bioensaio agudo com minhocas da espécie *Eisenia andrei* foi baseado no protocolo descrito em ASTM (2004). Foram preparadas quatro (4) réplicas de 500 g de material por dosagem de resíduo (fração intermediária) no solo. As dosagens de resíduo aplicadas a solos artificiais foram baseadas em ensaios prévios realizados por Cesar et al. (2013), que estudaram a toxicidade de amostras de resíduos de mineração de carvão coletados em pilhas ao céu aberto na bacia do Rio Urussanga (sudeste de Santa Catarina), utilizando solos artificiais e bioensaios agudos com *E. andrei*. Sendo assim, as doses aplicadas foram: 6, 12, 24 e 50%, onde 0% = solo artificial puro. O solo artificial foi preparado de acordo com Garcia (2004), e é composto de 70% de areia de quartzo, 20% de caulim e 10% de pó da fibra de casca de coco.

O teste foi realizado em recipientes plásticos cilíndricos (3,8 cm de diâmetro e 6,4 cm de altura) (Figura 7 C). A umidade do solo foi previamente ajustada para 40-60% da capacidade de retenção de água (CRA), conforme descrito em Natal-da-Luz et al. (2009). Foram adicionados 10 organismos adultos com peso semelhante (variando de 300 a 600 mg) em cada réplica, de forma a obter populações mais homogêneas do ponto de vista etário e de biomassa (Figura 7 A e B). Antes de serem inseridos nos ensaios, os organismos foram deixados sobre papel absorvente umedecido com água destilada por 24 h, para o esvaziamento do conteúdo intestinal. Após 14 dias de exposição, sob temperatura controlada (20 ± 2 °C) e iluminação constante, contabilizou-se o número de organismos sobreviventes. Estes animais, após serem pesados, foram congelados, liofilizados e encaminhados para a determinação de metais pesados em seus tecidos.

Réplicas adicionais com solo artificial tropical puro também foram preparadas para garantia dos resultados dos ensaios, tendo em vista que este substrato é ideal à sobrevivência e reprodução dos animais. Para validação do ensaio, são aceitos até 10% de mortalidade em solo artificial (ASTM, 2004). A avaliação da variação da biomassa corporal dos animais é realizada através da diferença entre peso médio inicial e o peso médio final dos organismos inseridos na réplica, antes e após a exposição. A avaliação do grau de biodisponibilidade de metais foi conduzida com base nos Fatores de Bioconcentração (FBC), obtidos por meio da razão entre a concentração do metal no organismo vivo e a concentração nas misturas, no solo artificial, ou no lixiviado.

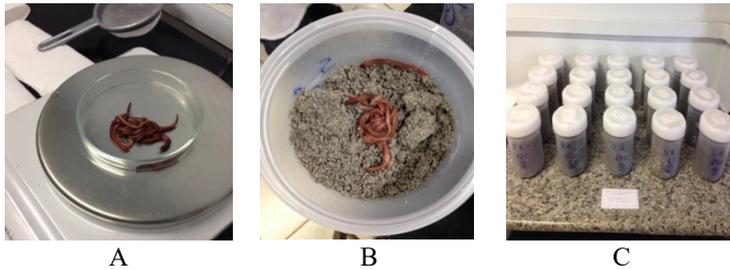


Figura 7. Pesagem das minhocas (A), introdução das minhocas no ensaio (B) e visão panorâmica do ensaio (C).

3.8.1.3.2 | Bioensaio crônico de reprodução com *Eisenia andrei*

O ensaio de reprodução com *Eisenia andrei* foi realizado conforme ISO (1998). A umidade dos solos-teste foi ajustada para 40-60% da capacidade máxima de retenção de água. O ensaio foi conduzido em recipientes cilíndricos contendo 500 g de solo-teste (equivalente em peso seco) (Figura 8 A) e 10 oligoquetas adultos de peso semelhante por réplica (4), conforme ISO (1998). Os oligoquetas foram condicionados em solo artificial por 24 horas antes de serem usados nos ensaios. O experimento foi executado a 20 ± 2 °C e ciclos de luz:escuridão (16h:8h) (Figura 6 B). No início do ensaio, 15 g de esterco de cavalo finamente moído foi servido como alimento. Uma vez por semana os recipientes-teste foram abertos (para aerar os sistemas), momento em que mais comida foi adicionada (quando necessário) e a umidade ajustada (por diferença de peso e subseqüente adição de água destilada).

Após 28 dias de ensaio, os animais adultos foram manualmente coletados e pesados. Os solos-teste foram incubados por mais 28 dias para permitir a eclosão dos casulos (Figura 8 A e B). Após essa etapa,

os organismos jovens foram contatos através de aquecimento da base do recipiente-teste, utilizando banho-maria a 60 °C.

Este ensaio foi realizado em solos artificiais acrescidos da fração intermediária do resíduo. As dosagens de resíduo aplicadas ao solo foram aquelas que não causaram morte significativa dos organismos-teste sob exposição aguda.

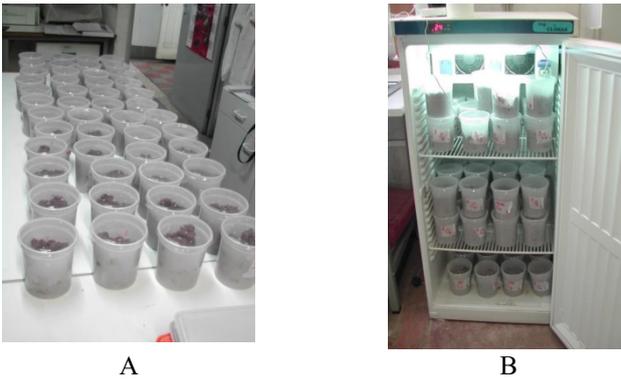


Figura 8. Aspecto do ensaio de reprodução com *Eisenia andrei* (A) e da incubadora utilizada para os experimentos (B).

3.8.1.3.3 | Bioensaio de comportamento ou fuga com *Eisenia andrei*

O ensaio de comportamento ou fuga (*avoidance test*) foi realizado conforme o procedimento proposto por ISO (2008). Para a execução do ensaio, foram utilizados aproximadamente 600 g de solo-teste e de solo não contaminado como controle (com umidade ajustada para 40-60% da capacidade de retenção máxima de água). Recipientes plásticos (20 cm de comprimento, 12 cm de altura, e 5 cm largura) foram divididos em duas seções de mesma área, com o auxílio de um cartão plástico. Uma das seções foi preenchida com solo-teste, e a

outra com a mesma quantidade de solo controle (solo artificial tropical- SAT, e solo natural). Os experimentos foram conduzidos com três réplicas.

Após a remoção do cartão plástico, 10 indivíduos adultos de peso semelhante (300 a 600 mg e clitelados) foram colocados sobre a linha que divide os solos (Figura 9 A e B). Durante as 48 horas de ensaio, os oligoquetas foram mantidos sob temperatura de 22 °C em incubadora, com ciclos de luz:escuro de 16h:8h. Ao final do ensaio, verificou-se a porcentagem de oligoquetas presentes no solo-teste e no solo controle. Quando menos de 20% dos organismos eram encontrados no solo-teste, considerava-se que o solo tinha “função de habitat limitada” (ISO, 2008).

Os resultados foram expressos pela soma de organismos-teste/diluição-teste e controles e pelo cálculo do porcentual de fuga pela equação:

$$X = \frac{(n_c - n_t)}{N} \times 100$$

Onde

X = % de fuga

n_c = número de indivíduos no controle por réplica ou por todas as réplicas do controle

n_t = número de indivíduos na amostra-teste por réplica ou por todas as réplicas de solo-teste

N = número total de minhocas expostas por réplica ou total no controle.

Resultados negativos indicam não resposta ou atração para a amostra-teste e positivos indicam fuga para o controle.

Os ensaios com solo natural e as frações estudadas foram realizados após seis meses com os lotes por diluição-teste mantidos em condições simuladas de campo.



Figura 9. Aspecto do ensaio de fuga com *Eisenia andrei* com recipiente com minhocas recém-introduzidas: A – solo artificial tropical (SAT) e B – solo natural.

3.8.1.4 | Bioensaios realizados em diluições de resíduo com solo natural

3.8.1.4.1 | Bioensaio crônico de reprodução com *Folsomia candida*

Os ensaios de reprodução com colêmbolos foram conduzidos com cinco (5) réplicas contendo 10 organismos e 30 g de solo-teste (equivalente em peso seco) (ISO, 1999) (Figura 10 A). A umidade dos solos foi ajustada para 40-60% da capacidade de retenção máxima de água. Os recipientes-teste foram semanalmente abertos para aerar o sistema e ajustar a umidade (compensada por repesagem de cada recipiente-teste). Cerca de 25 mg de fermento granulado foi servido como alimento no início do ensaio. Quando necessário, mais alimento foi fornecido após o 14º dia de exposição. Após 28 dias de experimento, os recipientes-teste foram preenchidos com água,

sendo adicionadas algumas gotas de tinta azul. Após flutuarem sobre a superfície da água (por tensão superficial), os organismos sobreviventes adultos e jovens foram fotografados e contados (Figura 10 B).

Este ensaio foi realizado com uma amostra de solo natural (isenta de contaminação) coletada nas redondezas da unidade de tratamento do resíduo. As dosagens de resíduo aplicadas foram aquelas que não provocaram efeito letal significativo sob exposição aguda em solo artificial para *E. andrei*.

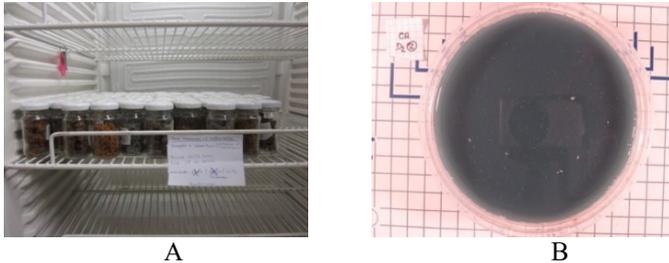


Figura 10. Aspecto do ensaio de reprodução com *Folsomia candida* (A); Contagem dos organismos em água, após 28 dias de exposição (B).

3.8.1.4.2 | Bioensaios realizados com *Eisenia andrei* e sementes de *Lactuca sativa*

Para os ensaios de toxicidade foram separados lotes por concentração-teste, em massa suficiente para a realização dos diferentes ensaios e organismo-teste (oligoquetas e sementes de alface), mantidos em temperatura de 22 ± 2 °C, umedecidos com água deionizada e desagregados semanalmente durante seis (6) meses, simulando condições de campo para a formação de DAM. Os ensaios foram realizados após um mês e seis meses.

Os ensaios foram realizados com cinco concentrações, com lotes de peso seco de 1500 g (ensaio agudo), 1200 g (ensaio de fuga) e 300 g (ensaio de brotamento): 5% (5% de resíduo + 95% de solo-referência); 10% (10% de resíduo + 90% de solo-referência), 20% (20% de resíduo + 80% de solo-referência), 40% (40% de resíduo + 60% de solo-referência) e 80% (80% de resíduo + 20% de solo-referência) mais dois controles com solo referência e SAT.

3.8.1.4.3 | *Bioensaios agudo com Eisenia andrei*

Para a validação dos ensaios foi utilizado como solo controle o Solo Artificial Tropical (SAT) (Garcia, 2004), composto por pó da fibra de casca de coco (proporção de 10%), caulim (proporção de 20%) e areia industrial peneirada (proporção de 70%). Como solo referência foi utilizado um solo da região sem contaminação com resíduos de carvão.

Os ensaios tiveram duração de 14 dias e seguiram as normas ABNT NBR 15537 (ABNT, 2014) e ASTM E 1676 (ASTM, 2004).

