

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

Anna Flavia Pereira Montanari

**Estudo da comunidade de microrganismos redutores de sulfato (BRS)
provenientes do sedimento do reservatório de Retiro Baixo/Pompéu e sua
capacidade de resistência a metais, após o rompimento da barragem de rejeitos I
de Brumadinho**

Poços de Caldas/MG
2023

Anna Flavia Pereira Montanari

**Estudo da comunidade de microrganismos redutores de sulfato (BRS)
provenientes do sedimento do reservatório de Retiro Baixo/Pompéu e sua
capacidade de resistência a metais, após o rompimento da barragem de rejeitos I
de Brumadinho**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Tratamento de Efluentes.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Henrique Soares Damasceno

Coorientador: Prof. Dr. Gunther Brucha

Poços de Caldas/MG
2023

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Campus Poços de Caldas

Montanari, Anna Flavia Pereira.

Estudo da comunidade de microrganismos redutores de sulfato (BRS) provenientes do sedimento do reservatório de Retiro Baixo/Pompéu e sua capacidade de resistência a metais, após o rompimento da barragem de rejeitos I de Brumadinho / Anna Flavia Pereira Montanari. - Poços de Caldas, MG, 2023.

83 f. : il. -

Orientador(a): Leonardo Henrique Soares Damasceno.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) -
Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2023.

Bibliografia.

1. Bactérias redutoras de sulfato. 2. Brumadinho. 3. Ferro. 4. Manganês. 5. Reservatório. I. Damasceno, Leonardo Henrique Soares, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

ANNA FLAVIA PEREIRA MONTANARI

Estudo da comunidade de microrganismos redutores de sulfato (BRS) provenientes do sedimento do reservatório de Retiro Baixo/Pompéu e sua capacidade de resistência a metais, após o rompimento da barragem de rejeitos I de Brumadinho

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas. Linha de Pesquisa: Tratamento de Efluentes

Aprovada em: 26 de janeiro de 2023

Prof. Dr. Gunther Brucha
Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG

Profa. Dra. Bárbara Franco Vieira
Instituição: Universidade de São Paulo - USP

Prof. Dr. Rafael Brito de Moura
Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Brito de Moura, Professor do Magistério Superior**, em 13/02/2023, às 14:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gunther Brucha, Professor do Magistério Superior**, em 16/02/2023, às 11:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bárbara Franco Vieira, Usuário Externo**, em 16/02/2023, às 16:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0907886** e o código CRC **D9638510**.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos meus pais, que sempre me deram o suporte, apoio e incentivo para que eu pudesse seguir minha carreira na área científica, desde a infância quando aos 10 anos contei a eles que queria ser “cientista. A eles ofereço minha maior gratidão e admiração.

Ao meu orientador, Leonardo e ao meu co-orientador Gunther pela oportunidade que me deram pra eu fazer parte de um projeto tão grande e importante quanto esse, por acreditarem no meu potencial, pela paciência, conhecimento, comprometimento e todo apoio que me ofereceram.

Ao Nick, que foi meu porto seguro em muitos momentos, que foi meu consolo e meu melhor amigo nessa jornada, que compreendeu as noites que passei em claro e que sempre chegava com um café quentinho e um sorriso pra me acalmar.

À Jéssica, que nos momentos mais críticos não me deixou desanimar, cujo suporte técnico e emocional, e enorme paciência contribuíram para esse trabalho que pudesse ser concluído.

Aos professores do PPGCEA, Rafael, Giselle, Renata, Flávio que sempre se mostraram solícitos todas as vezes que precisei de orientação e ajuda, tanto na pesquisa quanto durante as disciplinas cursadas.

À Jucirlene, que sempre esteve sorridente e solícita, e que foi uma pessoa fundamental para o bom funcionamento do laboratório.

Aos meus colegas de laboratório, a nossa troca de conhecimento e experiência sempre foram essenciais para o bom andamento da pesquisa.

À Frecia, a primeira pessoa que me recebeu no laboratório, cujos conhecimentos compartilhados foram essenciais para minha pesquisa.

Aos meus amigos, em especial Heloíse, Tayná, Jéssica, Bárbara, Flávia, pelos momentos felizes e incríveis que passamos durante esse tempo.

Ao CNPq pela disponibilização da verba para as bolsas de pesquisa.

À Vale SA pelo financiamento do projeto, que foi essencial para a execução do mesmo num período tão difícil e instável para a ciência.

À UNIFAL_MG, ao ICT e a todos aqueles que indiretamente contribuíram para a realização desse projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Muito obrigada!

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo principal a avaliação do comportamento das bactérias redutoras de sulfato presentes no sedimento do reservatório Retiro Baixo, localizado entre os municípios de Curvelo e Pompéu, Minas Gerais, após o rompimento da Barragem I da Mina Córrego do Feijão, no município de Brumadinho, MG. Foram coletadas amostras 5 dias após o rompimento, e outras oito coletas periódicas durante os anos de 2019, 2020, 2021 e 2022. Para as análises quantitativas, foram realizados ensaios de quantificação das BRS por meio dos tubos múltiplos e os valores determinados pelo NMP. O resultado da quantificação mostrou um aumento significativo em 6 ordens de grandeza na contagem de células por 100ml entre as campanhas 06 e 07. Na campanha 08 a concentração de BRS se manteve na mesma ordem de grandeza e na campanha 09 houve uma redução em 100 vezes no número de células por 100 ml de amostra. Os ensaios de resistência desses microrganismos a ferro e manganês foram realizados para as campanhas de número 01, 02, 06 e 08, que correspondem aos períodos de 5 dias após o rompimento, 3 meses, 30 meses e 36 meses, respectivamente. Foram observados a capacidade de remoção de sulfato e de metal dissolvido no meio líquido para diferentes concentrações ao longo das campanhas escolhidas. Para o ferro as concentrações utilizadas foram de 100, 200, 300 e 400 mg/L, que apresentaram redução de sulfato em todos os frascos de tratamento, apenas com uma eficiência menor na concentração de 400 mg/L da campanha 01, demonstrando que houve um aumento na resistência microbiana do sedimento entre as duas primeiras campanhas e a remoção de metais dissolvidos mostrou que o ferro dissolvido foi quase todo removido em todos os ensaios. Para o manganês, foram utilizadas concentrações de 20, 340, 60 e 80 mg/L, e a remoção de sulfato se manteve alta em todas as concentrações e ao longo das campanhas analisadas, e a remoção de Mn obtiva foi acima de 80%.

Palavras-chave: bactérias redutoras de sulfato; Brumadinho; ferro; manganês; reservatório.

ABSTRACT

The main objective of this study was to evaluate the behavior of sulfate-reducing bacteria present in the sediment of the Retiro Baixo reservoir, located between the municipalities of Curvelo and Pompéu, Minas Gerais, after the rupture of Dam I of the Córrego do Feijão mine, in the municipality from Brumadinho, MG. Samples were collected 5 days after the rupture, and eight other periodic collections during the years 2019, 2020, 2021 and 2022. For the quantitative analyses, assays were performed to quantify the BRS through multiple tubes and the values determined by the MPN. The quantification result showed a significant increase of 6 orders of magnitude in the cell count per 100ml between campaigns 06 and 07. In campaign 08 the concentration of BRS remained in the same order of magnitude and in campaign 09 there was a 100-fold reduction in the number of cells per 100 ml of sample. Resistance tests of these microorganisms to iron and manganese were carried out for campaigns numbered 01, 02, 06 and 08, which correspond to periods of 5 days after the rupture, 3 months, 30 months and 36 months, respectively. The ability to remove sulfate and metal dissolved in the liquid medium for different concentrations over the chosen campaigns were observed. For iron, the concentrations used were 100, 200, 300 and 400 mg/L, which showed a reduction in sulfate in all treatment flasks, only with a lower efficiency in the concentration of 400 mg/L in campaign 01, demonstrating that there was an increase in the microbial resistance of the sediment between the first two campaigns and the removal of dissolved metals showed that dissolved iron was almost completely removed in all tests. For manganese, concentrations of 20, 340, 60 and 80 mg/L were used, and sulfate removal remained high at all concentrations and throughout the analyzed campaigns, and the Mn removal rate was above 80%.

Key words: sulfate reducing bacteria; Brumadinho; iron; manganese, reservoir.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Modelo esquemático das reduções de sulfato dissimilativa e assimilativa	22
Figura 2 -	Mapa mostra vista geral da bacia do rio Paraopeba	28
Figura 3 -	Fluxograma contendo passos da metodologia compilado	32
Figura 4 -	Rio Paraopeba e reservatório de Retiro Baixo com a localização dos pontos de amostragem	33
Figura 5 -	GPS (Global Positioning System) modelo Garmin GPSMAP 62S utilizado para geolocalização em campo	35
Figura 6 -	Central Meteorológica Brunton - ADC Summit utilizado para obter dados de temperatura do ar, altitude e pressão atmosférica em campo.....	35
Figura 7 -	Disco de Secchi utilizado para mensuração da zona eufótica utilizada em campo.....	35
Figura 8 -	Sonda Multiparâmetros da marca Horiba utilizada para coleta dos parâmetros físico-químicos em campo	35
Figura 9 -	Coletor de testemunhos curtos KAJAC utilizado na amostragem do sedimento em campo	36
Figura 10 -	Frascos de NMP ao final do tempo de inoculação	37
Figura 11 -	Gráfico representando a variação da concentração de BRS no decorrer do tempo	42
Figura 12 -	Gráfico de comparação entre controles abióticos (CA) e controles bióticos (CB) e tratamento nos ensaios de Fe.....	43
Figura 13 -	Boxplot de comparação entre as diferentes concentrações de ferro dos tratamentos e o controle biótico (CB).....	46
Figura 14 -	Boxplot do comportamento da concentração de sulfato ao longo das campanhas entre frascos de tratamento e controle biótico	48
Figura 15 -	Boxplot comparativo da variação da concentração de sulfato entre as campanhas nas diferentes concentrações de ferro.....	50

Figura 16 -	Gráfico mostra diferença na média das eficiências da remoção de sulfato entre controle e tratamento nas diferentes concentrações de ferro	51
Figura 17 -	Boxplot da eficiência na remoção de sulfato do controle e tratamento entre concentrações	52
Figura 18 -	Boxplot da eficiência do controle abiótico e tratamento na remoção de sulfato entre campanhas	53
Figura 19 -	Gráficos de comparação entre concentrações iniciais e finais de Fe ⁺ nos frascos de ensaio	54
Figura 20 -	Gráfico de comparação do comportamento da concentração de sulfato durante os ensaios entre controles bióticos (CB) e abióticos (CA) e tratamento nas diferentes concentrações de Mn.....	55
Figura 21 -	Boxplot comparativo entre o comportamento do controle biótico (CB) e tratamentos durante os ensaios	57
Figura 22 -	Boxplot do comportamento dos ensaios de controle biótico e tratamentos ao longo das campanhas e concentrações de manganês	58
Figura 23 -	Gráfico de comparação estatística entre controle e tratamento nos ensaios de Mn	60
Figura 24 -	Boxplot das taxas de remoção de sulfato dos controles abióticos e tratamento ao longo das campanhas	61
Figura 25 -	Gráfico de comparação estatística entre controle e tratamento nos ensaios de Mn	61
Figura 26 -	Gráficos das concentrações de Mn ⁺ ao longo das campanhas	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Coordenadas dos pontos de coleta de amostra. Datum: WGS84	33
Tabela 2 -	Dados relativos às coletas das amostras	34
Tabela 3 -	Dados obtidos pelos testes estatísticos de Shapiro Wilk e Kruskal Wallis entre os dados de tratamento e controle biótico (CB).....	45
Tabela 4 -	Dados obtidos pelos testes estatísticos de Shapiro Wilk, Kruskal Wallis e Anova entre os dados de tratamento e controle biótico	47
Tabela 5 -	Valores obtidos por meio do teste de Student-Newman-Keuls ao comparar a média de remoção de sulfato entre as campanhas dos frascos de tratamento.....	47
Tabela 6 -	Dados dos testes estatísticos da concentração de 400 mg/L de ferro entre campanhas	49
Tabela 7 -	Valores encontrados pelo Teste T-posteriori para comparação estatística da variação de sulfato entre campanhas no frasco de tratamento de 400 mg/L.....	49
Tabela 8 -	Dados obtidos pelos testes estatísticos de Shapiro Wilk e Mann-Whitney para comparação das eficiências entre controle abiótico e tratamento nas diferentes concentrações de ferro	51
Tabela 9 -	Valores obtidos nos testes de Shapiro Wilk e Kruskal Wallis nos testes estatísticos dos dados entre concentrações de manganês dos frascos de tratamento e controle biótico.....	56
Tabela 10 -	Valores obtidos nos testes de Shapiro Wilk e Kruskal Wallis nos testes estatísticos dos dados entre os frascos de tratamento e controle biótico ao longo das campanhas.....	57
Tabela 11 -	Dados obtidos nos testes estatísticos de Shapiro Wilk, T de Student e Mann-Whitney para comparação dos pares (controle e tratamento) de cada concentração de manganês	59
Tabela 12 -	Remoção de Manganês nos ensaios	62