De cada lote de resíduos de diluição: solo natural, foram pesados 1,0 kg, umedecidos a 40-60% da Capacidade Máxima de Retenção de Água (CMRA), e pH medido em água (EMBRAPA, 1997). Os ensaios foram realizados em duplicata para todas as concentrações e triplicata para os controles. As réplicas continham 500 g de substrato (béqueres de 1 L), e após um período de aclimatação de 24 h em solo artificial, 15 invertebrados adultos (entre 300 e 600 mg e exibindo clitelo) de peso semelhante foram depositados na superfície. O mesmo procedimento foi realizado para os controles com solo artificial com pH ajustado com CaCO_3 a $6,0 \pm 0,5$, quando necessário.

Após a introdução dos organismos e vedação dos recipientes-teste com película plástica perfurada (ventilação), cada recipiente foi pesado semanal para reposição da umidade, com água deionizada, em

comparação com o peso inicial. As condições de ensaio foram: temperatura ambiente de 20 ± 2 C, ciclo claro/escuro controlado de 16h: 8h e sem alimentação.

Após 14 dias, as réplicas por diluição e controles foram vertidas em bandejas e os indivíduos sobreviventes foram contados, lavados em água e secos com papel absorvente; posteriormente, foram pesados e deixados por 24 horas em meio úmido para purgar o conteúdo intestinal para lavagem e congelamento.

Para validar o ensaio a mortalidade no controle deve ser $\leq 10\%$ dos organismos testados.

3.8.1.4.4 | *Ensaio de germinação de sementes de alface (ISO, 2005)*

Os ensaios foram realizados após seis meses com os lotes por concentração-teste mantidos em condições simuladas de campo.

Este ensaio avalia a capacidade do solo de sustentar a biota vegetal. Foram utilizados dois controles: um com solo natural e outro com meio de crescimento (areia com tamanho de grão entre 0,4 e 0,8 mm). Medições de pH e condutividade foram registradas no início e final do teste no controle de areia e no menor valor de concentração-teste e controle.

Para cada lote de diluições resíduo-solo natural, e controles, 300 mg foram divididos em três réplicas, e depositados aleatoriamente 40 sementes a 1 cm da borda do recipiente. As sementes foram pressionadas com o fundo de um béquer para serem imersas nas diluições e controles do ensaio. Após, água deionizada para aproximadamente 85% da CMRA foi pulverizada para umedecer; em seguida, as réplicas foram cobertas com 90 g de material de cobertura

(areia com tamanho de partícula entre 0,8 e 1,4 mm). Cada réplica foi colocada em sacos plásticos cheios de ar ambiente (Figura 11 A). E aleatoriamente organizado na câmara de germinação.

Condições de teste: temperatura de 20 ± 2 ° C e primeiras 48h de escuridão e os cinco dias restantes em ciclo claro/escuro controlado de 16h: 8h. Todos os dias a temperatura em uma das réplicas foi monitorada e o ar dos sacos plásticos foi renovado, sendo que o arranjo das réplicas era remanejado na incubadora.

No final do ensaio, o número de mudas emergidas por réplica e por diluição foi quantificado e o desvio padrão médio \pm por diluição calculado. Com esses valores foi calculado a CE50. O ensaio é considerado válido se 80% das sementes germinarem no controle (Figura 11 B).



A



B

Figura 11. Ensaio de brotamento de sementes de *Lactuca sativa*. A – recipiente-teste em saco repleto de ar ambiente; B – sementes brotadas em cada diluição-teste.

3.8.2 | Organismos aquáticos

3.8.2.1 | *Cultivo de Daphnia similis*

Os organismos foram cultivados em meio MS (ABNT, 2009), com pH entre 7 e 7,6, dureza entre 40 e 48 mg de CaCO_3/L e oxigênio dissolvido (O.D.) superior a 5 mg/L. Os cultivos foram mantidos em câmaras de B.O.D. na temperatura de 20 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 h de luz e 8 h de escuro, iluminação de 500 a 1000 lux, em recipientes de vidro de 2000 mL, contendo 60 indivíduos divididos em diferentes faixas etárias: 0-7 dias, 7-14 dias, 14-21 dias e 21-28 dias (Figura 12). O meio MS foi trocado duas vezes por semana. O cultivo foi alimentado diariamente com suspensão algácea de *Raphidocelis subcapitata*, na quantidade de 1 a 5×10^5 células por organismo.

Com o objetivo de avaliar a qualidade e padronização dos cultivos, mensalmente foram realizados ensaios de sensibilidade para o estabelecimento da faixa de sensibilidade a uma substância de referência. A substância de referência utilizada foi o cloreto de sódio (NaCl) (ABNT, 2009).



Figura 12. Cultivo de *Daphnia similis* em Camara de B.O.D.

3.8.2.2 | *Cultivo de Raphidocelis subcapitata*

O meio de cultivo utilizado foi o L.C. Oligo (ABNT, 2011), com pH entre 6 e 8 e oxigenação através de aeração constante fornecida por bombas de aquário. Os organismos foram mantidos em câmaras de B.O.D. na temperatura de 25 ± 2 °C, iluminação contínua de 4500 lux ($\pm 10\%$), em recipientes de vidro de 2000 mL contendo 1000 mL de meio de cultivo em cada recipiente (Figura 13). O meio de cultivo foi trocado uma vez por semana, mantendo o cultivo em fase exponencial de crescimento (ideal para a realização de ensaios ecotoxicológicos). Os recipientes de cultivo foram agitados diariamente, mantendo as células em suspensão, para maior aproveitamento dos nutrientes.

Após o preparo do meio L. C. Oligo, o mesmo era agitado em agitador magnético por 1 hora. Posteriormente, o pH do meio era ajustado para a faixa de 6-8 com ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio

(NaOH). Em seguida, o meio era autoclavado por 15 minutos a 121 °C e manuseado em ambiente asséptico. Antes do uso, a alga era centrifugada e o sobrenadante retirado, visando eliminar o excesso de meio. Consecutivamente, a alga era ressuspensa em Meio MS. Na sequência, as algas eram contadas em câmara de Neubauer, através de um microscópio ótico, com o objetivo de determinar o volume de alga que deve ser colocado como inóculo inicial nos ensaios.

Mensalmente foram realizados ensaios de sensibilidade com os organismos-teste para a avaliação da qualidade dos cultivos e o estabelecimento da faixa de sensibilidade a uma substância de referência. A substância de referência utilizada foi o cloreto de potássio (KCl) (ABNT, 2011).



Figura 13. Cultivo de *Raphidocelis subcapitata* em Camara de B.O.D.

3.8.2.3 | Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis*

Os ensaios seguiram a norma ABNT NBR 12713 (ABNT, 2009). O extrato solubilizado foi testado nas seguintes diluições: 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% e 3,12% (fator de diluição 2). O meio MS (*Metal Solution*, ABNT, 2009), o mesmo utilizado no cultivo dos

organismos, foi utilizado como água de diluição. Os controles foram expostos apenas à água de diluição. Vinte recém-nascidos com 6 a 24 horas foram divididos em quatro réplicas de cinco (5) organismos por concentração-teste e controle e expostos por 48 h (Figura 14). Os parâmetros pH e oxigênio dissolvido (O.D.) foram monitorados no início e no final dos ensaios para cada concentração-teste e controle.

O resultado do ensaio foi expresso pela concentração efetiva mediana (CE50, 48 h) para o período de 48 horas de exposição. A CE50 expressa a concentração estimada onde 50% dos organismos testados não sobrevivem ou ficam imóveis.



Figura 14. Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* em Câmara de B.O.D. com bandeja de madeira coberta com alumínio para proporcionar escuro às amostras.

3.8.2.4 | Ensaio de toxicidade crônica de inibição de crescimento de 96 h (ABNT, 2011) com a microalga *Raphidocelis subcapitata*

Os ensaios seguiram a norma ABNT NBR 12648 (ABNT, 2011). O extrato solubilizado foi testado nas mesmas diluições usadas para

Daphnia similis. O meio LC-Oligo (ABNT, 2011) foi utilizado como água de diluição, o mesmo meio utilizado no cultivo dos organismos. Os controles foram expostos apenas ao meio LC-Oligo (Figura 15).

Foi utilizado um inoculo de 3×10^5 células/mL proveniente de um cultivo em crescimento exponencial de sete (7) dias. O ensaio foi realizado em triplicata e teve duração de 96 h, temperatura de 24 °C, agitação de 130 rpm e iluminação constante.

O espectro de absorção a 675 nm (espectógrafo LaMotte, modelo Smart II) foi usado para calcular a densidade celular final. O efeito tóxico foi determinado comparando-se o número de células de algas na concentração-teste, em relação ao controle. O resultado foi expresso em concentração de inibição de 50% (CI50, 96 h), o que corresponde à concentração que causa 50% de inibição no crescimento das algas em relação ao controle ou Porcentagem de Inibição (%I), calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\%I = \frac{(Mc - Ms)}{Mc} \times 100$$

Onde:

%I: porcentagem de inibição do crescimento de algas;

Mc: número médio de células no controle e

Ms: número médio de células na amostra.



Figura 15. Ensaio de toxicidade crônica com *Raphidocelis subcapitata* em mesa agitadora orbital.

3.8.2.5 | *Análise estatística*

O programa utilizado para o cálculo da toxicidade aguda CE50 foi o *Trimmed Spearman Karber* e para a toxicidade crônica CI50 o *Linear Interpolation*. Para os testes estatísticos o Statistica 12.0.

3.9 | Proposta Metodológica de Balanço de Massa de Metais em Tecido de Minhocas (*Eisenia andrei*)

Para testar a metodologia do balanço de massas foram utilizados os resultados de quantificação de metais nos resíduos sólidos, em solução proveniente dos ensaios de lixiviação e em tecido das oligoquetas submetidas aos bioensaios nas doses 0% e 25%. Estas doses foram escolhidas porque mostram razão entre fração intermediária: solo de 25%, a mesma utilizada no ensaio de lixiviação. Os Fatores de Bioconcentração dos metais foram obtidos por meio da razão entre a concentração do metal no organismo vivo e a concentração nas misturas, no solo artificial, ou no lixiviado.

Os Fatores de Lixiviação foram calculados como sendo a razão entre a massa de metal presente em solução (lixiviado) e presente na fração intermediária.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 | Caracterização Química do Resíduo

Os pesos secos das três frações obtidas na espiral foram: leve (1,289 kg), intermediária (30,350 kg) e pesada (8,073 kg). A massa específica de cada fração foi leve ($2,2443 \text{ g/cm}^3$), intermediária ($2,5866 \text{ g/cm}^3$) e pesada ($3,1026 \text{ g/cm}^3$). Os difratogramas da fração pesada e da fração intermediária mostram os minerais de quartzo, kaolinita, muscovita, goetita, microclima, albita e pirita (FeS_2), sendo que apenas a pesada apresentou melanterita. A concentração de ferro, sulfato e enxofre pirítico, elementos formadores de pirita, diminuiu do pesado para fração intermediária, evidenciando a eficácia do tratamento realizado no resíduo para reduzir a quantidade de pirita.

A Tabela 2 apresenta os resultados da análise semiquantitativa por fluorescência de RX dos resíduos de alimentação e intermediário. Os óxidos encontrados expressam os elementos representados nas fases minerais determinadas na DRX e a presença de estéreis, com maiores concentrações dos óxidos de silício, alumínio e ferro.

Tabela 2. Resultados semiquantitativos obtidos utilizando espectrometria de fluorescência de RX nos resíduos estudados.

Composto	Tipo do Resíduo (%)	
	Alimentação	Intermediária
SiO ₂ (dióxido de silício)	39,7	47,1
Al ₂ O ₃ (óxido de alumínio)	21,5	25
Fe ₂ O ₃ (óxido de ferro)	8,9	4,0
K ₂ O (óxido de potássio)	1,48	1,68
TiO ₂ (dióxido de titânio)	0,77	0,93
CaO (óxido de cálcio)	0,56	0,49
MgO (óxido de magnésio)	0,51	0,62
Na ₂ O (óxido de sódio)	0,37	0,43
Cr ₂ O ₃ (óxido de cromo)	0,32	0,31
NiO (monóxido de níquel)	0,14	0,14
P ₂ O ₅ (pentóxido de fósforo)	0,13	0,08
Perda por Calcinação (PPC)	17,8	17,7

A Tabela 3 apresenta a determinação de parâmetros físico-químicos e os teores totais de metais obtidos em distintas frações do resíduo estudado. O resíduo *in natura* (alimentação) apresentou, como esperado, valor de pH mais baixo em comparação às frações intermediária e leve. Embora Amaral-Filho et al. (2009) tenham mostrado teor de pirita em torno de 10%, o tratamento aplicado foi capaz de diminuir o teor de pirita nas frações intermediária e leve, resultando em potencial de geração de DAM menos intensa (ou seja,

uma solução de pH menos ácido). O teor de carbono orgânico total (COT) na fração leve foi elevado (37%), valor este até quatro (4) vezes maior do que àqueles encontrados na fração alimentação e intermediária. Vale ressaltar que a fração leve apresenta baixa densidade e é majoritariamente composta por carvão (ou seja, matéria orgânica), fato este que justifica o alto valor encontrado para o COT.

Os teores de Fe, Al e Mn foram menores (até duas vezes menores para o Fe) nas frações leve em comparação às frações intermediárias e alimentação. Minerais de Fe, Al e Mn são, em geral, de elevada densidade e, portanto, é válido, de fato, supor que a ocorrência dessas assembleias minerais na fração leve seja menor. Além disso, o Fe associa-se à ocorrência de pirita, cuja concentração aparentemente também diminuiu na fração leve (conforme indicado pelo aumento do pH).

As concentrações de Cd ficaram abaixo do limite de detecção (0,01 mg/kg) nas frações alimentação, intermediária e leve e, por essa razão, não aparecem na Tabela 1. Com exceção do Cr, as concentrações de metais pesados na fração leve do resíduo foram menores se comparadas aos teores encontrados nas frações alimentação e intermediária, o que supostamente ratifica a eficiência do tratamento do resíduo visando disposição ambiental adequada. Vale ressaltar que os metais pesados apresentam elevada densidade e possuem forte afinidade com os sulfetos e, portanto, é de se esperar que suas concentrações na fração leve também sejam mais baixas. Por outro lado, é importante ressaltar que o Zn apresentou sua mais elevada concentração na fração intermediária (valor até duas vezes maior do que aquele determinado na alimentação e na fração leve). O cálculo dos IGEOs para a fração intermediária do resíduo indicou que todos

os metais se encontram na Classe 0 (“praticamente não-poluído”), a exceção do Pb que ficou na Classe 1 (“pouco a moderadamente poluído”).

Do ponto de vista toxicológico, o referido valor de IGEO para o Pb e a elevada concentração de Zn obtida na fração intermediária merecem posição de maior atenção, devido à reconhecida toxicidade destes metais (LUKKARI et al. 2005; SAVARD et al. 2007). Contudo, de forma geral, as concentrações de metais diminuíram apenas para a fração leve (exceto Cr), e o decréscimo das concentrações de metais da fração alimentação para a intermediária não foi importante. Outra constatação a ser ressaltada é que as concentrações de metais nas distintas frações se encontram muito acima dos valores encontrados por Cesar et al. (2013), que estudaram uma amostra de resíduo coletado em pilha ao céu aberto na bacia do Rio Urussanga (sul de SC), e relataram a ocorrência de toxicidade do resíduo para *Lactuca sativa* (alface) e *Daphnia similis* (cladóceros de água doce).

Tabela 3. Concentração de metais e parâmetros físico-químicos das frações alimentação, intermediária e leve do resíduo de mineração de carvão e valores obtidos em resíduo estudado por Cesar et al. (2013). COT= carbono orgânico total.

Parâmetros	Frações			Cesar et al. (2013)
	Alimentação	Intermediária	Leve	
pH (H ₂ O)	3,80	4,60	4,71	3,40
COT(%)	8,1	6,6	37,2	-
Al (%)	11,1	11,0	9,5	-
Fe (%)	4,4	4,1	2,2	-

Tabela 3 a. Concentração de metais e parâmetros físico-químicos das frações alimentação, intermediária e leve do resíduo de mineração de carvão e valores obtidos em resíduo estudado por Cesar et al. (2013). COT= carbono orgânico total.

Parâmetros	Frações			Cesar et al. (2013)
	Alimentação	Intermediária	Leve	
Mn (mg/kg)	72,0	73,1	53,5	-
Zn (mg/kg)	62,4	129,0	58,7	0,06
Cu (mg/kg)	28,5	27,0	21,6	2,70
Pb (mg/kg)	61,4	57,1	48,5	36,40
Ni (mg/kg)	20,5	21,2	18,4	-
Cr (mg/kg)	50,9	50,8	58,4	30,80

Os resultados das análises químicas e físico-químicas realizadas nos resíduos e no solo natural (Tabela 4) identificaram redução na concentração de alguns elementos e íons. A concentração de ferro e enxofre, elementos formadores da pirita, diminuiu da fração alimentação para a intermediária. O sulfato (indicativo indireto de geração de DAM) também foi reduzido, porém a concentração continua elevada na fração intermediária, representando potencial para formação de DAM. Alguns metais pesados também tiveram suas concentrações reduzidas. O decréscimo do enxofre pirítico acarretou diminuição do Potencial de Geração de Acidez (PGA) no resíduo intermediário.

O solo natural utilizado não apresenta concentrações dos elementos com valores orientadores no CONAMA 420 (CONAMA, 2009) acima da categoria de prevenção (Tabela 4).

Tabela 4. Concentrações de alguns elementos e do íon sulfato e matéria orgânica nos resíduos de alimentação e intermediário e no solo natural. COT = carbono orgânico total; MO = matéria orgânica; PGA = Potencial de Geração de Acidez. * CONAMA (2009).

Elementos e íon	Resíduo (mg/kg)		Solo natural (mg/kg)	CONAMA
	Alimentação	Intermediário		420* Prevenção solo (mg/kg)
Al	93000	105000	28000	-
Ba	219	204	81,5	150
C	66000	122000	7500	-
COT	65000	111000	-----	-
Cd	< 0,4	< 0,4	< 0,4	1,3
Cr	37,8	45,4	17,6	75
Cu	32,8	21,7	9,1	60
Fe	56000	18000	33000	-
Hg	< 1,0	< 1,0	< 1,0	0,5
Mn	83,1	76,1	54,7	-
N _{total}	1700	2300	800	-
Ni	22,8	12,9	3,8	30
Pb	71,8	34,5	11,2	72
S _{total}	76000	1100	700	-
S _{pirítico}	6030	1000	-----	-
S _{sulfático}	1570	100	-----	-
SO ₄	181000	30000	< 1000	-
V	93,4	110	60,9	-
Zn	236	58,7	8,2	300
MO (%)			1,2	
Pirita (%)	5,88	0,38	0,26	
pH	2,82	3,50	2,75	
PGA	237,5	34,37	21,87	

As análises químicas realizadas no solubilizado (ABNT, 2004) utilizado nos ensaios com organismos aquáticos apresentaram diminuição da concentração da maioria dos elementos analisados (Tabela 5).

Os valores do pH dos solubilizados com as frações alimentação e intermediária foram 2,88 e 3,17, respectivamente. Esses valores de pH estão fora dos limites de tolerância dos organismos testados (6,0 a 9,0) e foi necessário fazer o ajuste de pH com uma solução concentrada a 20% de NaOH, que foi acrescida ao solubilizado até atingir um pH próximo a neutralidade. Porém, ao ser ajustado o pH para estes valores ocorria precipitação de alguns íons presentes na solução, especialmente aqueles que não se mantêm dissolvidos a pHs abaixo de 6,0, com aumento da turbidez das amostras (Figura 15).

Tabela 5. Concentrações de elementos dissolvidos no solubilizado obtido com os resíduos bruto e misto.

Elementos	Solubilizado (mg/L)	
	Resíduos	
	Alimentação	Intermediário
Al	43,8	1,2
Ba	< 0,002	< 0,002
Cd	< 0,001	< 0,001
Cr	< 0,01	< 0,01
Cu	0,26	< 0,02
Fe	619	28,4
Hg	< 0,02	< 0,02
Mn	6,6	3,1

Tabela 5A. Concentrações de elementos dissolvidos no solubilizado obtido com os resíduos bruto e misto.

Elementos	Solubilizado (mg/L)	
	Resíduos	
	Alimentação	Intermediário
Ni	1,5	0,29
Pb	< 0,03	< 0,03
S	755	191
V	< 0,01	< 0,01
Zn	1,3	0,79

4.2 | Caracterização Química das Misturas Solo Artificial: Resíduo

A Tabela 6 apresenta a determinação do pH, da capacidade de retenção de água (CRA) e as concentrações totais de metais obtidas nas misturas de diferentes proporções de solo artificial com a fração intermediária do resíduo. Os dados mostram a redução do pH das misturas com o incremento de dose, sugerindo que adição do resíduo ao solo foi capaz de acidificá-lo. A CRA decresce com o incremento de dose, uma provável consequência da textura arenosa do resíduo.

As concentrações de metais nas misturas solo:resíduo estão em concordância com valores propostos pela Resolução 420 do CONAMA (2009), que estabelece as diretrizes para a qualidade de solos no Brasil. Por outro lado, as concentrações de Zn (nas doses de 24 e 50%) e de Pb (nas doses de 12, 24 e 50%) excederam o valor referência proposto por CETESB (2016), que diz respeito ao *background* de geoquímica de solos do Estado de São Paulo, mas não os valores de prevenção. Os Fatores de Contaminação (FC) mostram

que houve incremento da concentração de metais com o aumento de dose de resíduo no solo. Contudo, tais incrementos foram aparentemente maiores para o Ni e o Cr. No caso destes metais, tais valores chegam a indicar um incremento de até quatro (4) vezes da concentração do metal. Estes resultados merecem posição de maior atenção, devido à toxicidade dos elementos supracitados e do elevado incremento relativo com o aumento de dose de resíduo no solo.

Tabela 6. Concentração de metais e parâmetros físico-químicos nas misturas de solo artificial com a fração intermediária do resíduo de mineração de carvão. CRA = capacidade de retenção de água. SL = concentração no solo em mg/kg. FC = fator de contaminação. * - valores acima de CETESB (2016).

Doses (%)	pH	CRA (%)	Zn		Cu		Pb		Ni		Cr	
			SL	FC	SL	FC	SL	FC	SL	FC	SL	FC
0												
6	5,61	68,57	48,60	-	6,80	-	13,00	-	2,90	-	7,20	-
12	5,36	69,91	53,42	1,10	8,01	1,18	15,65	1,20	4,00	1,38	9,82	1,36
24	4,93	61,70	58,25	1,20	9,22	1,36	18,29*	1,41	5,10	1,76	12,43	1,73
50	4,77	54,59	67,90*	1,40	11,65	1,71	23,58*	1,81	7,29	2,5	17,66	2,45
	4,60	51,81	88,80*	1,83	16,90	2,49	35,05*	2,70	12,05	4,16	29,00	4,03
Referência (CETESB, 2016)			60		35		17		13		40	
Prevenção (CONAMA, 2009)			300		60		72		30		75	
Investimento Industrial (CONAMA, 2009)			2000		600		900		130		400	

4.3 | Bioensaios

4.3.1 | Bioensaios agudos com minhocas (*Eisenia andrei*)

A Tabela 7 apresenta as variações de biomassa de *E. andrei* e os valores do Fator de Bioconcentração (FBC) obtidos para as misturas de solo artificial e fração intermediária do resíduo, após 14 dias de exposição. Os resultados desses bioensaios agudos revelaram a ausência significativa de mortalidade e de perda de biomassa dos organismos testados, indicando baixa ecotoxicidade aguda para os oligoquetas e corroborando a segunda hipótese de trabalho.