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVOS	16
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	16
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1.	ATIVIDADE MINERADORA E IMPACTOS AMBIENTAIS.....	17
3.2.	ECOSSISTEMA LÍMNICO.....	19
3.2.1.	Biota de sedimentos em ambientes límnicos	20
3.3.	BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO (BRS) E RESISTÊNCIA À METAIS	21
3.3.1.	Estudos de resistência e remoção de sulfato pelas BRS em diferentes condições de operação	25
3.4.	CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO	27
3.4.1.	Bacia do rio Paraopeba	27
3.4.2.	Reservatório Retiro Baixo	30
4.	METODOLOGIA	32
4.1.	PONTOS DE AMOSTRAGEM.....	32
4.2.	ANÁLISE QUANTITATIVA DAS BRS PELO MÉTODO DOS TUBOS MÚLTIPLOS.....	36
4.3.	ENSAIO DE RESISTÊNCIA DAS BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO (BRS) A METAIS	38
4.3.1.	Ensaio de resistência ao ferro	38
4.3.2.	Ensaio de resistência ao manganês	39
4.3.3.	Metodologia analítica para determinação de sulfato e metais	40
4.3.4.	Análise estatística dos dados.....	41

5.	RESULTADOS	42
5.1.	ANÁLISE QUANTITATIVA DE BRS PELO MÉTODO DOS TUBOS MÚLTIPLOS.....	42
5.2.	ANÁLISE DE RESISTÊNCIA MICROBIANA A METAIS	43
5.2.1.	Ensaio de resistência ao ferro	43
5.2.1.1.	Controle biótico x tratamento entre concentrações	44
5.2.1.2.	Controle biótico x Tratamento entre campanhas.....	46
5.2.1.3.	Tratamento entre campanhas: testes individuais:	47
5.2.1.4.	Controle abiótico x tratamento: eficiência de redução de sulfato	50
5.2.1.5.	Concentração final de Fe dissolvido	53
5.2.2.	Ensaio de resistência ao manganês	55
5.2.2.1.	Controle biótico x tratamento entre concentrações	56
5.2.2.2.	Controle biótico x tratamento entre as campanhas.....	57
5.2.2.3.	Controle abiótico x tratamento: eficiência de redução de sulfato	59
5.2.2.4.	Controle abiótico x tratamento: eficiência de redução de sulfato	60
5.2.2.5.	Concentração final de Mn dissolvido.....	62
6.	DISCUSSÃO	64
6.1.	ANÁLISE QUANTITATIVA DAS BRS	64
6.2.	ANÁLISE DE RESISTÊNCIA MICROBIANA A METAIS	65
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
	REFERÊNCIAS	71
	ANEXO	79

1. INTRODUÇÃO

As barragens de mineração são estruturas construídas com o intuito de abrigar os rejeitos oriundos dos processos de extração e beneficiamento de minérios. Segundo os dados gerados em 2019 pela Agência Nacional de Mineração (ANM), existem cerca de 769 barragens de mineração no Brasil, nas quais apenas 425 delas estão enquadradas da Política Nacional de Segurança de Barragens - PNSB; (ANM, 2019). De acordo com a ANM, existem 84 barragens construídas utilizando-se do método alteamento à montante, considerado um método pouco estável ou seguro, e mais susceptível a rompimentos. O mesmo órgão aponta que também há 63 barragens com risco alto ou moderado de rompimento (ANM, 2019).

No dia 25 de janeiro de 2019 ocorreu na cidade de Brumadinho (Minas Gerais) o rompimento da Barragem I da mina Córrego do Feijão, que pertence à mineradora Vale S.A. A barragem rompida foi construída de acordo com o método de alteamento à montante, e os rejeitos escoaram pela cidade até serem drenados para o rio Paraopeba, que carregou o resíduo por mais de 300 quilômetros ao longo de seu leito até o reservatório da Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo, em Felixlândia-MG (RODRIGUES, 2020).

Documentos oficiais indicam que o desastre provocou morte de 270 pessoas que estavam na região próxima da mineradora, além de alguns impactos oriundos do rejeito nos cursos hídricos da bacia do rio Paraopeba, como contaminação das águas da bacia e alguns afluentes, comprometimento do abastecimento público, perda da cobertura vegetal e mortandade de animais (BRASIL, 2019).

A água do rio Paraopeba é classificada como classe 2 da Resolução CONAMA 357/05, ou seja, pode ser utilizada para o abastecimento para consumo humano e irrigação precedido de tratamento padrão de água. Após o rompimento, o abastecimento acabou comprometido devido a alteração na qualidade da água, pois cerca de 80% das amostras analisadas do período chuvoso de 2021 se enquadravam nas classes 3 e 4 (THOMSON, 2023).

Após o rompimento da barragem, a capital do estado de Minas Gerais, Belo Horizonte e sua região metropolitana teve o abastecimento de água comprometido, pois cerca de 30% do volume de água utilizada para o abastecimento era captada no rio Paraopeba, cuja captação precisou ser suspensa (PACHECO *et al.*, 2022).

O alto potencial de impacto dos rejeitos de mineração de ferro na região do quadrilátero ferrífero vem sendo reportado historicamente, tanto de curta como de longa duração, devido à presença de material fino e de metais pesados (CARVALHO *et al.*, 2017). Logo após o rompimento da barragem, de imediato pôde-se detectar teor de turbidez da água de 3000 NTU e níveis de ferro em tono de 3 vezes acima do permitido pela legislação (CONAMA 357/05), enquanto que o oxigênio dissolvido estava abaixo do recomendado pela mesma legislação (THOMSON, 2020).

Mesmo após o extravasamento de rejeito da barragem cessar, os rejeitos se acumulam nas margens ou são carreados ao longo do curso d'água, se espalhando pela bacia. O metal presente nesses rejeitos pode interagir com a água por anos, e a concentração desses contaminantes pode se manter elevada por todo esse tempo (PACHECO *et al.*, 2022).

Alguns metais em pequenas quantidades, denominados metais traços, apresentam papel importante nos processos que envolvem os microrganismos (JI; SILVER, 1995). Todavia, os metais em altas concentrações apresentam elevado grau de toxicidade a microbiota, acarretando na alteração taxonômica, numérica e funcional dessas comunidades, interferindo na produção de ácidos e proteínas, e impactando processos essenciais de fosforilação oxidativa e balanço osmótico (HUA *et al.*, 2015).

O impacto ambiental nas comunidades microbianas tem sido uma pauta de atenção na ciência, uma vez que esses organismos exercem papel fundamental nos ciclos biogeoquímicos (DASH *et al.*, 2013). Os micro-organismos presentes no ambiente e no próprio rejeito, em especial as chamadas bactérias redutoras de sulfato, podem desempenhar um papel importante na biorremediação de metais e outros compostos contidos nestes rejeitos (GADD, 2010).

Maiores concentrados metálicos no ambiente podem promover a seleção das bactérias redutoras de sulfato que biotransformam os contaminantes em sulfeto metálico, substâncias insolúveis que precipitam naturalmente, facilitando sua remoção no ambiente. (CASTRO; WILLIAMS; OGRAM, 2000). Alguns estudos utilizando microrganismos selecionados se mostraram promissores em sua aplicação em diversos processos como tratamento de efluentes industriais, tratamento de drenagem ácida de mina, na indústria alimentícia, farmacêutica.

Outra aplicação muito promissora é a da utilização desses microrganismos nos processos de remediação de áreas contaminadas, chamada biorremediação. Essa técnica consiste na utilização de biomassa microbiana apresenta baixo custo e boa eficiência, A biorremediação ainda apresenta níveis mais baixos de risco ecológico, em comparação aos métodos tradicionais de tratamento, como técnicas de oxidação química, bombeamento e tratamento e extração de vapores, e, portanto, se tornou uma tecnologia de recuperação de áreas contaminadas bastante promissora (LEMOS *et. al.*, 2008).

Considerando a gravidade do ocorrido e dos impactos ambientais gerados pelo rompimento da barragem em Brumadinho, esse projeto foi constituído com o objetivo avaliar quais influências o rompimento da Barragem I de rejeitos da Mina Córrego do Feijão teve na comunidade microbiana anaeróbia, mais especificamente as bactérias redutoras de sulfato presentes no sedimento de fundo do Reservatório de Retiro Baixo, Rio Paraopeba (MG).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O presente projeto tem como objetivo avaliar as possíveis influências do rompimento da Barragem I de rejeitos da Mina Córrego do Feijão na comunidade microbiana anaeróbia das bactérias redutoras de sulfato no sedimento do Reservatório de Retiro Baixo, Pompéu-MG.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Quantificar bactérias redutoras de sulfato (BRS) nas amostras de sedimentos ao longo do tempo;
- b) Avaliar a resistência das bactérias redutoras de sulfato aos metais (ferro e manganês) nas amostras de sedimentos;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. ATIVIDADE MINERADORA E IMPACTOS AMBIENTAIS

A mineração no Brasil é atualmente uma das atividades que gera a maior renda e impacta diretamente no crescimento do país, uma vez que o território brasileiro apresenta configurações bastante atípicas e ricas em fontes de matéria prima mineral. Em 2014, foram produzidos aproximadamente 70 tipos diferentes de minérios, sendo 21 tipos de metais, 4 tipos de combustíveis e 45 tipos de minerais industriais, e sendo responsável por quase 5% do PIB nacional (LOPES, 2014).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Mineração (IBRAM, 2021), a produção nacional atingiu R\$149 bilhões no primeiro semestre de 2021, o que corresponde a um aumento de 98% em comparação com o ano anterior, e cerca de 44% da produção é realizada no estado do Pará, e 41% no estado de Minas Gerais.

A exportação em 2021 teve um aumento de 91% em comparação com o ano de 2020, devido ao aumento dos preços das commodities, passando de \$14,4 bilhões para \$27, 6 bilhões. O minério de ferro é o produto de maior destaque nacional neste setor, uma vez que no ano de 2021 sofreu um aumento de 126% em sua produção, provocando um faturamento direto de \$21,5 bilhões. Com isso, a atividade mineradora recolheu aos cofres públicos um total de R\$ 51,4 bilhões no ano de 2021 (IBRAM, 2021).

A mineração é uma atividade de grandes impactos, sejam eles positivos no âmbito socioeconômico e tecnológico, quanto negativos no ponto de vista ambiental. As áreas onde ocorrem as atividades de mineração são cercados por estoques de depósitos de resíduos, bacias de rejeitos e processamento de resíduos químicos. Sabe-se que, a cada tonelada de minério extraído é gerada ao menos uma tonelada de resíduo, e a liberação destes no meio ambiente pode ter um impacto negativo significativo nas águas superficiais, subterrâneas e recursos terrestres (AYANGBENRO; OLANREWAJU; BABALOLA 2018).

Os impactos atrelados à incidentes envolvendo mineradoras já foram reportados em anos anteriores. No dia 15 de novembro de 2015, por exemplo, a barragem de minério de ferro do Fundão, localizada na cidade de Mariana, no distrito de Bento Gonçalves (Minas Gerais), e que pertencia a empresa Samarco Mineração S. A., se rompeu. O

extravasamento do rejeito totalizou volume de aproximadamente 62 milhões de metros cúbicos (AZEVEDO, 2015).

A lama proveniente do rompimento atingiu o sistema hídrico da bacia do rio Doce, cuja área hidrográfica abrange 230 municípios dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, e é utilizado pelos mesmo como fonte de abastecimento público. (AZEVEDO, 2015). Os rejeitos de minério percorreram cerca de 22 quilômetros até o Rio Doce, e mais 55 quilômetros pelo rio Gualaxo do Norte até o rio do Carmo, totalizando 39 cidades atingidas pelos rejeitos nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo. (CASAS, 2019)

Este estudo direciona como objeto de estudo um rompimento de uma barragem de rejeito de minério de ferro, também no estado de Minas Gerais, ocorrido no Município de Brumadinho. A barragem I, que ficava localizada na Mina Córrego do Feijão e pertencia à empresa Vale S. A. se rompeu, e promoveu o maior acidente de trabalho do Brasil em número de perdas de vidas humanas, totalizando a morte de 272 pessoas (LIMA, 2021).

O rompimento da barragem liberou cerca de 12 milhões de metros cúbicos de rejeitos minerais, enriquecidos com cerca de 2,8 milhões de metros cúbicos de ferro e manganês. Os rejeitos provenientes do rompimento foram carreados por cerca de 10 km até encontrar o leito do rio Paraopeba, principal rio da bacia hidrográfica de mesmo nome. Análises mostraram concentrações consideradas não conformes pela legislação de alumínio, ferro, manganês, chumbo, fósforo acima das médias do período pré-rompimento, principalmente no período chuvoso (PACHECO *et al.*, 2022).

A Fundação SOS Mata Atlântica (2020) reportou o comprometimento do abastecimento público devido à elevada concentração de metais em amostras de água analisadas nos anos de 2019 e 2020, no qual a concentração média de ferro foi 15 vezes maior aos níveis máximos permitidos pela legislação (CONAMA 357/05). O manganês e o cromo foram detectados em concentrações médias até 14 vezes acima do limite máximo permitido de 0,1 mg/L, ao passo que o cobre foi medido em concentrações superiores em até 44 vezes o máximo permitido pela legislação.

Foi observado também alteração nos perfis metabólicos microbianas, percebidos até 115 km a jusante do rompimento, com aumento de até 60 vezes no número de unidades formadoras de colônias de bactérias tolerantes a ferro (THOMSOM, 2020). Outra

alteração microbiológica observada após o rompimento da barragem foi que a lama de rejeitos pode ter contribuído para o crescimento exacerbado de diferentes espécies de bactérias resistentes a antibiótico, a metais e indicadores de contaminação fecal ao longo do rio Paraopeba (THOMSON 2023).

3.2. ECOSSISTEMA LÍMNICO

Os ecossistemas aquáticos continentais, ou límnicos, são ambientes com características únicas, como taxas de transferência de nutrientes mais elevada, maior velocidade dos processos biogeoquímicos, e maior taxa de produtividade primária, em relação aos demais ecossistemas (ESTEVES, 2011).

Ao estudar os ambientes límnicos, um dos componentes de maior atividade metabólica são os sedimentos. Nele pode-se encontrar o resultado da interação de todos os processos químicos, físicos e biológicos que ocorrem no sistema. São compostos por uma mistura complexa de minerais, matéria orgânica e componentes biológicos, e constituem a parte de maior concentração de nutrientes, principalmente compostos orgânicos. A partir do estudo da composição química e biológica de um sedimento é possível estudar a evolução histórica, bem como obter avaliações de impactos ambientais que ocorreram naquele ambiente (ESTEVES, 2011).

A sedimentação é um processo que resulta no acúmulo de nutrientes no fundo do reservatório, incluindo as partículas abióticas e bióticas. A concentração dessas partículas varia ao longo do reservatório devido às diferenças hidrodinâmicas, à proximidade dos tributários, o tipo de contribuição destes, e às atividades primárias no local, pois quanto maior a atividade também será maior o acúmulo de compostos orgânicos e na sedimentação dos organismos associados a essas atividades (MEES, 2013). Além de nutrientes e matéria orgânica, os sedimentos também possuem a capacidade de acumular outros tipos de compostos, e por isso é importante realizar a análise dos sedimentos para a avaliação do nível de contaminação do ecossistema aquático objeto de estudo (MEES, 2013).

Um dos compostos que pode se acumular nos sedimentos são os metais. Esses, por sua vez, podem apresentar grande potencial de toxicidade para o ambiente, tornando

de extrema importância o conhecimento dos elementos químicos presentes nessa matriz, sua concentração, e as associações químicas desses elementos. Os metais ligados à parte interna de fragmentos minerais não representam grande potencial de toxicidade, no entanto, podem ser liberados em outras matrizes quando há erosão do fragmento em questão. Ainda, alguns metais associados a óxidos e hidróxidos de ferro e manganês, matéria orgânica e sulfetos insolúveis, bem como os que estão ligados a carbonatos, representa uma fração que solubiliza facilmente na água intersticial dos sedimentos, ou podem se ligar à superfície de sólidos por adsorção física ou troca iônica (LOPES, 2016).

3.2.1. Biota de sedimentos em ambientes límnicos

Os sedimentos em ambientes aquáticos continentais podem se dividir em dois tipos: zona litoral e zona profunda. Os sedimentos da zona litoral estão localizados nas margens ou próximas a essas, e possuem como características a baixa profundidade, presença de oxigênio e incidência maior de luz solar. A biota dessa zona é formada predominantemente por formas fitoplanctônicas e cianobactérias. O sedimento da zona profunda corresponde à área subjacente e abaixo na zona limnética e tem como principal característica a ausência de luz, pois a intensidade da luz no local é inferior a 1% da intensidade da luz do sol. E essa falta de luminosidade determina as espécies que poderão se desenvolver no ambiente (NICOLAU, 2010).

O sedimento, assim como as camadas inferiores da coluna d'água, são denominados ambientes bentônicos. Nela são encontrados os organismos chamados bentos (NICOLAU, 2010). A região bentônica pode estar localizada na região eufótica ou afótica, dependendo da profundidade do corpo hídrico, e possui uma diversidade taxonômica no qual podem ser encontrados algas perifíticas, macrófitas aquáticas, bactérias, protozoários, insetos aquáticos e outros invertebrados e algumas espécies de peixes (ESTEVEZ, 2016).

Os bentos são um dos principais bioindicadores de todo ecossistema aquático. Isso se dá ao fato de fazerem parte da dieta de vários táxons zoológicos, podem ter importante atuação na competição por recursos naturais, além de atuarem como predadores de certas espécies. Este grupo biótico também é considerado muito sensíveis às variações físico-químicas do ambiente (SILVA, 2018).

Nas camadas mais profundas dos lagos, uma das principais características é a ausência parcial ou total de oxigênio, fazendo com que apenas organismos anaeróbios estritos e microrganismos microaerófilos se desenvolvam. O metabolismo predominante passa a ser, ao invés do respiratório, fermentativo e metanogênico (NICOLAU, 2010).

Um grupo de organismos muito estudado que está presente nessas camadas são as bactérias. São microrganismos que adaptam suas necessidades nutricionais básicas a partir da interação com o meio em que estão inseridas. Possuem a capacidade de otimizar a alocação de recursos disponíveis no ambiente, maximizando a síntese das proteínas que são relevantes às condições presentes no ambiente, e minimizando a síntese de proteínas que sejam desnecessárias (NANDA *et al.*, 2019).

Essa versatilidade funcional microbiana torna possível a adaptação de culturas de bactérias em meio com condições diversas, muitas vezes em condições de estresse ambiental, como por exemplo baixas temperaturas, pH muito ácido ou básico, pois mesmo nessas condições a comunidade microbiana tem a capacidade de se adaptar e adquirir características que torna possível a sua sobrevivência (NANDA *et al.*, 2019).

Um exemplo de condições desfavoráveis é um ambiente contaminado por metais pesados, em que há grupos de bactérias que podem desenvolver características genéticas que torna possível a adaptação e crescimento nesses ambientes. Essas características estão relacionadas ao transporte através da membrana celular, acúmulo na parede celular, aprisionamento intra e extracelular, formações de complexos e reações redox. Com isso, alguns metais podem desenvolver papéis importantes no metabolismo bacteriano de forma direta ou indireta, fazendo com que seja possível esses microrganismos se desenvolverem em ambientes com essa composição (NANDA *et al.*, 2019).

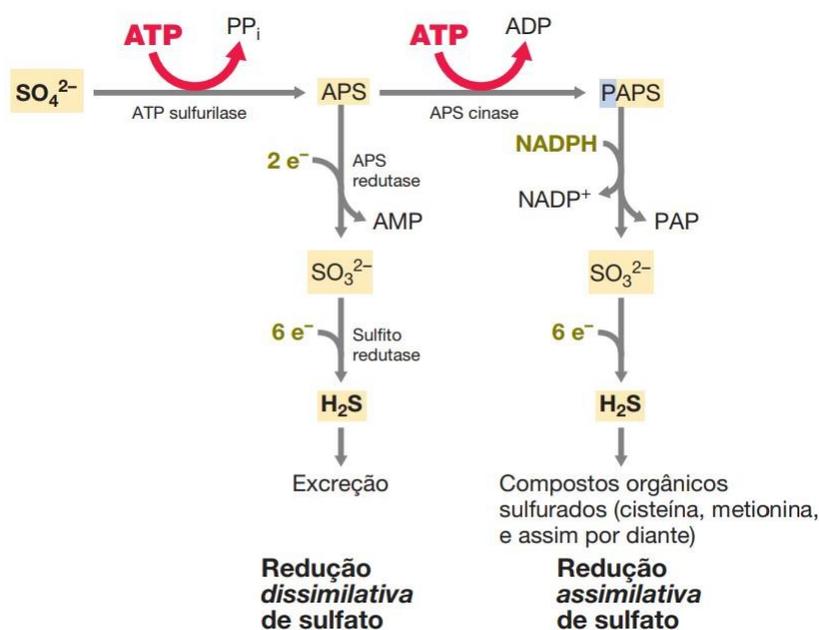
3.3. BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO (BRS) E RESISTÊNCIA À METAIS

São conhecidos cerca de 30 gêneros de microrganismos capazes de reduzir sulfato, em 4 diferentes filos de Bactéria (*Deltaproteobacteria*, *Firmicutes*, *Thermodesulfobacteria*, *Nitrospirae*) e o gênero de Archaea *Archaeoglobus*, pertencente ao filo *Euryarchaeota* (MADIGAN *et al.*, 2016).