A determinação dos teores de metais nos tecidos dos animais e seus respectivos fatores de bioconcentração (FBC) indicaram, em geral, baixa captação biológica dos metais estudados ($FBC < 0,5$), em concordância com a baixa toxicidade observada.

As concentrações dos metais Zn, Pb e Cr nos tecidos biológicos praticamente não variam em função do incremento de dose. As concentrações teciduais de Cu dobram entre as doses 0% e 50%, enquanto as concentrações teciduais de Ni se mantem constante nas doses de 0% e de 25% mas incrementam quase 50 vezes na dose de 50%, indicando a necessidade de confirmação deste resultado.

Os teores de Zn são em torno de 10 vezes mais elevados do que os demais metais estudados. Vale salientar que este é um metal essencial ao metabolismo das minhocas e desempenha papel importante no crescimento e regeneração dos tecidos desses invertebrados (LUKKARI et al. 2005). Por isto, é válido supor que as concentrações observadas sejam biologicamente aceitáveis. O Cu, apesar de também ser um metal essencial, mostra concentrações teciduais praticamente uma ordem de grandeza abaixo do Zn e valores de FBC abaixo da unidade em todas as doses testadas, indicando baixa biodisponibilidade sob as condições testadas, embora dobre a sua concentração tecidual na maior dose testada. Provavelmente, tais concentrações são não adversas.

Prováveis hipóteses para a baixa biodisponibilidade dos metais mesmo com o incremento de dose de resíduo no solo podem estar associadas a: (i) mecanismos de saturação pelos organismos, isto é, o organismo já acumulou o máximo tolerável pelo metabolismo e, por esta razão, passa a depurar o metal e/ou a não mais absorver. Esta hipótese justifica, em parte, a obtenção de um FBC acima de uma unidade no solo artificial puro (0%) para o Zn, tendo em vista que as minhocas já contam naturalmente com altas reservas metabólicas

de Zn para futuras demandas fisiológicas (LUKKARI et al. 2005); e (ii) boa parte dos metais podem estar retidos na estrutura cristalina dos grãos do resíduo e, portanto, pouco disponíveis para captação biológica.

Cesar et al. (2013), ao estudarem a toxicidade aguda de um resíduo de mineração de carvão (oriundo da região carbonífera sul catarinense) em misturas com solos artificiais, também encontraram níveis baixos de mortalidade e de perda de biomassa de oligoquetas, bem como baixa biodisponibilidade de metais. Naquela ocasião, os autores atribuíram à baixa toxicidade ao fato de que os resíduos se encontravam ao céu aberto, e boa parte dos metais já havia sido lixiviada, uma vez que os teores de metais resultaram abaixo dos observados no presente trabalho. Ainda, os referidos autores também reportaram altos valores de FBC para o Zn e o Cu, e os justificaram com base na essencialidade desses metais à fisiologia dos oligoquetas. No caso do presente estudo, os FBCs para Cu foram baixos, mas as concentrações do metal incrementaram na maior dose testada. A menor biodisponibilidade de Cu no presente trabalho, em comparação ao resíduo estudado por Cesar et al. (2013) pode estar associada à presença do Cu em assembleias minerais (uma vez que se trata de rejeito não lixiviado) e, portanto, pouco biodisponíveis.

Castilhos et al. (2010) determinaram o pH e as concentrações de metais em solos aluviais impactados pela atividade da mineração na região carbonífera sul catarinense. Tais valores foram semelhantes àqueles encontrados nas misturas solo:resíduo deste presente estudo. Por outro lado, Castilhos et al. (2010) indicaram a ocorrência de toxicidade aguda (morte e perda de biomassa) para *Eisenia andrei* em algumas amostras, em correlação positiva com o decréscimo do pH. Esta constatação realça a importância do uso de solos locais na avaliação da ecotoxicidade, tendo em vista que parâmetros como pH, Eh, condutividade elétrica, mineralogia das argilas, oxi-

hidróxidos de ferro e alumínio, matéria orgânica, dentre outros, desempenham papel de suma importância na toxicidade e na mobilidade geoquímica da contaminação (MATZKE et al. 2008; CESAR et al. 2012; CESAR et al. 2014; Vezzone et al. 2018). Esta avaliação preliminar da toxicidade do resíduo, em solos artificiais, faz-se importante para comparação e padronização de resultados servindo como *screening* e apoio ao estabelecimento de estratégias analíticas a serem adotadas em ensaios com solos reais.

Tabela 7. Variações da biomassa de *Eisenia andrei* e fatores de bioconcentração (FBC) de metais obtidos em bioensaios agudos utilizando solos artificiais tratados com diferentes doses da fração mista do resíduo de mineração de carvão.

Diluições (%)	Biomassa (%)	FBC				
		Zn	Cu	Pb	Ni	Cr
0	91,00±1,07	1,58	0,22	0,15	0,10	0,49
6	93,03±2,20	1,14	0,35	0,13	0,08	0,29
12	89,23±2,54	0,72	0,20	0,11	0,06	0,18
24	88,60±3,63	1,26	0,10	0,08	0,04	0,12
50	91,99±4,05	0,83	0,30	0,06	1,12	0,06

4.3.2 | Bioensaios de fuga com minhocas (*Eisenia andrei*)

A Figura 16 apresenta os resultados referentes ao ensaio de fuga com minhocas e misturas de diferentes proporções de solo artificial com a fração intermediária do resíduo. Nenhuma das doses testadas foi capaz de limitar a função de habitat, indicando baixa toxicidade. Além disso, nenhuma das respostas de fuga pode ser considerada significativa, já que elas não ultrapassam o valor de 60%. Estes dados concordam com os dados de toxicidade aguda, que também sugerem baixa toxicidade e baixa biodisponibilidade de metais.

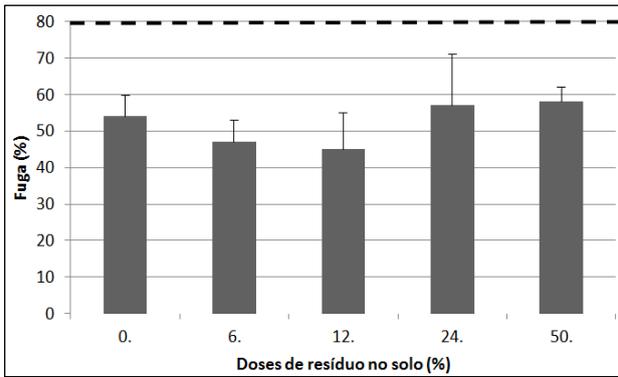


Figura 16. Porcentagem de fuga de *Eisenia andrei* (após 48 horas de exposição) em misturas de diferentes proporções de solo artificial e a fração intermediária do resíduo de mineração de carvão. A linha tracejada representa o limite para o comprometimento da função de habitat do solo.

4.3.3 | Bioensaios crônicos com minhocas (*Eisenia andrei*)

A Figura 17 apresenta os resultados dos bioensaios crônicos com *E. andrei* nas misturas entre o solo e a fração intermediária do resíduo. Os resultados indicam redução significativa da biomassa dos animais adultos para dosagem de 50% após 28 dias de exposição, sugerindo que os animais estavam em condições de estresse. Os dados ainda indicam redução significativa da reprodução para as duas maiores dosagens testadas (24 e 50%), apontando um eventual comprometimento da perpetuação da espécie. Contudo, vale ressaltar que a ocorrência significativa de toxicidade crônica foi detectada somente para as misturas com dosagens mais elevadas de resíduo. Porém esta toxicidade pode ter sido induzida pela escassez de alimento (mesmo considerando o esterco servido durante o ensaio, já que este foi igualmente adicionado a todos os tratamentos) ou por mudanças na estrutura física do solo, e não necessariamente pela

presença de metais ou pela geração de DAM. Vale ressaltar que, embora a concentração de COT na fração intermediária seja alta (6,6%), esta é predominantemente refratária e, portanto, não necessariamente serve de alimento aos organismos.

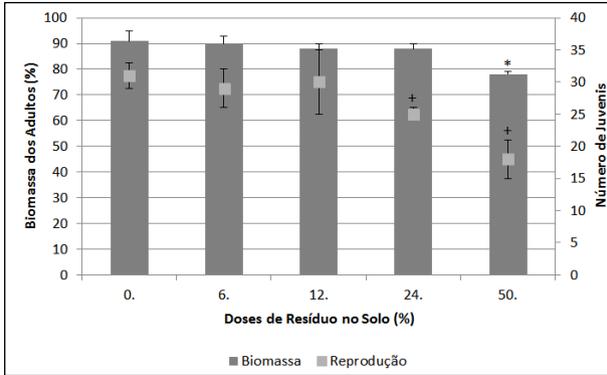


Figura 17. Variações da biomassa dos organismos adultos (após 28 dias de exposição) e número de juvenis obtidos em bioensaio crônico de reprodução com *Eisenia andrei* utilizando misturas de diferentes proporções de solo artificial e a fração intermediária do resíduo de mineração de carvão. * e + = biomassa e reprodução, respectivamente, diferentes do controle ($p < 0,05$; Kruskal-Wallis).

4.3.4 | Bioensaios crônicos de reprodução com colêmbolos (*Folsomia candida*)

A Figura 18 apresenta os resultados dos bioensaios crônicos com *F. candida* e mistura de solo natural com a fração intermediária do resíduo. Semelhantemente às minhocas, não houve morte significativa dos indivíduos adultos após os 28 dias de exposição, sugerindo baixa toxicidade. A menor dosagem testada indica um incremento da reprodução de colêmbolos, ou seja, em baixas dosagens de aplicação, aparentemente o resíduo foi capaz de melhorar a

performance dos animais. Neste sentido, é válido destacar que a fração intermediária do resíduo é de textura predominantemente grosseira, e sua adição ao solo pode aumentar a porosidade, permeabilidade e a aeração do solo. De forma semelhante, efeitos significativos sobre a reprodução foram somente detectados para as duas maiores doses testadas (24 e 50%).

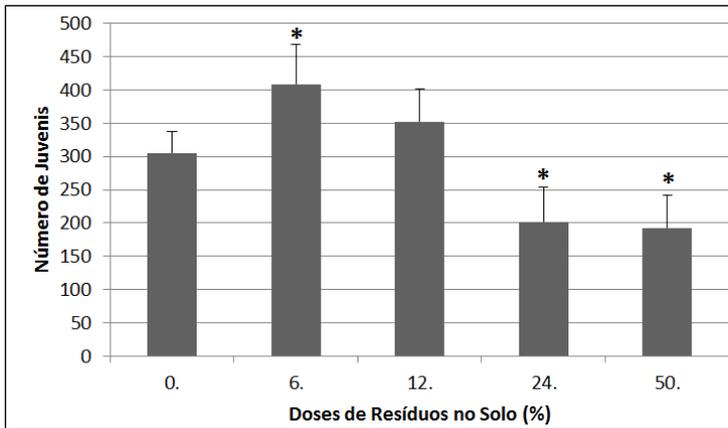


Figura 18. Número de juvenis de *Folsomia candida* em bioensaio de reprodução. * = reprodução significativamente diferente do controle ($p < 0,05$; Kruskal-Wallis).

4.3.5 | Ensaio de toxicidade aguda com *Eisenia andrei*: Comparação entre resíduo e fração intermediária e exposição ambiental das matrizes sólidas por UM e SEIS meses.