A reação de redução de sulfato ocorre por meio da ativação inicial por intermédio da molécula do ATP sulfurilase, que age como catalizador na ligação entre o íon SO_4^{2-} com um fosfato, formando a adenosina-fosfosulfato. Com isso, o sulfato passa para sulfito e sua energia, que antes era extremamente negativa, passa a zero, e pode se ligar com doadores de elétrons como o NADH (MADIGAN *et. al.*, 2016).

Existem dois grupos de redutores de sulfato: os dissimilativos e os assimilativos. O primeiro grupo é formado pelos microrganismos que conseguem reduzir o sulfato a sulfito por meio da enzima APS redutase, liberando AMP nesse processo. Já o segundo grupo precisa da adição de outro fosfato à APS para que ocorra a redução de sulfato, e com isso há formação de fosfoadenosina-fosfosulfato (PAPS, phosphoadenosine phosphosulfate) (MADIGAN *et. al.*, 2016).

Figura 1 - Modelo esquemático das reduções de sulfato dissimilativa e assimilativa



Fonte: Madigan *et. al.* (2016, p. 414).

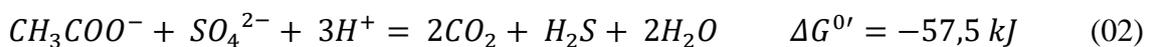
Ambos os grupos, dissimilativos e assimilativos, promovem a formação de sulfito como produto, que dará origem ao sulfeto por meio da ação enzimática do sulfito redutase. Em algumas situações, como na presença de microrganismos incapazes de oxidar acetato (algumas espécies dissimilativos, que ao final do processo excretam o

acetato) ou na presença de lactato, a enzima hidrogenase desempenha um papel importante no processo da redução de sulfato, por meio da conversão de lactato em acetato via piruvato, produzindo H_2 que será oxidado dentro da célula pela hidrogenase periplasmática (MADIGAN *et. al.*, 2016).

Ao analisar as taxas de crescimento das BRS é possível afirmar que há formação de um ATP para cada SO_4^{2-} que é reduzido a HS^- . A equação da reação (01) que ocorre ao utilizar o H_2 como doador de elétrons é (MADIGAN *et. al.*, 2016):



Ao se utilizar o lactato ou piruvato como doador de elétrons no lugar do H_2 , durante a oxidação do piruvato a acetato há formação de um ATP a mais, além da formação de CO_2 por meio de acetil-CoA e acetil-fosfato, como mostra a reação (02) (MADIGAN *et. al.*, 2016):



Essa reação é mais comum em BRS de ambientes marinhos, estuários, enquanto que o caso anterior é comum nos microrganismos de água fresca. A oxidação do acetato ocorre por meio do acetil-CoA. Alguns grupos de redutoras de sulfato possuem capacidade de crescer de maneira autotrófica ao utilizar o H_2 , utilizando a via do acetil-CoA para absorver o CO_2 (MADIGAN *et. al.*, 2016).

Vieira (2021) apontou em seu estudo bibliográfico que existem alguns fatores que podem inibir o metabolismo das BRS, como pH, a relação volumétrica entre a fonte de carbono disponível e a drenagem ácida, a concentração de sulfato presente no meio, o tempo de detenção hidráulica e a demanda química de oxigênio. Também é citada a concentração de oxigênio dissolvido, porém esse parâmetro ainda não foi muito explorado, apesar de haver casos onde há atividade metabólica temporária de BRS em condições aeróbias.

Segundo Sánchez-Andrea *et. al.* (2014), quanto mais energia a célula microbiana gasta para manter o pH interno em equilíbrio com o do ambiente, menos energia terá para

a atividade metabólica da redução de sulfato. Embora alguns cálculos termodinâmicos mostrem que quanto menor o pH maior a eficiência na remoção de sulfato, apresentando maior energia livre de Gibbs e resultando em um maior ganho de energia, é preciso que essa energia seja suficiente para suprir a energia gasta durante a exportação de prótons da célula durante o processo de regulação de pH, e somente assim é possível observar algum crescimento.

O mesmo ocorre com a presença de ácidos orgânicos e sulfeto no meio. Quanto maior a concentração desses compostos no meio maior será a energia gasta pela célula microbiana durante o processo de bombeamento de prótons através da membrana celular, e como consequência, menor a energia disponível para suas atividades metabólicas, e dessa forma, menor a eficiência na redução de sulfato (SÁNCHEZ-ANDREA *et. al.*, 2014).

A presença de metais pode afetar diretamente no metabolismo das BRS, desde a inibição do crescimento bacteriano, prolongar a fase de latência na produção de sulfetos, redução da atividade redutora de sulfato até a morte dos microrganismos (VILLA-GÓMEZ, 2013). As BRS (bactérias redutoras de sulfato) são um exemplo de grupo de microrganismos que podem desenvolver resistência à ambientes contendo concentrações de metais. É um grupo formado por microrganismos procariontes anaeróbios estritos ou facultativos, que habitam ambientes anóxicos ou com baixa concentração de oxigênio, como lagos, pântanos, depósitos de petróleo, dutos subterrâneos, sedimentos aquáticos límnicos, estuário e até mesmo em águas residuárias industriais (LI *et al.*, 2018).

A resistência bacteriana à exposição a metais está diretamente relacionada a determinantes genéticos como plasmídeos, que abriga os principais genes responsáveis pela resistência à vários metais tóxicos, como o zinco, e cromo (NANDA *et al.*, 2019). Em contrapartida, o sulfeto gerado no processo reage de forma rápida com os metais dissolvidos no ambiente formando sulfetos metálicos, e dessa forma reduzindo a tanto a toxicidade quanto a biodisponibilidade dos íons metálicos (VILLA-GÓMEZ, 2013).

As BRS resistentes à metais utilizam o H_2 ou alguns compostos orgânicos (lactato e piruvato) como doadores de elétrons, apesar de haver espécies que também oxidam álcoois de cadeia curta, como etanol, propanol e butanol. Existem espécies também que utilizam H_2 como doador de elétrons, SO_4 como acceptor de elétrons e CO_2 como fonte de carbono. Algumas são capazes de utilizar vias metabólicas alternativas

para reduzir nitrito e alguns sulfonados, como o isetionato, e podem fermentar compostos orgânicos, como o piruvato, por meio de uma reação fosforoclástica a H_2 , CO_2 e acetato (MADIGAN *et al.*, 2016). Ao utilizar o SO_4 como acceptor final de elétrons na degradação da matéria orgânica sob condições anaeróbias, reduz esse sulfato a sulfeto de hidrogênio, reagindo com os metais livres presentes no ambiente e formando sulfetos metálicos estáveis (NIU *et al.*, 2018).

Metais presentes no ambiente podem exercer um efeito de favorecimento na presença de microrganismos resistentes por meio da co-seleção devido a uma pressão seletiva que ocorre no ambiente (AMACHAWADI *et al.*, 2013). Esse efeito se dá devido a capacidade desses microrganismos na remoção ou diminuição da toxicidade dos metais no ambiente, mecanismo este que podem ser utilizados como bioindicadores e até mesmo como ferramenta biotecnológica na remediação e recuperação dessas áreas (DEFALCO, 2022).

3.3.1. Estudos de resistência e remoção de sulfato pelas BRS em diferentes condições de operação

A aplicação prática das bactérias redutoras de sulfato no tratamento de águas contaminadas com metais, em especial drenagem ácida de mina, vem sendo muito estudada por pesquisadores de todo o mundo e resultados promissores estão sendo obtidos nesses estudos, mesmo em condições diferentes de pH, concentração de metais e sulfato e diferentes modos de operação.

Zhang e Wang (2016) publicaram um estudo em que utilizaram bactérias redutoras de sulfato em um biorreator anaeróbio de leito compactado de fluxo ascendente para o tratamento de drenagem ácida de mina contaminada por metais. O fluido afluente do reator possuía um pH de 2,8 de concentrações de metais bastante elevadas (Fe 463 mg/L, Mn 79 mg/L, 76 mg/L, Cd 58 mg/L e Zn 118 mg/L). Ao final do estudo, notou-se que o pH final variava entre 7,8 e 8,3, e as concentrações de Fe, Zn e Cd tiveram uma taxa de redução superiores a 99,9%, enquanto que para o Mn a taxa foi de 42,1 a 99,3%.

Em um estudo publicado em 2015, Trumm *et al.* utilizou reatores biológicos de fluxo ascendente de casca de mexilhão para tratar drenagem ácida de uma mina de carvão. As condições iniciais dos efluente eram pH que variava de 2,9 a 3,1; presença de metais nas seguintes concentrações: Fe (108 mg/L), Al (28 mg/L), Mn (24 mg/L), Zn (6,3 mg/L)

e Ni (1,4 mg/L), e concentrações de sulfato de 2100 mg/L. O tempo de residência total dos reatores foi de 141 dias e observou-se que o pH do fluido de saída do reator sofreu alcalinização, com valores entre 7 e 8. Além disso, a concentração de sulfato final foi de 500 mg/L e a taxa de remoção de metais foi de 96 a >99 % para Fe, acima de 99% para o Al, entre 95 a >99 % para o Ni, de 98 a >99 % para o Zn e remoção máxima de 22% para o Mn.

Yabuki *et al.* (2020) publicou um estudo de monitoramento das concentrações de alguns metais em um reator de leito fixo e fluxo ascendente, utilizando como efluente drenagem ácida de mina sintética, rica em sulfato. O processo foi dividido em 4 fases, e pode ser observado um alto desempenho na remoção de metais nas fases 2 e 4, sendo obtidos médias de remoção de 92 ± 4 para o Co, 87 ± 8 para o Cu, 71 ± 21 para o Fe, 61 ± 24 para o Mn e 92 ± 4 Ni e 86 ± 8 para o Zn. Os valores de remoção obtidas foram considerados satisfatórios para os autores, mesmo para o Mn que, apesar de demonstrar a menor remoção dentre os metais analisados, foi um resultado promissor devido dificuldade de remoção em drenagem ácida de mina real, sendo necessário na maioria das vezes o uso de processos físico-químicos complementares.

Rodrigues *et. al.* (2019) realizou um estudo da eficiência das BRS na remoção de sulfato de água residuária de proveniente de drenagem ácida de mina ao utilizar a quitina presente em resíduos de casca de camarão como fontes de carbono em reator anaeróbico. Ao final do ensaio foi possível observar que houve além do aumento de pH do fluido devido a presença de carbonato de cálcio na casca do camarão, substância esta que age na remoção de acidez, houve redução de 99,75% do sulfato, 99,04% do Fe, 98,47% do Al e 100% do manganês.

Vieira (2014) realizou o estudo da precipitação de metais por sulfeto gerado a partir da atividade microbiana das BRS em reator em batelada em drenagem ácida de mina, utilizando etanol como acceptor final de elétrons. Esse estudo foi realizado em duas etapas, sendo que a primeira haveria variação do pH e na segunda etapa variação da concentração de metais, e com isso pode-se observar que em ambas etapas, o pH do meio tinha tendência a alcalinizar o meio, com variação entre 7 e 8 ao final dos ciclos. Pode-se observar que a redução de sulfato estava diretamente ligada à concentração de metal no meio: quanto maior a concentração de metal, maior a eficiência de remoção de sulfato. Enquanto havia apenas Fe adicionado, a remoção foi de 57%, ao adicionar Zn a taxa

aumentou para 61%, chegando a 82% ao adicionar Cu. Quanto a remoção de metais, as taxas obtidas ao final do ensaio foram de 92%, 99% e 100% para Fe, Zn e Cu, respectivamente.