Indivíduos de *Eisenia andrei* colocados nas réplicas dos resíduos de 80%, 40% e 20% nas diluições solo natural:fração alimentação, com exposição a condições mimetizadoras ambientais por um (01) e seis (06) meses, não penetraram nas amostras, evitaram contato com o substrato tentando permanecer nas bordas dos recipientes-teste, e morreram nas primeiras horas, ainda na superfície das réplicas. Nos ensaios realizados no sexto mês os resultados obtidos foram semelhantes aos do primeiro mês. Não foi possível o cálculo da CE50 por que os resultados não foram válidos devido a perda de biomassa superior a 20% no controle com solo artificial tropical (SAT).

Os ensaios realizados com a fração intermediária, por outro lado, não foram tóxicos para os organismos em qualquer uma das diluições testadas nos dois meses testados (Figura 19 A). Nos ensaios realizados no sexto mês (2016) houve uma menor sobrevivência nas maiores concentrações-teste, sendo a menor sobrevivência a concentração de 40%

Foi observado efeito sub-letal significativo ($p = 0,01$), perda de biomassa, no final do ensaio com resíduo intermediário em um (1) mês (Figura 19 B).

Nos ensaios com o controle de solo referência a mortalidade observada foi $\leq 7\%$ dos organismos testados e não houve diferença significativa nos efeitos sub-letais nos ensaios realizados ($p = 0,109$) (Figuras 3 e 4).

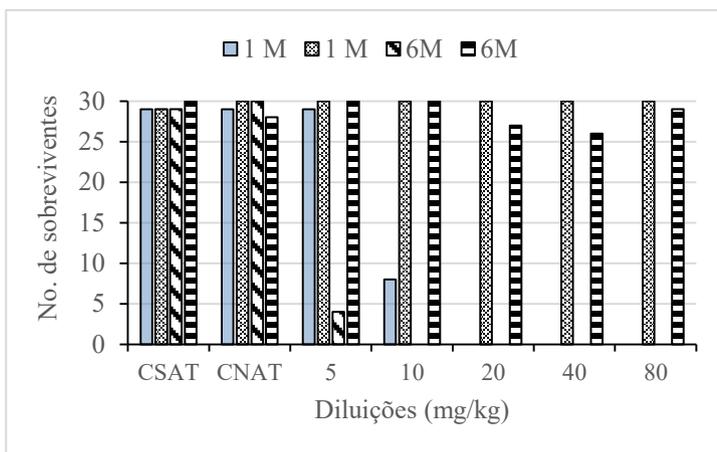


Figura 19 A. Organismos sobreviventes (total = 30 organismos) por diluição. Controle com solo natural (CNAT) e solo artificial tropical (CSAT) e resíduo:solo alimentação (Alim), fração intermediária:solo natural (Inter), um mês (1M), seis meses (6M). * - ensaio não válido por perda de biomassa no CSAT acima de 20%.

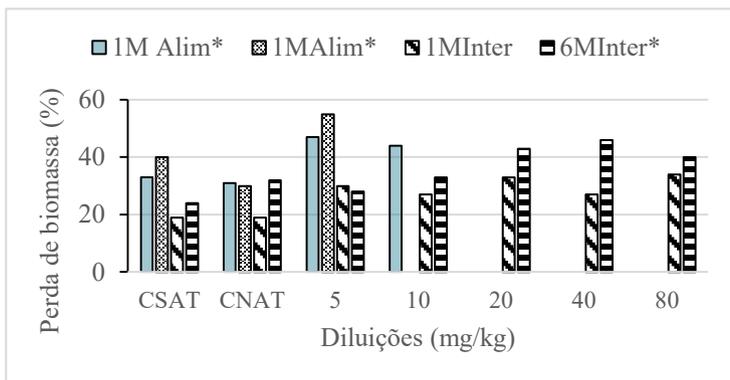


Figura 19 B. Perda de biomassa (%) em relação ao início do ensaio, por diluição. Controle solo natural (CNAT) e controle solo artificial tropical (CSAT), fração resíduo:alimentação (Alim) e fração resíduo:intermediária (Interm), um mês (1M), seis meses (6M). * - ensaio não válido por perda de biomassa no CSAT acima de 20%.

Os valores de pH medidos nas diluições resíduo:solo são apresentados na Figura 20 A e B. Os valores de pH foram baixos em ambas as diluições fração alimentação:solo e fração intermediária:solo e solos controles. O valor da média dos pHs iniciais nos ensaios com fração alimentação foi $2,99 \pm 0,33$ (2,57 a 3,36) e final $3,97 \pm 0,76$ (3,35 a 5,1) (Figura 20 A). No teste *t* de amostras dependentes o valor inicial não foi significativamente diferente do final ($t = - 2,155$, $p = 0,097$). O valor da média dos pHs iniciais nos ensaios com a fração intermediária foi $3,92 \pm 0,20$ (3,64 a 4,11) e do final $4,1 \pm 0,25$ (3,79 a 4,4) (Figura 20 B). No teste *t* de amostras dependentes o valor inicial não foi significativamente diferente do final ($t = - 1,000$, $p = 0,374$). No teste *t* de amostras dependentes as médias dos pHs iniciais das duas frações testadas foram significativamente diferentes ($t = - 4,660$, $p = 0,009$), mas as finais não ($t = - 0,512$, $p = 0,636$). Aparentemente o pH não é o fator responsável pela mortalidade dos organismos.

Embora o pH inicial do solo natural no ensaio com a fração alimentação estivesse a 2,75 (Figura 20 A) não foi observada toxicidade aguda nos solos naturais nos ensaios realizados com os dois resíduos (Figura 19 A).

A acidez das diluições com a fração alimentação (Figura 21) aumenta com maior adição de resíduo enquanto com a fração intermediária não houve grande diferença entre as diluições. Embora exista uma diferença significativa entre os pH iniciais dos dois tipos de frações estudadas (Figuras 18 A e B) a mortalidade observada acima de 10% no ensaio agudo com a fração alimentação (Figura 18 A) parece estar relacionada a diferença da acidez do que do pH (Figura 21).

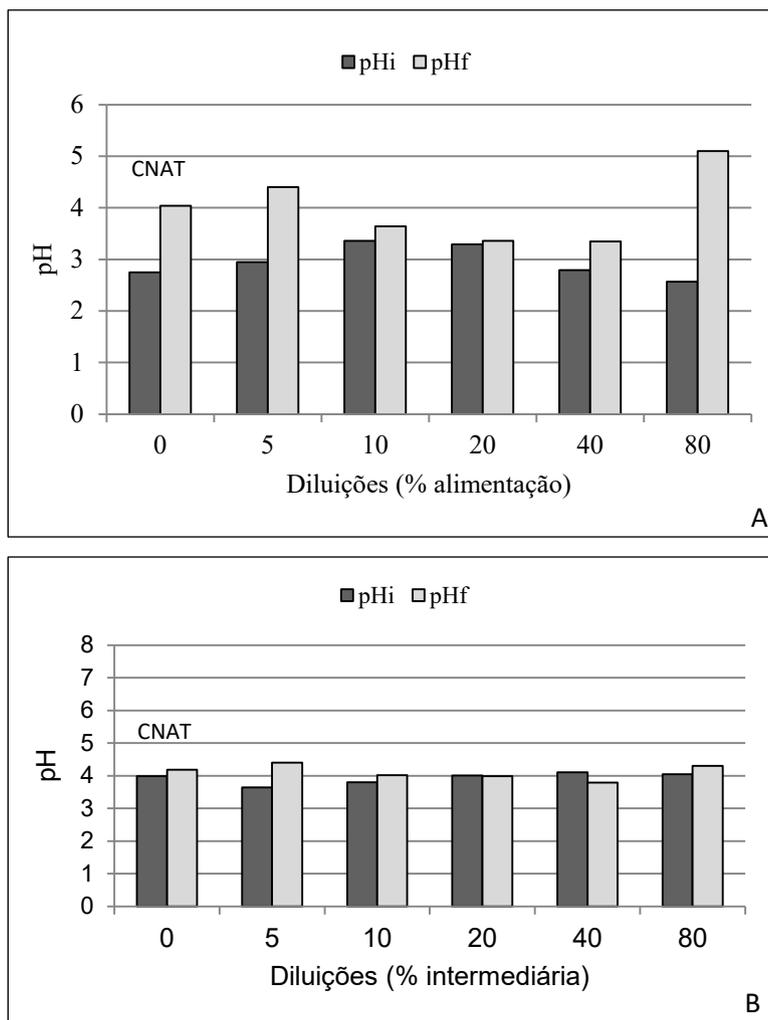


Figura 20. Valores de pH iniciais (pHi) e finais (pHf) observados nos ensaios agudos de 14 dias com o oligoqueta *Eisenia andrei* realizados com amostras da fração alimentação (A) e intermediária (B). CNAT = solo natural.

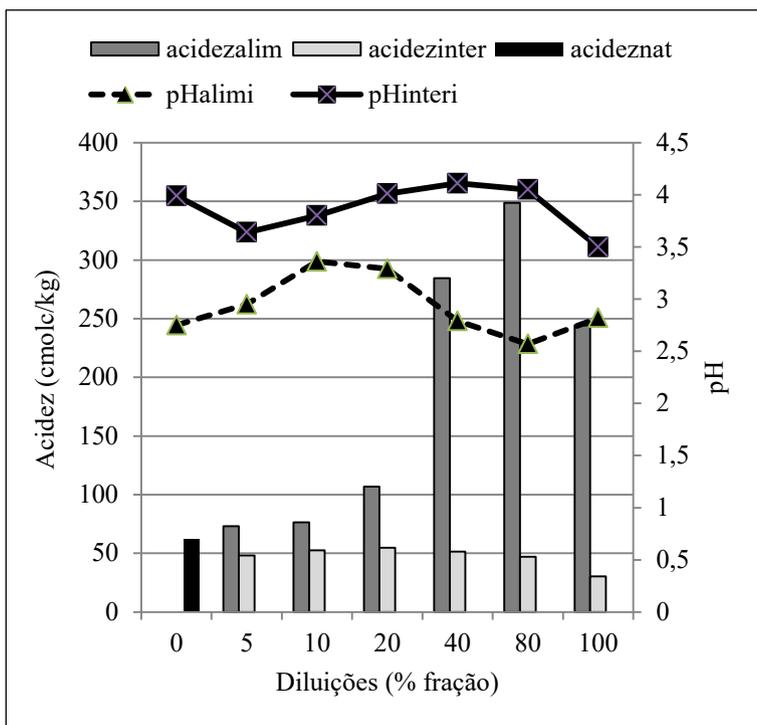


Figura 21. Valores de acidez e pH iniciais encontrados no solo natural (controle) e nas diluições resíduo:solo natural utilizadas nos ensaios com organismos terrestres. Acidezalim = acidez na fração alimentação; acidezinter = acidez na fração intermediária; acideznat = acidez no solo natural; pHalimi = pH inicial no ensaio com a fração alimentação; pHinteri = pH inicial no ensaio com a fração intermediária.

Esses resultados evidenciam a eficácia do tratamento realizado na fração alimentação para redução da quantidade de pirita levando a maior sobrevivência na fração intermediária. Rocha et al. (2015) avaliaram este mesmo resíduo tratado utilizando o solo artificial tropical (SAT) e observaram redução da toxicidade aguda nas diluições abaixo de 5%.

4.3.6 | Ensaio de fuga

Nos ensaios realizados com os dois tipos de fração, os organismos apresentaram comportamento diferenciado (Figura 22 A), com maior porcentagem de organismos e de fuga (Figura 22 B) no solo controle, nas diluições de fração alimentação, a partir da concentração 10%. Enquanto na fração intermediária apresentaram resposta negativa, evitando o solo controle e se deslocando para as diluições da fração em porcentagens acima de 85%, zero (20 e 40%) ou negativas de fuga, a partir da concentração 5%. A ausência de organismos em solo controle é classificada como 0% de fuga (ABNT, 2011).