Em 2015, Castro Neto realizou um estudo avaliando o uso da biorremediação com as BRS em tratamento de drenagem ácida de mina avaliando a remoção de sulfato e precipitação de metais por meio do sulfato produzido durante o processo. Utilizou-se um reator anaeróbio em bateladas sequenciais e ao final do ensaio foi observado que o pH mudou de 4,0 para 6,5-7,4, a remoção de sulfato apresentou uma taxa entre 43% e 65%, a concentração de sulfeto aumentou de 3,7 mg/L para 56,6 mg/L e as taxas de remoção de metais foram superiores a 99% para Fe, Zn e Cu.

3.4. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

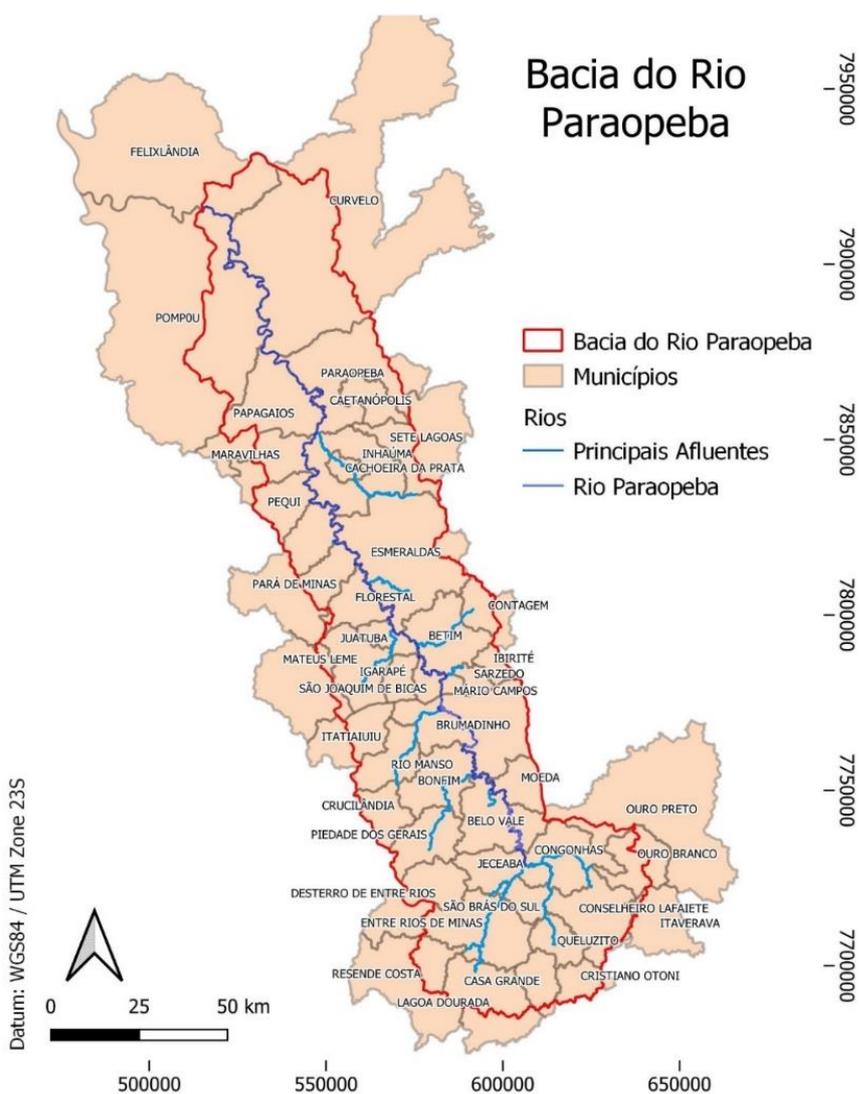
3.4.1. Bacia do rio Paraopeba

A Bacia Hidrográfica do Rio Paraopeba está localizada no estado de Minas Gerais e é uma das sub-bacias que compõem a Bacia do Rio São Francisco. Ela é dividida em Alto Paraopeba, Médio Paraopeba e Baixo Paraopeba, e tem como curso d'água principal o rio de mesmo nome da bacia, o Paraopeba, cuja nascente está localizada no município de Cristiano Ottoni e percorre cerca de 510 quilômetros até sua foz em Felixlândia, na represa de Três Marias. Seus principais afluentes são os rios Maranhão, Betim, Camapuã, Manso e Pardos e os ribeirões São João, Serra Azul e Florestal (LARA; MELO, 2017).

De acordo com os dados do Portal dos Comitês de Bacias (IGAM, 2013), apresenta uma área aproximada de 12054,25 km² e corresponde a cerca de 5,14% da área total da Bacia do Rio São Francisco. Esta área está inserida em 48 municípios do estado de Minas Gerais e são estes Belo Vale, Betim, Bonfim, Brumadinho, Cachoeira da Prata, Caetanópolis, Casa Grande, Congonhas, Conselheiro Lafaiete, Contagem, Cristiano Ottoni, Crucilândia, Curvelo, Desterro de Entre Rios, Entre Rios de Minas, Esmeraldas, Felixlândia, Florestal, Fortuna de Minas, Ibirité, Igarapé, Inhaúma, Itatiaiuçu, Itaúna, Itaverava, Jeceaba, Juatuba, Lagoa Dourada, Maravilhas, Mario Campos, Mateus Leme, Moeda, Ouro Branco, Ouro Preto, Papagaios, Pará de Minas, Paraopeba, Pequi, Piedade dos Gerais, Pompéu, Queluzito, Resende Costa, Rio Manso, São Brás do Suaçuí, São

Joaquim de Bicas, São José da Varginha, Sarzedo e Sete Lagoas. A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** mostra mapa geral da bacia.

Figura 2 - Mapa mostra vista geral da bacia do rio Paraopeba



Fonte: Da autora.

A bacia do Rio Paraopeba desempenha um importante papel no abastecimento público de água no estado de Minas Gerais, uma vez que é a principal responsável pelo fornecimento de água não apenas para a capital do estado, Belo Horizonte, como para sua região metropolitana e por esse motivo pode-se dizer que um dos maiores impactos causados pelo rompimento da barragem de Brumadinho foi no abastecimento de água,

uma vez que as águas do rio ficaram impróprias ao consumo humano. (RODRIGUES, 2019)

A litologia da Bacia é composta por diversas unidades, que podem ser associados a três compartimentos geológicos distintos: Embasamento Cristalino (Complexo Granito-Gnáissico-Migmatítico – CGGM), Quadrilátero Ferrífero e Bacia Intracratônica do São Francisco (Grupo Bambuí) (DURÃES, 2010).

O relevo da bacia é caracterizado por planaltos, depressões e áreas dissecadas, associadas as seguintes unidades geomorfológicas: Planalto Dissecado do Centro-Sul e Leste de Minas, Depressão São Franciscana, Planalto do São Francisco e Quadrilátero Ferrífero (DURÃES, 2010).

Na região pode ser encontrado rochas do tipo granito-gnáissicas em locais onde há domínio de solos do tipo Argissolo com associações a Cambissolos. Essas áreas estão compreendidas na bacia do rio Catuaba de Cima, a montante do rio Camapuã, nas bacias do rio Brumado, no ribeirão da Pedra, na região de Belo Vale, Moeda e Piedade dos Gerais. Podem-se também ser encontrados Cambissolos de forma mais contínua nas bacias dos rios Camapuã e rio Grande (CIBAPAR, 2010).

Os Latossolos, por sua vez, são encontrados associados aos Argissolos entre os leitos dos rios Nova Ponte, Brumado e Grande, bem como predominantemente nas bacias dos rios Maranhão, Manso e Camarão. E por fim, os Neossolos Litólicos coincidem as áreas de escarpas e vertentes íngremes, composta pelo Quadrilátero Ferrífero (SILVA, 2015).

Dentre as atividades econômicas que estão instaladas na bacia, como exploração mineral, siderúrgicas, indústrias petroquímicas e automobilísticas, produção de bebidas, geração de energia elétrica, agropecuária e agricultura. A parte mais elevada da bacia, localizada na região sul próxima da nascente do Rio Paraopeba há predomínio de atividades de mineração, sendo a principal atividade econômica da região. O uso e ocupação do solo inadequados na bacia, bem como o lançamento de esgotos domésticos e industriais nos corpos hídrico, fizeram com que, já em 2011 os somatórios das cargas orgânicas ultrapassassem a capacidade natural de autodepuração do rio Paraopeba, fazendo com que essa demonstrasse uma contaminação significativa e já era imprópria ao consumo, e que se agravou com a contaminação da pluma de minério proveniente do rompimento da barragem (POLIGNANO, 2020).

3.4.2. Reservatório Retiro Baixo

O Reservatório de Retiro Baixo é uma represa ou lago artificial construída no baixo curso do rio Paraopeba, entre os municípios de Curvelo e Pompéu. A área inundada pelo reservatório é de 22,58 km², com comprimento de 37.600 m e largura média de 706 m. Possui profundidade média do reservatório de 22 m e máxima de 45 m. Seu volume útil é de 241.590 m³, com cota máxima de inundação de 616 m e vida útil do reservatório de 47 anos (ELETROBRÁS, 2022)

Esse reservatório foi construído com a finalidade de geração de energia elétrica pela empresa Retiro Baixo Energética S/A (RBE), formada por Furnas (49%), Orteng Equipamentos e Sistemas (25,5%), Logos Engenharia S/A (15,5%) e Arcadis Logos Energia S/A (10%). Possui uma potência de geração instalada de 82 MW, em duas unidades Kaplan de eixo vertical, com potência unitária de 41 MW. O rio Paraopeba, alguns quilômetros a jusante da UHE Retiro Baixo, deságua no lago da Usina Hidrelétrica de Três Marias. (ANEEL, 2005)

Após o rompimento da barragem em Brumadinho, os rejeitos e a pluma de minério foram carregadas ao longo de todo o Rio Paraopeba, tendo como destino final o reservatório de Retiro Baixo. Cerca de 40 milhões de metros cúbicos de água foram esvaziados do reservatório para poder receber parte da pluma de minérios, a fim de evitar que esses rejeitos passem pelo reservatório de Retiro Baixo e atinja o Reservatório de Três Marias, que fica a 310 km da usina. E com isso, as comportas da usina precisaram ser fechadas por um tempo, para evitar que as turbinas fossem danificadas pelos rejeitos (MONTENEGRO, 2019).

O reservatório, como disposição final dos rejeitos, tem contido a parte mais fina do sedimento, e como se trata de um ambiente lântico, há uma tendência natural de sedimentação, uma vez que a velocidade de transporte é baixa e quase nula. Esse material é composto principalmente por argila e metais. Dentre os impactos causados no reservatório pelo rompimento da barragem, pode-se citar que o aumento de sedimentos finos pode causar o entupimento sistemas filtrantes (de plâncton, a peixes) e causar morte, o material mais grosseiro por estar em constante movimento no leito fluvial impacta diretamente na dinâmica ecológica da comunidade bentônica, isso sem citar a capacidade de adsorção e transporte de metais pesados (POLIGNANO, 2020)

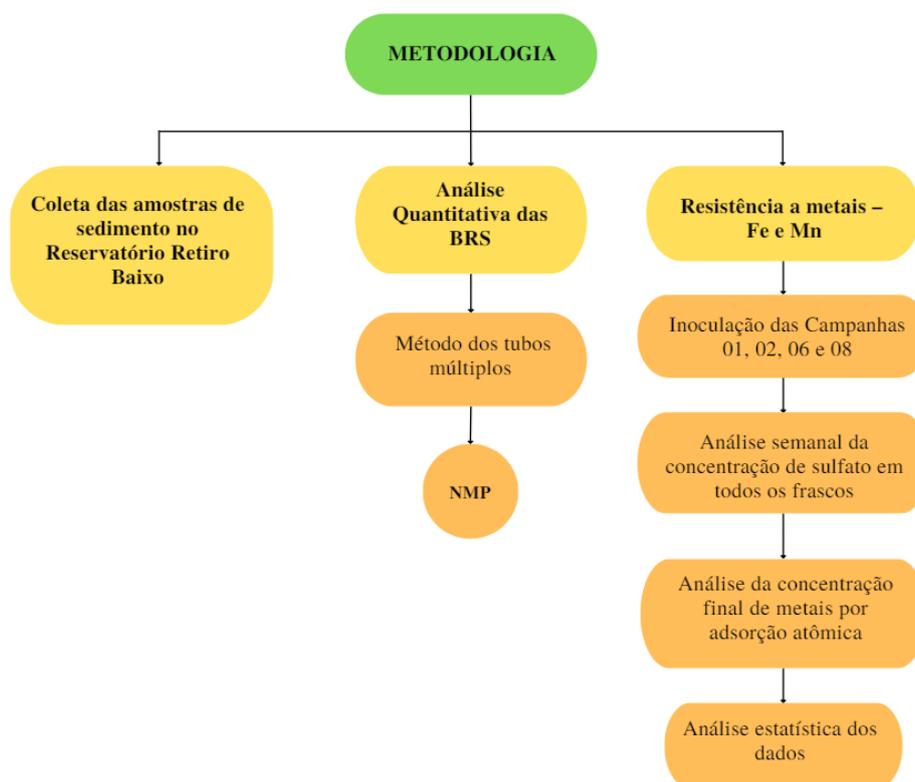
Foi realizada uma medição no local em novembro de 2019, e constatou-se valores de turbidez muito acima do limite permitido pela legislação, bem como os níveis de manganês, ferro e alumínio dissolvidos. A presença do sedimento acima dos parâmetros permitidos pela legislação provoca mudanças muito significativas no habitat de peixes e bentos, e afetam diretamente a biota aquática. Esses metais identificados têm como característica a bioacumulação, ou seja, incorporam à cadeia alimentar e contaminam todos os seres ligados à cadeia trófica (POLIGNANO, 2020).

Devido essa preocupação com o acúmulo de metais no sedimento e a forma como isso pode impactar no comportamento dos microrganismos presentes nesse sedimento, é importante a realização de estudos e avaliações periódicas, como as apresentadas neste trabalho para que, por meio dos dados obtidos soluções possam ser desenvolvidas para a mitigação dos danos ambientais ocorridos no local.

4. METODOLOGIA

A metodologia aplicada neste estudo pode ser observada de forma compilada no fluxograma da Figura 3. Cada passo está detalhado nos itens a seguir.

Figura 3 - Fluxograma contendo passos da metodologia compilado

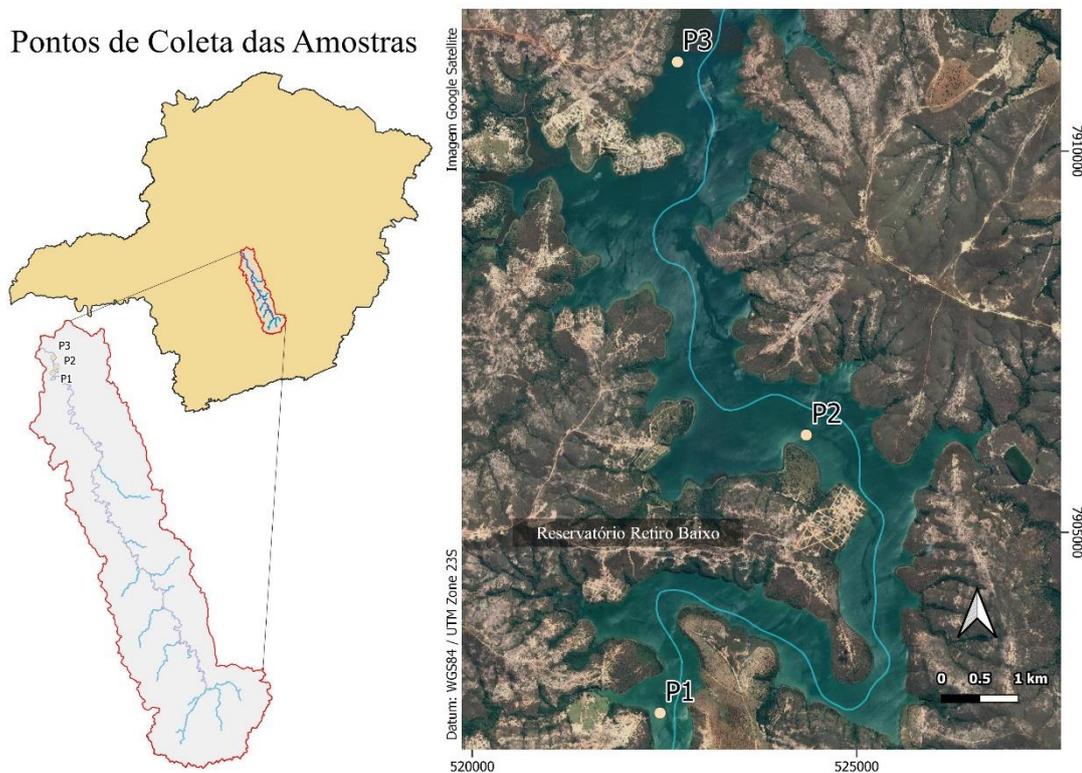


Fonte: da autora.

4.1. PONTOS DE AMOSTRAGEM

Para avaliar o sedimento de fundo, foram realizadas 09 amostragens, em três pontos de amostragem localizados próximos à zona profunda do reservatório de Retiro Baixo. O ponto P1 está localizado próximo ao início ou zona fluvial, o ponto P2 na região central ou zona intermediária e o ponto P3 encontra-se próximo ao vertedouro ou zona lacustre (Figura 4 **Erro! Fonte de referência não encontrada.**). As coordenadas referentes aos pontos foram obtidas por meio de um GPS (Global Positioning System) modelo Garmin GPSMAP 62S (precisão de ± 3 metros; Figura 5), e os valores estão na Tabela 1.

Figura 4 - Rio Paraopeba e reservatório de Retiro Baixo com a localização dos pontos de amostragem



Fonte: Da autora.

Tabela 1: Coordenadas dos pontos de coleta de amostra. Datum: WGS84

Ponto	Zona	Latitude	Longitude
P1	23K	7.903.991 m S	523.590 m E
P2	23K	7.906.429 m S	524.141 m E
P3	23K	7.911.894 m S	523.032 m E

Fonte: Da autora.

Em todos os pontos de amostragem foram retirados dados relativos à pressão atmosférica, temperatura do ar, profundidade da zona eufótica (Tabela 2). Para isso foram utilizados os seguintes equipamentos: Central Meteorológica Brunton - ADC Summit, temperatura do ar (resolução $0,1\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$), pressão atmosférica (resolução $0,1\text{ hPa} \pm 1,5\text{ mb}$) e altímetro (resolução $1,0\text{ metro} \pm 3,0\text{ metros}$, Figura 6). A zona eufótica do reservatório foi medida com auxílio de um disco de Secchi (BICUDO; BICUDO, 2004; Figura 7).

Tabela 2: Dados relativos às coletas das amostras

Campanha	Data de Coleta	Ponto	Pressão (mb)	Temperatura (°C) Ar	Profundidade (m)	Disco de Secchi (m)
1	01/02/2019	P1	944,7	31,5	13,40	1,50
		P2	943,6	32,4	5,05	1,50
		P3	942,7	30,6	19,50	1,80
2	29/04/2019	P1	939,8	31,8	14,05	0,55
		P2	940,1	32,7	16,25	0,90
		P3	939,1	32,9	21,60	1,05
3	06/08/2019	P1	952,0	26,4	7,60	-
		P2	951,0	25,4	14,45	-
		P3	950,4	25,8	21,55	-
4	28/11/2019	P1	938,4	32,5	8,00	0,35
		P2	938,0	31,4	11,50	1,80
		P3	937,1	31,6	29,00	3,00
5	26/05/2021	P1	944,5	28,1	8,55	5,00
		P2	943,1	31,2	14,90	5,00
		P3	942,8	30,3	29,90	5,00
6	26/08/2021	P1	942,0	32,3	7,15	4,00
		P2	940,0	35,6	11,35	1,50
		P3	939,0	31,8	27,35	2,80
7	25/11/2021	P1	942,9	30,7	9,85	0,35
		P2	942,0	31,1	14,25	0,50
		P3	940,7	31,9	20,55	0,90
8	23 e 24/02/2022	P1	947,5	31,8	6,95	1,40
		P2	946,1	32,4	6,80	2,20
		P3	945,6	26,0	14,25	3,00
9	26/05/2022	P1	951,0	26,7	6,50	1,50
		P2	949,3	26,7	9,20	1,50
		P3	948,5	28,0	17,85	1,50

Fonte: Da autora.

Foram medidos os parâmetros físico-químicos in situ (pH, oxigênio dissolvido, turbidez, potencial oxi-redutor, temperatura, condutividade, profundidade e sólidos totais) da água superficial, de meio de coluna d'água, e de fundo (± 1 metro acima do sedimento), utilizando uma sonda multiparâmetros da marca Horiba (Figura 8).

O sedimento de fundo foi coletado com auxílio de um coletor de testemunhos curtos KAJAC (Figura 9), em profundidade abaixo de 15 cm. Após a coleta, o sedimento

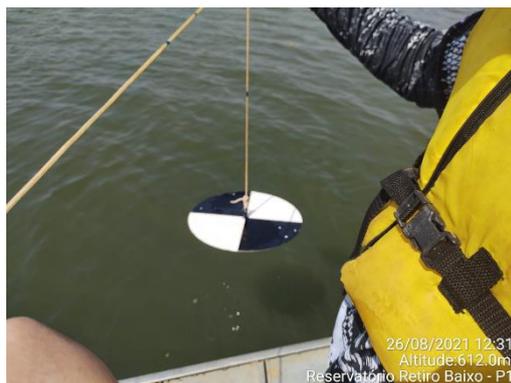
foi acondicionado em sacos plásticos estéreis, devidamente identificados, armazenados em gelo e mantidos em isopores térmicos até a chegada ao laboratório de Microbiologia da UNIFAL – Campus Poços de Caldas.

Figura 5 - GPS (Global Positioning System) modelo Garmin GPSMAP 62S utilizado para geolocalização em campo



Fonte: Silveira, 2021.

Figura 7 - Disco de Secchi utilizado para mensuração da zona eufótica utilizada em campo



Fonte: Silveira, 2021

Figura 6 - Central Meteorológica Brunton - ADC Summit utilizado para obter dados de temperatura do ar, altitude e pressão atmosférica em campo.



Fonte: Silveira, 2021.

Figura 8 - Sonda Multiparâmetros da marca Horiba utilizada para coleta dos parâmetros físico-químicos em campo



Fonte: Silveira, 2021.

Figura 9 - Coletor de testemunhos curtos KAJAC utilizado na amostragem do sedimento em campo



Fonte: Silveira, 2021.

4.2. ANÁLISE QUANTITATIVA DAS BRS PELO MÉTODO DOS TUBOS MÚLTIPLOS

A quantificação de bactérias redutoras de sulfato foi realizada no Laboratório de Microbiologia Ambiental, por meio do método do número mais provável (NMP) de tubos múltiplos (SAKAMOTO, 2009). Esse método consiste na detecção do crescimento microbiano e na obtenção de um resultado quantitativo baseado na contagem de tubos positivos e negativos por meio do uso de tabelas para o cálculo (APHA, 2017).