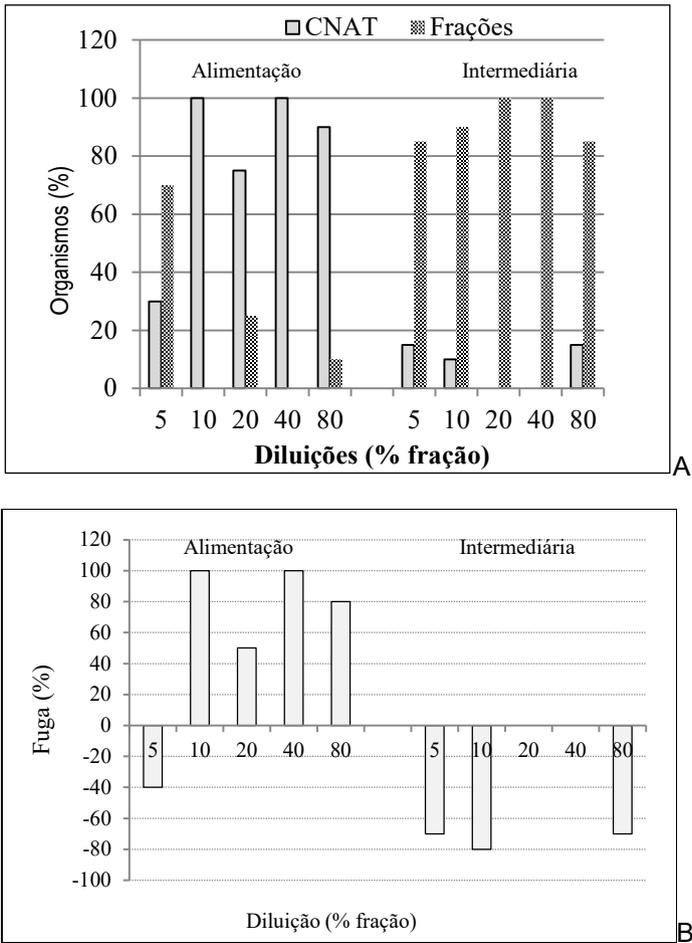


Figura 22. Ensaio de fuga com solo natural como controle e frações alimentação e intermediária. A – Porcentagem de organismos; B – Porcentagem de fuga.

Este comportamento de resposta negativa evidencia que a fração intermediária não provocou evitamentos pelos organismos.

Nos ensaios de duplo-controle a distribuição dos organismos nos dois lados do recipiente-teste foi aproximadamente igual em ambos os lados.

4.3.7 | Ensaio de Germinação de *Lactuca sativa*

Os ensaios de brotamento com sementes de alface evidenciaram que para plantas o solo natural e as diluições fração alimentação:solo natural apresentaram toxicidade em relação as diluições fração intermediária:solo natural (Figura 23). A maior porcentagem de fração intermediária (80%) apresentou maior porcentagem de brotamento em relação ao SAT.

Dois fatores podem estar associados a este resultado: a menor acidez (Figura 21) observada nas diluições da fração intermediária e a presença de nutrientes essenciais às plantas (Tabelas 2 e 4). A acidez causa, principalmente, diminuição na disponibilidade de cátions nutrientes (Ca, Mg, K) e aumento na solubilidade de cátions tóxicos (H, Al e Mn) (MORAES NETO, 2009). Para o completo ciclo de vida das plantas é necessário a disponibilidade de elementos como o carbono (e energia) através da fotossíntese e nutrientes minerais através da solução do solo.

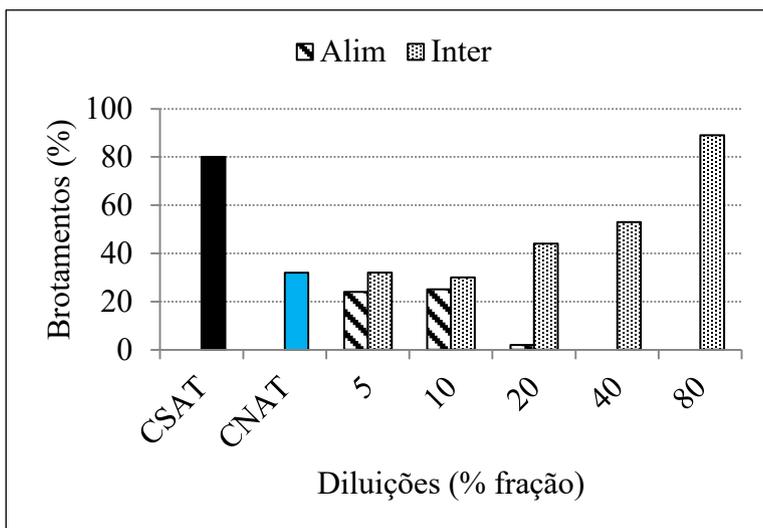


Figura 23. Ensaio de germinação de sementes de alface com diluições fração: solo natural (CNAT), solo artificial tropical (CSAT), fração alimentação:solo natural (Alim) e fração intermediária: solo natural (Inter).

4.3.8 | Ensaio agudo com *Daphnia similis*

Nos ensaios de *Daphnia* (Tabela 8) com o solubilizado com a fração intermediária com pH ajustado não foi observado toxicidade aguda e o pH ajustado inicial se manteve próximo a neutralidade até o final do ensaio, o pH inicial e final não foram diferentes significativamente.

Tabela 8. Letalidade de *Daphnia similis* sob exposição a fração alimentação ou fração intermediária.

Solubilizado 1:4 (amostra: água deionizada)				
Daphnia	Porcentagem de organismos imóveis ou mortos			
Tipo de amostra	Fração intermediária		Fração alimentação	
Filtração 45 µm				Filtrado
pH ajustado	6,0	6,0	6,0	6,0
t (pH inicial x final)	P = 0,088	P = 0,000	P = 0,227	P = 0,403
Cor	Laranja	Laranja	Laranja	Transparente
% Solubilizado/Ensaio	1	1	2	3
0	0	0	0	0
6,25	0	100	0	-
12,5	0	100	45	0
25	0	100	95	90
50	0	100	100	100
75	-	-	-	100
100	0	100	100	100
CE50 (IC 95%)	Não tóxico	tóxico	13,02 (10,95- 15,48)	18,60 (16,90- 18,60)

Na tentativa de remover elementos que favorecessem a instabilidade do pH (p. ex. o ferro) foi realizada a filtração no solubilizado com a fração alimentação após cada ajuste de pH e foi observada redução da turbidez (Figura 15) do solubilizado testado e manutenção do pH inicial próximo da neutralidade, não houve diferença significativa entre o pH inicial e final (Tabela 8). A CE50% calculada foi menos tóxica que a do solubilizado não filtrado.

Os resultados obtidos com o solubilizado foram semelhantes aos obtidos nos ensaios com os resíduos sólidos (Figuras 19 A, 22 e 23) onde foi observada toxicidade em concentrações acima de 10% do

solubilizado da fração alimentação e o solubilizado da fração intermediária não foi tóxico. Porém, o ajuste do pH realizado para a realização dos ensaios demonstra que o potencial de formação da DAM não diminuiu na fração intermediária.

4.3.9 | Ensaio crônico de inibição de crescimento de *Raphidocelis subcapitata*

Um aspecto preponderante em ensaios com algas é o fato de o pH aumentar no final dos ensaios devido ao crescimento algáceo. Este aspecto pode favorecer a precipitação de elementos dissolvidos em valores de pH acima da neutralidade, tornando indisponíveis elementos tóxicos. Por outro lado, a turbidez decorrente desta precipitação pode obstruir a entrada de luz prejudicando o crescimento algáceo.

No ensaio com solubilizado com a fração intermediária não filtrada, a turbidez, decorrente da precipitação de alguns elementos e íons tóxicos dissolvidos pelo aumento do pH final podem ter influenciado o crescimento de algas, resultando em maior toxicidade sobre o ensaio com o solubilizado filtrado (Tabela 9). Neste último, não foi observada inibição de 100% na maior diluição testada, provavelmente devido ao aumento da entrada de luz e à remoção por filtragem de alguns elementos dissolvidos e íons tóxicos precipitados pelo aumento do pH final. Conclui-se que a fração intermediária melhora o desempenho do resíduo quando filtrado, pois, decresce a toxicidade.

Nos ensaios com o solubilizado com a fração alimentação o pH inicial e final tiveram comportamento diferente entre o não filtrado e filtrado (Tabela 9). No primeiro o pH final aumentou em todas as diluições testadas, enquanto no segundo, o pH final nas diluições acima de 12,5% diminuíram alcançando o valor de 2,69 na diluição 100%. No ensaio não filtrado também não foi observada porcentagem de

inibição de 100% na maior diluição testada. Aparentemente, o aumento do pH e a conseqüente precipitação de elementos tóxicos dissolvidos, pode ter influenciado na menor toxicidade observada. No ensaio com filtração a diminuição vertiginosa do pH foi o fator preponderante para a toxicidade observada.

Tabela 9. Ensaio de toxicidade crônica com *Raphidocelis subcapitata* expostos ao resíduo e à fração intermediária (CI=concentração de inibição).

Solubilizado 1:4 (amostra: água deionizada)				
<i>Raphidocelis</i>		Porcentagem de inibição		
Tipo de amostra	Fração intermediária	Fração alimentação		
		Filtrado	Filtrado	
Filtração 45 µm pH ajustado	7,0	6,0	7,0	6,0
<i>t</i> (pH inicial x final)	P = 0,015	P = 0,884	P = 0,002	P = 0,161
Cor	Laranja	Laranja	Laranja	Transparente
% Solubilizado/Ensaio	1	2	1	2
3,12	-	-	-	-2,56
6,25	-	-	15,16	95,98
12,5	35,14	22,69	17,18	99,56
25	63,30	35,79	15,49	100,41
50	74,46	67,73	32,07	102,07
75	91,47	68,87	-	102,21
100	100	68,87	42,87	102,21
CI50 (IC 95%)	18,86 (14,98-24,33)	36,12 (30,78- 38,78)	37,32 (28,68- 43,22)	4,56 (4,39-4,57)

Como observado nos ensaios com *Daphnia*, o ajuste do pH foi necessário para a realização dos ensaios devido aos limites de tolerância dos organismos testados (pH de 6 a 9), demonstrando que o potencial de formação da DAM não diminuiu na fração intermediária.

4.4 | Balanço de Massa de Metais em Tecido de Minhocas (*Eisenia andrei*)

Um conceito básico da geoquímica ambiental é que, em geral, os metais potencialmente disponíveis no meio ambiente, para serem absorvidos pela biota, estão essencialmente presentes em solução. Por esta razão, testamos se a parcela de metais presentes na solução lixiviada poderia ser melhor preditora de bioacumulação, em comparação com os teores totais existentes nos resíduos.

Considerando os teores de metais nos lixiviados e nas matrizes sólidas foram calculados fatores lixiviação, mostrados na Tabela 10. É possível notar o fator de lixiviação decrescente: Ni > Pb = Zn > Cr = Cu, indicando que o Ni seria o mais facilmente disponibilizado em água.

Tabela 10. Fatores de lixiviação de metais (LIX).

	Zn	Cu	Pb	Cr	Ni
LIX	10-3	10-5	10-3	10-5	10-2

É possível relacionar as concentrações de metais nos tecidos biológicos e nas matrizes sólidas e líquidas (lixiviado). A dose de 24% solo:fração intermediária foi renomeada, aqui, de dose 25% para representar o mais próximo do estudo de lixiviação realizado na proporção de 25%. A dose de 0% representa apenas os solos ou “background”. Os metais apresentaram diferentes fatores de acumulação nos oligoquetas a partir da matriz sólida e da solução lixiviada (Tabela 11).

Tabela 11. Fatores de acumulação de metais (FA).