Os ensaios foram realizados utilizando meio de cultura Postgate C (0) (ILHAM-SUNGUR; CANSEVER; COTUK, 2007) autoclavado a 121°C por 20 minutos. Após os frascos resfriarem em temperatura ambiente sem contato com a luz, foram adicionadas uma solução de sulfato de ferroso ($\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 4g/L) e outra solução de sulfeto de sódio (Na_2S 4g/L). Essas últimas soluções adicionadas reagem entre si por meio da ação redutora das BRS, formando sulfato de sódio e o precipitado negro (sulfeto de ferro) (SAKAMOTO, 2009).

Para inoculação, um mix (mistura) contendo a mesma proporção de amostra de sedimentos dos 3 pontos coletados em cada campanha realizada foi utilizado para realização de diluição seriada até a diluição 10^{-7} para as amostras das campanhas de 1 a 8, e com diluição até 10^{-9} para a amostra de sedimento coletado na campanha 9. Cada diluição foi inoculada em quintuplicada em frascos de antibiótico de 40 mL contendo 8,8

mL de Postgate C, 1 ml da amostra diluída e alíquotas de 0,1 mL das soluções de sulfeto de sódio (4 g/l) e sulfato ferroso (10 g/l). Após este procedimento, os frascos foram cultivados sob mistura gasosa de N₂/CO₂ (80/20), à 30°C durante 30 dias.

Passado o período de ensaio, os frascos que apresentarem redução do sulfato a sulfeto, apresentaram coloração escura devido ao precipitado do sulfeto de ferro formaram um precipitado preto, facilmente identificável, como demonstrado na Figura 10. Deste modo, o método considera um frasco positivo quando há atividade de redução de sulfato aparente, ao passo que os frascos considerados negativos apresentaram meio de cultura permanece sem alterações.

Na Figura 10 **Erro! Fonte de referência não encontrada.** é possível observar a aparência dos frascos ao final do tempo de inoculação, em que alguns apresentam coloração preta (positivos) e outros permanecem na coloração clara, característica do meio de cultura.

Figura 10 - Frascos de NMP ao final do tempo de inoculação



Fonte: Da autora.

Por meio da contagem dos tubos positivos e negativos de três diluições consecutivas, selecionou-se a combinação correspondente e obteve-se o valor NMP. Com este dado, calculou-se o valor NMP (número mais provável) para o experimento de acordo com a Equação 03 (APHA, 2017):

$$\frac{NMP}{100ml} = Valor\ NMP \times \frac{10}{V} \quad (03)$$

Onde V corresponde a menor diluição da série de combinações de tubos positivos.

4.3. ENSAIO DE RESISTÊNCIA DAS BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO (BRS) A METAIS

4.3.1. Ensaio de resistência ao ferro

Para realização de ensaio de resistências das bactérias redutoras de sulfato (BRS) à metais no Laboratório de Microbiologia Ambiental, as amostras selecionadas para os ensaios correspondem ao sedimento das campanhas 01, 02, 06 e 08, e foram escolhidas seguindo os seguintes critérios: I) Campanha 01: correspondente ao período de 5 dias após o rompimento da barragem; II) Campanha 02: período após 3 meses do rompimento; III) Campanhas 06 e 08: As duas últimas campanhas analisadas correspondem a 30 e 36 mês após o rompimento da barragem e apresentaram, respectivamente, a menor e a maior concentração de células microbianas por 100 ml no ensaio quantitativo de NMP.

Utilizou-se frascos de antibióticos de 100 mL, adicionando-se em cada frasco 43,5 ml de meio de cultura Postgate C (Anexo A) no qual foi acrescentada 1 ml de solução de oligoelementos ácidos e 1ml de solução de oligoelementos básicos por litro de meio basal (Anexo B) (ZAMPIERI, 2020). Os frascos foram autoclavados a 121°C por 20 minutos e resfriados em temperatura ambiente em local sem contato com a luz.

A seguir foram adicionados 0,5 ml da solução de vitamina (Anexo C), 0,5 ml da solução redutora (N_2S 4g/L), 0,5 ml da solução de sulfato ferroso ($Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$ 4g/L). Os frascos foram então inoculados, utilizando 5 ml de amostra de sedimento, coletados com uma seringa estéril. O frasco teste totalizou 50ml de volume final após a inoculação.

Foi observado em alguns trabalhos, como de Vieira (2014) e Castro Neto (2015) a utilização de concentrações de ferro de 100 mg/L, e ambos obtiveram eficiências satisfatórias na remoção de sulfato, bem como Zhang e Wang (2016) que realizaram estudo com drenagem ácida de mina contendo concentração de 463 mg/L de Fe na amostra, e obtiveram eficiência acima de 99%. Dessa forma, foram escolhidas quatro concentrações para serem adicionadas nos frascos com base nos estudos citados, sendo estas de 100 mg/L, 200 mg/L, 300 mg/L e 400 mg/L. A solução de ferro utilizada foi

$\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 4g/L, mesma solução utilizada pelos autores citados anteriormente. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada.

Foram realizados dois controles: I) biótico, contendo apenas meio de cultura autoclavado e o inóculo, sem adição do metal; II) abiótico, no qual não houve adição da amostra de sedimento, apenas o meio de cultura autoclavado e a solução de ferro. As soluções de N_2S e $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ foram adicionadas nos dois controles, na mesma concentração que os frascos de ensaio (tratamento). Os fracos foram incubados no escuro a 30°C por 30 dias.

4.3.2. Ensaio de resistência ao manganês

Os ensaios com o manganês foram realizados utilizando o mesmo meio de cultura (Postgate C), acrescido com as soluções oligoelementos ácidos e básicos, solução sulfato de ferro, solução redutora de sulfeto de sódio. Foram também inoculados da mesma forma, utilizando as amostras das mesmas campanhas analisadas no ensaio de resistência a ferro.

As concentrações de manganês foram escolhidas com base nos estudos de Trumm et al. (2015) e Zhang e Wang (2016). O primeiro que obteve eficiência máxima de remoção de manganês de 22%, e redução de sulfato de 2100 mg/L a 500 mg/L, utilizando amostra com contendo concentração de manganês igual a 24 mg/L. Já Zhang e Wang (2016) utilizaram amostra de drenagem ácida de mina contendo 79 mg/L de manganês, e obtiveram eficiência de remoção do metal entre 42,1–99,3%.

Sendo assim, para testar a resistência das BRS ao manganês, foram escolhidas quatro concentrações para serem adicionadas nos frascos, sendo estas de 20 mg/L, 40 mg/L, 60 mg/L e 80 mg/L. A solução de manganês utilizada foi $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 10 g/L. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada concentração.

Assim como para o ensaio de resistência ao ferro, foram realizados dois controles: I) biótico, contendo apenas meio de cultura autoclavado e o inóculo, sem adição do metal; II) abiótico, no qual não houve adição da amostra de sedimento, apenas o meio de cultura autoclavado e a solução de ferro. As soluções de N_2S e $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ foram adicionadas nos dois controles, na mesma concentração que os frascos de ensaio (tratamento). Os fracos foram incubados no escuro a 30°C por 30 dias.

4.3.3. Metodologia analítica para determinação de sulfato e metais

No momento da inoculação dos ensaios anteriores, mediu-se a concentração inicial de sulfato em todos os ensaios pelo método turbidimétrico, que consiste em adicionar em um tubo de vidro uma alíquota retirada do frasco de ensaio, 1 ml da solução de Tampão A (Anexo D), e uma colher pequena de sal de cloreto de bário (BaCl) (APHA, 2017). Os tubos de vidro foram colocados no equipamento de espectrometria de bancada, da marca Macherey-Nagel modelo NANOCOLOR® Vis, a um comprimento de onda (λ) de 420nm. Ao longo do tempo de ensaio, a medição de sulfato ocorreu semanalmente, de forma a permitir a análise da atividade redutora de sulfato em cada frasco-teste.

Para a análise qualitativa dos dados, os valores obtidos pelo equipamento de espectrometria foram convertidos de absorbância para concentração de sulfato em mg/L a partir da curva de calibração previamente construída.

Para a determinação das concentrações de metais no sobrenadante dos frascos teste, uma alíquota de 15 ml de cada recipiente (meio + inóculo) foi coletada e congelada imediatamente após a finalização dos ensaios. A determinação da concentração inicial de ferro e manganês foi realizada em frascos simulados apenas com o meio e cada metal, uma vez que o volume necessário para a análise de metais (15 ml) comprometeria o andamento das análises de resistência das BRS nos frascos analisados. A quantificação dos metais ocorreu empregando o método da espectrometria por adsorção atômica de chama (APHA, 2017).

Esse método consiste em inserir a amostra em um tubo Falcon de 50 ml e levar o tubo à bandeja de leitura do equipamento de espectrometria por adsorção atômica por chama. Para este trabalho foi utilizado um equipamento de espectrometria por adsorção atômica modelo ContrAA-300. O equipamento aspira a amostra para uma chama para que seja atomizada. Com isso, é direcionado através da chama em um monocromador e um detector um feixe de luz, que será medida a quantidade luminosa a ser absorvida pelo elemento atomizado. Como cada metal possui um comprimento de onda característico e diferentes sensibilidade sobre a emissão da chama, lâmpadas de diferentes composições compõem o equipamento, de modo a eliminar interferências espectrais e de radiação (APHA, 2017).

4.3.4. Análise estatística dos dados

Ferramentas estatísticas foram utilizadas para auxílio na interpretação dos resultados, no que tange a existência de alterações significativas ao longo do tempo (entre campanhas), entre concentrações, ou entre concentração e controle.

Foram obtidas médias aritméticas entre as triplicadas para cada concentração, em cada campanha testada, bem como para os controles abióticos. Não foram calculadas médias para os controles bióticos pela ausência de triplicatas para os mesmos. Os valores de concentrações convertidos pelas leituras por absorbância que resultaram em valores negativos de concentração foram considerados como “0 mg/L” em todos os casos.

A comparação entre tratamento e controle ocorreu entre as médias das triplicadas de ensaio com os valores brutos dos controles bióticos (com a presença do inóculo, sem a presença de metais) para avaliar a interferência dos metais, nas contrações testadas. A comparação entre tratamento e controle abiótico objetivou a avaliar da influência da solução redutora de sulfato contida no meio.

Cada conjunto de dados organizados para análise estatística foi submetido previamente ao teste de normalidade e homocedasticidade (Shapiro-Wilk), de forma a determinar o uso de testes paramétricos (normais e homocedásticos) ou não paramétricos (não normais e/ou heterocedásticos) antes de cada estatística.

Para os conjuntos de resultados considerados normais e homocedásticos (paramétricos), análises de comparação em pares, como por exemplo controle x tratamento, ou de múltiplas amostras, como por exemplo entre campanhas, foram empregados utilizando o Test T de Student, e a Anova seguido de um Test T de Student posteriori, respectivamente. Quando os dados não apresentaram normalidade e/ou heterocedasticidade, os testes não paramétricos de Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis, este último com posteriori de Student-Newman-Keuls), respectivamente para o mesmo conjunto de comparações descritos para os testes paramétricos.