Tabela	FA MIX		FA LIX	
	0%	25%	0%	25%
Zn	10^{-3}	10^{-3}	~1	~1
Cu	10^{-4}	10^{-4}	~10	~10
Pb	10^{-4}	10^{-4}	~1	~1
Cr	10^{-3}	10^{-3}	~10	~10
Ni	10^{-4}	10^{-4}	~0,01	~0,01

Onde: FA MIX = Fator de Acumulação com base na razão massa de metal (oligoqueta [0%, 25%] / mistura rejeito + solo); FA LIX = Fator de Acumulação com base na razão massa de metal (oligoqueta [0%, 25%] / lixiviado [0%, 25%]).

Os binômios oligoqueta-Zn e oligoqueta-Pb mostram similar comportamento: a quantidade de metal disponível em solução no lixiviado é similar à absorvida pelas oligoquetas, sugerindo que o lixiviado/solubilizado seja a principal fonte Zn e Pb para as minhocas. Este resultado indica que ensaios de lixiviação podem servir como um “proxy” da quantidade de metal (Zn e Pb) que estará presente nos tecidos biológicos em contato com aquele resíduo, não importando os teores de metais totais presentes no material sólido.

Para o Ni, a massa nos tecidos das oligoquetas é cerca cem vezes menor do que o presente no lixiviado, indicando que o Ni não é absorvido acima de uma determinada quantidade, mesmo se disponível em solução, sugerindo a existência de uma saturação no sistema de absorção de Ni pelas oligoquetas. Este resultado deverá ser melhor investigado, uma vez que a dose de 50% mostrou um incremento de quase 50 vezes nos teores teciduais de Ni, que, embora

possa ser explicado pela oferta de Ni no lixiviado, está em desacordo com o observado nas doses de 0% e 25%. Análises confirmatórias serão necessárias.

Cu e Cr, por outro lado, diferem do Zn e do Ni e mostram comportamento similar entre si: as massas acumuladas pela biota são em torno de 10 vezes a presente nos lixiviado, o que aponta para a importância da matriz sólida como fonte destes metais, além de seus teores em solução.

Estes resultados demonstram a importância de se estudar o comportamento diferencial em cada binômio biota-metal e a importância de se testar a constância deste comportamento em diferentes doses de resíduos. Estes resultados indicam que o conceito geral da geoquímica é aplicável a alguns metais em interação com oligoquetas, enquanto para outros metais este comportamento não foi totalmente verificado. Não obstante, o FA LIX obtido considerando-se os metais em solução, ou seja, no lixiviado, permite melhor compreensão da interação oligoqueta-metal do que a partir do FA obtido unicamente a partir da matriz sólida, como é rotineiramente realizado. Esta abordagem original, proposta pela primeira vez neste estudo, pode gerar uma visão mais ampla e detalhada da ecotoxicologia, em especial por explorar vias de exposição potenciais a partir de distintos compartimentos ambientais.

5 | CONCLUSÕES

O cálculo dos IGEOs para a fração intermediária do resíduo indicou que todos os metais se encontram na Classe 0 (“praticamente não-poluído”), a exceção do Pb, na Classe 1 (“pouco a moderadamente poluído”). De forma geral, o decréscimo das concentrações de metais da fração alimentação para a intermediária não foi importante. As concentrações de metais nas misturas solo:resíduo estão em concordância com valores de qualidade de solos no Brasil, exceto as concentrações de Zn nas doses acima de 24% e de Pb, nas acima de 12%, as quais excederam o valor referência proposto por CETESB (2016), que diz respeito ao *background* de geoquímica de solos do Estado de SP.

As concentrações dos metais Zn, Pb e Cr nos tecidos biológicos praticamente não variam em função do incremento de dose. As concentrações teciduais de Cu dobram entre as doses 0% e 50%, enquanto as concentrações teciduais de Ni se mantem constantes e similares nas doses de 0% e de 25%, mas incrementam quase 50 vezes na dose de 50%, indicando a necessidade de confirmação deste resultado.

Os teores de Zn são em torno de 10 vezes mais elevados do que os demais metais estudados. Vale salientar que é um metal essencial ao metabolismo dos oligoquetas e desempenha papel importante no crescimento e regeneração dos tecidos desses invertebrados (LUKKARI et al. 2005). Por isto, é válido supor que as concentrações observadas sejam biologicamente aceitáveis. O Cu, apesar de também ser um metal essencial, mostra concentrações teciduais praticamente uma ordem de grandeza abaixo do Zn e valores de FBC abaixo da unidade em todas as doses (embora dobre a sua concentração tecidual na maior dose, é improvável que cause efeitos adversos), indicando baixa biodisponibilidade sob as condições testadas.

Os resultados dos bioensaios agudos revelaram a ausência significativa de mortalidade e de perda de biomassa, indicando baixa ecotoxicidade aguda para as minhocas, o que foi corroborado pelo ensaio de fuga, onde nenhuma dose testada foi capaz de limitar a função de habitat. Por outro lado, os resultados dos bioensaios crônicos com *E. andrei* mostraram redução da biomassa e redução da reprodução nas dosagens mais elevadas, apontando efeitos adversos com um eventual comprometimento da perpetuação da espécie. Em ensaio crônico com colêmbolos adultos, não houve morte significativa, sugerindo baixa toxicidade neste ensaio crônico. Assim, conclui-se que em cenário de disposição terrestre da fração intermediária em proporção abaixo de 50% pode ser considerada baixa para anelídeos e artrópodes de solo.

Em ensaios com organismos terrestres realizados com oligoquetas pode ser observado que, apesar da migração dos organismos para o resíduo tratado nos ensaios de fuga, o efeito sub-letal da perda de biomassa nos ensaios de toxicidade aguda sugere que a fração intermediária pode ser prejudicial a longo prazo para as populações de invertebrados locais.

Nos ensaios de germinação de sementes de alface, a fração intermediária foi não tóxica, favorecendo maior germinação, talvez associada à menor acidez e/ou presença de nutrientes.

Em ensaios com organismos aquáticos, a toxicidade aguda e crônica avaliada nos diferentes organismos testados diminuiu na fração intermediária em comparação com o resíduo não tratado, mas houve a necessidade de ajuste de pH próximo à neutralidade e filtração para a realização do ensaio. A necessidade de ajuste de pH próximo a neutralidade torna os ensaios com organismos aquáticos não indicativos para estimativas da real toxicidade da DAM nos corpos receptores e águas subterrâneas.

O tratamento realizado na fração alimentação resultou na diminuição de alguns parâmetros e elementos analisados, embora alguns fatores que favorecem a produção de drenagem ácida ainda estejam presentes, indicando que outras medidas mitigadoras ainda são necessárias.

A utilização de abordagem de balanço de massa para a interpretação de dados ecotoxicológicos é original e primeiramente proposta neste projeto. Os dados obtidos com o balanço de massa de metais em minhocas sugerem a necessidade de se considerar o binômio oligoqueta-metal para avaliar o comportamento de distintos metais no meio ambiente, sua biodisponibilidade e potencial efeito tóxico. Ainda, os teores dos metais no lixiviado poderão ser utilizados como uma aproximação dos teores de metais potencialmente bioacumulados, especialmente para Zn e Pb. Futuros experimentos devem ser desenhados para avaliar especificamente esta hipótese. Desta forma, mais do que o cálculo de Fator de Bioconcentração (o qual é realizado rotineiramente pela razão dos teores de metais nos tecidos e na matriz sólida), a acumulação de metais nos oligoquetas ou em outros indicadores biológicos poderá ser deduzida a partir de ensaios de lixiviação, gerando fatores próprios e específicos de cada binômio biota-metal. Esta abordagem pode gerar uma visão mais ampla e detalhada da ecotoxicologia, em especial por explorar vias de exposição potenciais a partir de distintas matrizes-fonte.

Este trabalho conclui que a fração intermediária é preferível ao resíduo não tratado, para disposição terrestre e, mesmo não esgotando a avaliação da ecotoxicidade da fração intermediária, fornece uma bateria de ensaios e metodologia de análises toxicológicas ambientais.

Esta bateria pode ser utilizada como um guia para a avaliação da eficiência de tratamentos de resíduos de mineração de carvão para disposição final terrestre, com menores custos de manutenção e riscos

ambientais. Finalmente, os resultados obtidos podem nortear a aplicação de tecnologias em rejeitos de carvão atualmente com disposição inadequada em áreas abandonadas e órfãs na região carbonífera sul-catarinense.

6 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro ao projeto e às bolsas concedidas, de fundamental importância à realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT NBR 10006 – Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro, ABNT, 2004. 7 p.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT NBR 12.713. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* sp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, ABNT. 2009. 23 p

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT NBR 12.648. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro, ABNT. 2011. 28 p.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT NBR 15537. Ecotoxicologia terrestre – Toxicidade aguda – Método de ensaios com minhocas (Lumbricidae). Rio de Janeiro, ABNT. 2014. 17 p.

ALEXANDRE, N.Z. 2000. Análise integrada da qualidade das águas da Bacia do Rio Araranguá (SC). Dissertação de Mestrado em Geografia. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 300p.

AMARAL FILHO, JR. Avaliação Ambiental e do Potencial de Aproveitamento de um Módulo de Rejeitos de Carvão na Região Carbonífera de Santa Catarina. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGEM, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. 2009. 79 p.

AMARAL-FILHO, J.; SCHNEIDER, I.V.H.; BRUM, I.A.S.; MILTZAREK, G.; SAMPAIO, C.H.; SCHNEIDER, C.H. Caracterização dos rejeitos de carvão do módulo B da carbonífera Criciúma S.A. In: ENCONTRO NACIONAL DE TRATAMENTO DE MINÉRIOS E METALURGIA EXTRATIVA, XXIII, 2009. Gramado Anais - CD-ROOM.

ASTM – American Society for Testing and Materials - E 1676. Standard Guide for Conducting Laboratory Soil Toxicity or Bioaccumulation tests with the Lumbricid Earthworm *Eisenia fetida* and the enchytraeid potworm *Enchytraeus albidus*, 2004.

BIANCHI, M.O. Ensaios Ecotoxicológicos como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo. Tese de Doutorado (Ciência do Solo – Agronomia), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, 2013.

CASTILHOS, Z.C.; BIDONE, E.D.; CESAR, R.C.; EGLER, S.G.; ALEXANDRE, N.Z.; BIANCHINI, M.; NASCIMENTO, T. Metodologia para o monitoramento da qualidade das águas da Bacia Carbonífera Sul Catarinense: ferramenta para gestão em poluição ambiental. Série Gestão e Planejamento Ambiental, n. 13. Centro de Tecnologia Mineral, Rio de Janeiro, RJ. 2010, 105 p.

CEHELLA, E.C. Identificação e caracterização das fontes poluidoras em área degradada pela atividade de mineração a céu aberto, rio Pio, Treviso, SC. 2010, 113 p. Trabalho de Conclusão de Curso, curso de Engenharia Ambiental, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC.

CESAR, R.G.; SILVA, M.B.; COLONESE, J. P.; BIDONE, E.D.; EGLER S.; CASTILHOS, Z.C.; POLIVANOV H. Influence of the properties of tropical soils in the toxicity and bioavailability of heavy metals in sewage sludge-amended lands. *Environmental Earth Sciences*, v. 66, p. 2281-2292, 2012.

CESAR, R.G.; COELHO, M.B.; ALVARO, T.T.; COLONESE, J.P.; CASTILHOS, Z.C.; EGLER, S.G.; BIDONE, E.D.; POLIVANOV, H.; ALEXANDRE, N.Z. Disposição continental de resíduos de mineração de carvão: drenagem ácida, ecotoxicidade aguda e biodisponibilidade de metais. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, v. 8, p. 17-22, 2013.

CESAR, R.G.; NATAL-DA-LUZ, T.; SOUSA, J.P.; BIDONE, E.D., COLONESE, J.P.; CASTILHOS, Z. C.; EGLER, S. G.; H. Disposal of dredged sediments in tropical soils: ecotoxicological effects on earthworms. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 186, p. 1487-1497, 2014.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). 2016. Disponível em: <https://www.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2014/12/DD-256-2016-E-Valores-Orientadores-Dioxinas-e-Furanos-2016-Intranet.pdf>.> Acesso em 12/08/2021.

CONAMA – CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. POLIVANOV Resolução No. 420, 28 de dezembro de 2009. 16 p.

COSTA, L.S.N.; LOUZADA, J.C.G.; MONTE, M.B.M.; SCHNEIDER, C.L.; SCHNEIDER, I.A.H. Dessulfurização de rejeitos de jigagem de carvão. Anais do IV CBCM, Gramado, 2013.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. In: Manual de Métodos de Análises de Solo. Rio de Janeiro, RJ, 1997. p. 212.

GARCIA, M. Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicology test methods for tropical regions. In P.L.G. Vlek, M. Denich, C. Martius, N. Giesen (Eds), Ecology and development series. Volumen 19, Cuvillier Verlag Gottingen, 282 pp, 2004.

GRENNI, P.; CARACCIOLO, A.B.; PATROLECCO, L.; ADEMOLLO, N.; RAUSEO, J.; SACCA, M.L.; MINGAZZINI, M.; PALUMBO, M.T.; GALLI, E.; MUZZINI, V.G.; POLCARO, C.M.; DONATI, E.; LACCHETTI, I.; DI GIULIO, A.; GUCCI, P.M.B.; BECCALONI, E.; MININNI, G. 2018. A bioassay battery for the ecotoxicity assessment of soils conditioned with two different commercial foaming products. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 148, pp, 107-1077.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Soil quality – Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) – Part 2: Determination of effects on reproduction. ISO 1268-2. Geneve, Switzerland: ISO, 1998.

ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Soil Quality – Inhibition of Reproduction of Collembola (*Folsomia candida*) by Soil Pollutants. ISO 11267. Geneve, Switzerland: ISO, 1999.

ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Soil quality – determination of the effects of pollutants on soil flora – creeping test for emergence of lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L.). ISO 17126. 2005. p. 13.

ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. SOIL QUALITY – avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behavior – Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Geneva, ISO 17512–1. 2008. 31 p.

LILGE.; D.S.; HAHN, M.B.; SILVA, G.S.R.; GOMES, K.M.S.; GOMES, C.J.B.; SCHNEIDER, I.A.H. Ensaio Estáticos e Cinéticos na Previsão da Drenagem Ácida de Minas na Mineração de Carvão do Sul do Estado de Santa Catarina, SC - Brasil. In: XXI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa, 2005, Natal. CD ROM... Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2005.

LUKKARI, T.; ASTSINKI, M.; VÄISÄNEN, A.; HAIMI, J. 2005. Toxicity of copper and zinc assessed with three different earthworms tests. Applied Soil Ecology, Amsterdam, v. 30, p. 133-146.

MATZKE, M.; STOLTE, S.; ARNING, J.; UEBERS, U.; FILSER, J. Imidazolium based ionic liquids in soils: effects of the side chain length on wheat (*Triticum aestivum*) and cress (*Lepidium sativum*) as affected by different clays and organic matter. Green Chemistry, Inglaterra, v. 10, p. 584-591, 2008.

MAXAM, G.; RILA, J.; DOTT, W.; EISENTRAEGER, A. Use of bioassays for assessment of water-extractable ecotoxic potential of soils. Ecotoxicology and Environmental Safety, New York, v. 45, p. 240-246, 2000.

MIAO, X.X., ZHANG, J., FENG, M. Waste-filling in Fully-mechanized Coal Mining and its Application. Journal of China University of Mining & Technology. V.18, n.4, p. 479-482, 2008.

MORAES NETO, S.P. Acidez, alcalinidade e efeitos da calagem no solo. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009. Disponível em: <http://www.epac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/112/>.

MÜLLER, G. Schwermetalle in den Sedimenten des Rheins –Veränderungen seit, Umschau, v. 79, p. 778-783, 1979.

NATAL-DA-LUZ, T.; TIDONA, S.; JESUS, B.; MORAIS, P. V.; SOUSA, J. P. 2009. The use of sewage sludge as soil amendment: the need for an ecotoxicological evaluation. Journal of Soils and Sediments, v. 9, p. 246-260.

NIVA, C.C.; NIEMEYER, J.; SILVA-JUNIOR, F.M.; NUNES, M.E.; SOUSA, D.L.; ARAGAO, C.W.S.; SAUTTER, K.D.; ESPINDOLA, E.G.; SOUSA, J.P.; ROMBKE, J. 2016. Soil ecotoxicology in Brazil is taking its course. Environmental Science and Pollution Research International, v. 23, p. 11363-11378.

PEREIRA, C.S.; LOPES, I.; SOUSA, J.P. & CHELINHO, S. 2015. Effects of NaCl and seawater induced salinity on survival and reproduction of three soil invertebrate species. *Chemosphere*, v. 135, p. 116-122.

PRSC – Procuradoria da República em Santa Catarina – 5º Relatório de Monitoramento dos Indicadores Ambientais. vol 1. 2011. Ação Civil Pública. Grupo Técnico de Assessoramento (GTA). Disponível em: https://www.jfsc.jus.br/acpdocarvao/2011/outubro2011/GTA/GTA_5_Relatorio_Final_2011_Meio_Biotico.htm.

REDIVO, R.V. Análise do Potencial de Acidificação e de Neutralização em Rejeitos de Beneficiamento do Carvão Mineral da Região Carbonífera. Relatório Técnico, Empresas Rio Deserto. Criciúma,SC: 2004.

ROCHA, B.C.R.C.; CASTILHOS, Z.C.; CESAR, R.G. Avaliação ecotoxicológica da eficiência do tratamento de resíduos de mineração de carvão. In: Resumo da XXIII Jornada de Iniciação Científica, CETEM, Rio de Janeiro. 2015. 4p.

RUBIO, J. Carvão Mineral Caracterização e Beneficiamento, v. 1. Porto Alegre: Nova Linha Artes Gráficas, 240p., 1988.

SAVARD, K.; BERTHELOT, Y.; AUROY, A.; SPEAR, P.A.; TROTTIER, B.; ROBIDOUX, P.Y. Effects of HMX-Lead Mixtures on Reproduction of the Earthworm *Eisenia andrei*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 53, p. 351-358, 2007.

SCHNEIDER, C.H. Controle da drenagem ácida de minas na mineração de carvão de Santa Catarina: caso da mina UM II - Verdinho. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. (Dissertação de Mestrado).

SCHNEIDER, C.H. Evolução da gestão ambiental na indústria carbonífera em Santa Catarina: um caso de sucesso. In: P.S.M. SOARES, M.D.C. SANTOS e M.V. POSSA (Eds.). Carvão Brasileiro: tecnologia e meio ambiente. p. 39-55. 2008.

SCHNEIDER, C.L.; COSTA, L.N Caracterização dos rejeitos de jigagem da camada Barro Branco da CCSA, Anais do III CBCM, Gramado, 2011.

SERRANO, A.F.; VEZZONE, M.; CESAR, R.G.; POLIVANOV, H. 2016. Ecotoxicidade de sedimento dragado da Lagoa Rodrigo de Freitas (RJ) em cenário de disposição em solos tropicais. In: Jornada de Iniciação Científica, Artística e Cultural da UFRJ.

SILVEIRA, A.N., Silva, R.D.R, Treatment of acid mine drainage (AMD) in South Brazil. Comparative Active Processes and Water Reuse. International Journal of Mineral Processing, v. 29, p. 92-202, 2009.

SOARES, A.B., UBALDO, M.O., SOUZA, V.P., SOARES, P.S.M., BARBOSA, M.C., MENDONÇA, M.G. Design of a Dry Cover Pilot Test for Acid Mine Drainage Abatement in Southern Brazil. I: Materials Characterization and Numerical Modeling. Mine Water and Environment, v. 28, n.3, p. 219-231, 2009.

SOLOMONS, W.; FÖRSTNER, U. Metals in the Hydrocycle. Berlin: Springer. 1984.

TUREKIAN, K.K.; WEDEPOHL, K.H. Distribution of elements in some major units of the earth's crust. Geological Society of America Bulletin, v. 72(2), p. 175-192, 1961.

VEZZONE, M.; CESAR, R.; POLIVANOV, H.; SERRANO, A.; SIQUEIRA, D.; ABREU, L.; BIANCHI, M.; CORREIA, M.E.; CASTILHOS, Z.; DE CAMPOS, T. 2018. Ecotoxicological evaluation of dredged sediments from Rodrigo de Freitas Lagoon (Rio de Janeiro State, Brazil) using bioassays with earthworms and collembolans. Environmental Earth Sciences, v. 77, p. 743-9,

SÉRIES CETEM

As Séries Monográficas do CETEM são o principal material de divulgação da produção científica realizada no Centro. Até o final do ano de 2020, já foram publicados, eletronicamente e/ou impressos em papel, mais de 360 títulos, distribuídos entre as seis séries atualmente em circulação: Rochas e Minerais Industriais (SRMI), Tecnologia Mineral (STM), Tecnologia Ambiental (STA), Estudos e Documentos (SED), Gestão e Planejamento Ambiental (SGPA) e Inovação e Qualidade (SIQ). A Série Iniciação Científica consiste numa publicação eletrônica anual.

A lista das publicações poderá ser consultada em nossa homepage. As obras estão disponíveis em texto completo para download. Visitemos em <http://www.cetem.gov.br/series>.

Últimos números da Série Tecnologia Mineral

STM-102 - Processos biotecnológicos para a solubilização de rochas fosfáticas – O estado da arte. Tamara Azevedo Schueler, Marcelo de Luccas Dourado e Andréa Camardella de Lima Rizzo, 2019.

STM-101 - Modelagem do processo de extração por solvente de elementos terras-raras com extratantes organofosforados. Luciana Amaral Seruff, Ysrael Marrero Vera, 2018.

STM-100 - Análise fluidodinâmica das colunas piloto de flotação do CETEM por meio de distribuição de tempos de resistência - DTR. Hudson Jean Bianquini Couto, Renata Nigri de Almeida, Paulo Fernando Almeida Braga, 2018.

INFORMAÇÕES GERAIS

CETEM – Centro de Tecnologia Mineral
Avenida Pedro Calmon, 900 – Cidade Universitária
21941-908 – Rio de Janeiro – RJ
Geral: (21) 3865-7222
Biblioteca: (21) 3865-7218
E-mail: biblioteca@cetem.gov.br
Homepage: <http://www.cetem.gov.br>

NOVAS PUBLICAÇÕES

Se você se interessar por um número maior de exemplares ou outro título de uma das nossas publicações, entre em contato com a nossa biblioteca no endereço acima.

Solicita-se permuta.

We ask for interchange.



Missão Institucional

Desenvolver tecnologias inovadoras e sustentáveis, e mobilizar competências visando superar desafios nacionais do setor mineral.

O CETEM

O Centro de Tecnologia Mineral - CETEM é um instituto de pesquisas, vinculado ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações - MCTI, dedicado ao desenvolvimento, à adaptação e à difusão de tecnologias nas áreas minerometalúrgica, de materiais e de meio ambiente.

Criado em 1978, o Centro está localizado no campus da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, na Cidade Universitária, no Rio de Janeiro e ocupa 20.000m² de área construída, que inclui 25 laboratórios, 4 plantas-piloto, biblioteca especializada e outras facilidades.

Durante seus 43 anos de atividade, o CETEM desenvolveu mais de 800 projetos tecnológicos e prestou centenas de serviços para empresas atuantes nos setores minerometalúrgico, químico e de materiais.