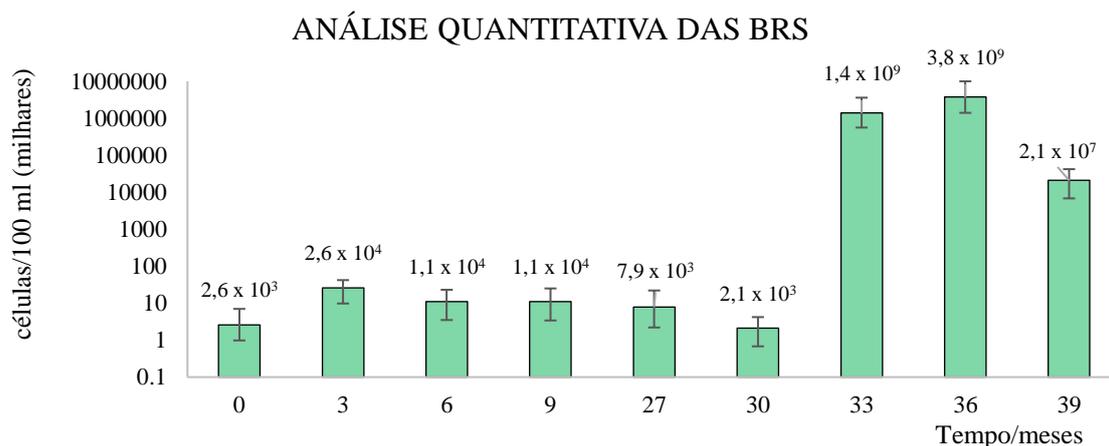
Em ambos os casos (paramétricos ou não paramétricos), os resultados foram avaliados considerando um nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa BIOESTAT 5.3 (AYRES *et al.* 2007).

5. RESULTADOS

5.1. ANÁLISE QUANTITATIVA DE BRS PELO MÉTODO DOS TUBOS MÚLTIPLOS

A Figura 11 **Erro! Fonte de referência não encontrada.** apresenta o gráfico de variação da concentração das BRS no decorrer do tempo pelo método de NMP, começando pelo tempo zero que é representado pela amostra coletada 5 dias pós a quebra da barragem. O gráfico encontra-se em escala logarítmica de base 10.

Figura 11 - Gráfico representando a variação da concentração de BRS no decorrer do tempo



Fonte: Da autora

A concentração inicial encontrada foi de $2,6 \times 10^3$ células/100ml. Na segunda campanha observou-se um aumento de uma ordem de grandeza (10 vezes) ($2,6 \times 10^4$ células/100ml). Passados três meses, houve uma queda no valor de NMP, passando para $1,1 \times 10^4$ células/100ml, e mantendo esse valor na campanha 04 de 9 meses após o rompimento de barragem. Após 18 meses da quarta campanha realizada no reservatório, uma quinta coleta demonstrou baixa diminuição na concentração obtida na análise de NMP (número mais provável). Na campanha 30 meses após o rompimento (campanha 06) foi averiguada a menor concentração de BRS até o momento, que foi de $2,1 \times 10^3$ células/100ml, muito próxima à concentração inicial, mantendo a mesma ordem de grandeza.

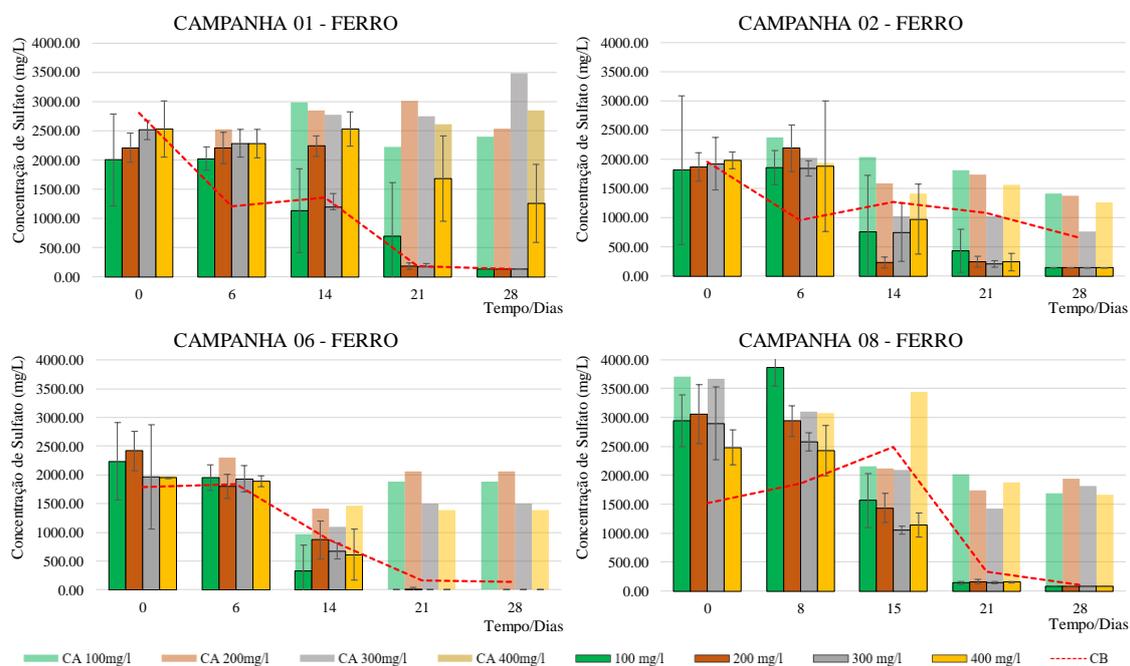
Entretanto, a partir da amostra de 33 meses (campanha 07), observou-se um aumento significativo na concentração de BRS, em 6 ordens de grandeza, sendo $1,4 \times 10^9$ células/100ml, $3,8 \times 10^9$ células/100ml e $2,1 \times 10^7$ células/100ml, respectivamente nas amostras correspondentes a 33, 36 e 39 meses após o rompimento da barragem.

5.2. ANÁLISE DE RESISTÊNCIA MICROBIANA A METAIS

5.2.1. Ensaio de resistência ao ferro

Os valores de absorvância medidos por meio do equipamento de espectrometria durante os ensaios foram devidamente convertidos em concentrações de sulfato (mg/L) e no caso dos frascos de tratamento, calculou-se a média das triplicatas em todas as medições. Com esses dados, foram construídos gráficos para uma melhor observação do comportamento da concentração ao longo do ensaio (Figura 12).

Figura 12 - Gráfico de comparação entre controles abióticos (CA) e controles bióticos (CB) e tratamento nos ensaios de Fe.



Fonte: Da autora

As barras de cores sólidas representam a média da triplicata de cada concentração, e a barra de erros foi calculada por meio do desvio padrão. É possível

observar dados bastante heterogêneos, como a medida inicial da concentração de 100 mg/L e a medição do dia 6 da concentração de 400 mg/L, ambas da campanha 02, devido a amplitude da barra de erros. As barras de cores opacas ou transparentes correspondem aos controles abióticos (CA) de cada concentração e a linha tracejada em vermelho as medições dos controles bióticos (CB).

É possível observar que na campanha 01, apenas os frascos de concentração de 400 mg/L tiveram menor redução na concentração de sulfato ao final do ensaio, enquanto que para as demais concentrações essa redução foi visivelmente maior. Pode-se observar também em na campanha 06 a duração do ensaio poderia ter sido menor, uma vez que com 21 dias já não era possível detectar concentração de sulfato pelo aparelho de espectrofotometria.

Outra informação importante que é possível observar é que o comportamento dos frascos de ensaio, chamado de frascos de tratamento, se assemelha ao comportamento do controle biótico, e difere do comportamento dos controles abióticos. Sendo assim, é possível supor que a presença do inóculo pode ter sido um fator determinante para o processo de redução de sulfato durante o ensaio.

Apesar de ser possível identificar algumas diferenças de comportamento entre tratamento e controles biótico e abiótico, como diferença na concentração de sulfato quanto ao volume bruto da redução, foi necessário a realização de um tratamento estatístico dos dados, para facilitar a observação desses comportamentos de forma mais detalhada, e para isso utilizou-se o software Bioestat® 5.3 para os testes estatísticos a seguir.

5.2.1.1. Controle biótico x tratamento entre concentrações

A primeira informação a ser analisada é se houve diferença entre o comportamento da redução de sulfato entre controle biótico e tratamento, com o intuito de determinar se houve sensibilidade quanto à toxicidade das concentrações de ferro adicionadas na redução de sulfato.

O teste estatístico realizado inicialmente foi o teste de Shapiro Wilk para determinar se os dados são paramétricos ou não paramétrico. Para isso, realizou-se o teste nos dados de controle biótico e tratamento entre concentrações, utilizando os dados obtidos em todas as campanhas.

O controle biótico apresentou valor de p maior que 5%, demonstrando que os dados são paramétricos, porém os tratamentos apresentaram valores não paramétricos, e por esse motivo, para fins de comparação se há ou não similaridade estatística entre eles o teste escolhido foi o de Kruskal Wallis, que indicou que houve similaridade estatística entre o comportamento na redução da concentração de sulfato entre controle biótico e os frascos de tratamento com todas as concentrações (Tabela 3), e com isso pode-se afirmar que, em geral, as concentrações de ferro adicionadas não foram tóxicas a ponto de inibir completamente a redução de sulfato.

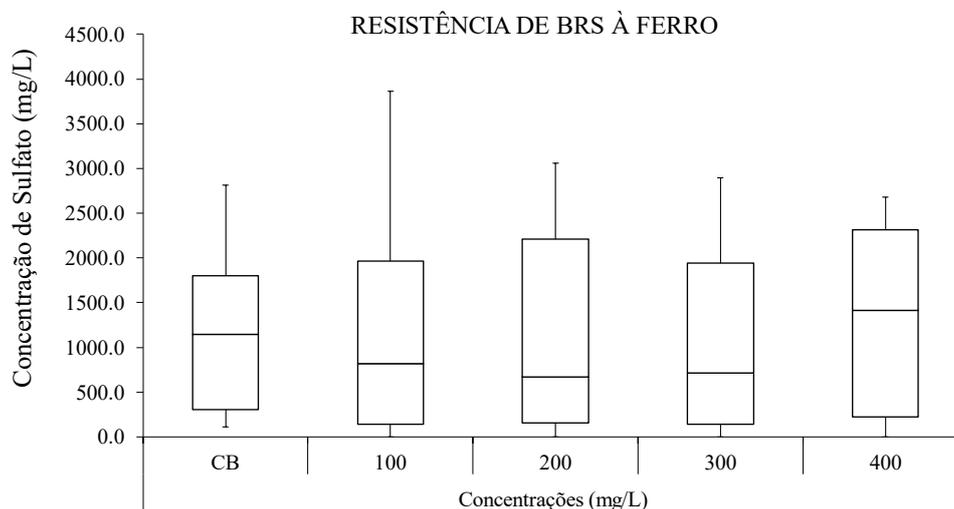
Tabela 3: Dados obtidos pelos testes estatísticos de Shapiro Wilk e Kruskal Wallis entre os dados de tratamento e controle biótico (CB).

		Concentrações (mg/L)				
		CB	100	200	300	400
SW	W =	0.9341	0.8913	0.8342	0.8584	0.8611
	p =	0.2444	0.0304	0.0096	0.0099	0.0099
KW		H = 0,6512		GL= 4	p = 0,9572	

Fonte: Da autora

Para melhor visualização desses dados, plotou-se um gráfico do tipo boxplot (Figura 13), no qual é possível observar que todas as medianas estão compreendidas nos intervalos que correspondem aos limites dos quartis de todos os outros dados, indicando tal similaridade obtida pelos testes estatísticos.

Figura 13 - Boxplot de comparação entre as diferentes concentrações de ferro dos tratamentos e o controle biótico (CB)



Fonte: da autora.

5.2.1.2. Controle biótico x Tratamento entre campanhas

Para realizar a análise de comportamento entre controle biótico e tratamento, agrupou-se os dados de concentração de sulfato obtidos em todas as medições das diferentes concentrações e os dados da variação do controle biótico de cada campanha para a realização do teste de normalidade de Shapiro Wilk. Para o controle, observou-se que os dados são paramétricos e por isso a comparação do desempenho foi realizado através do teste de variância Anova, que apresentou valor de p acima de 5% indicando que os dados são similares e que não houve diferença estatística entre as campanhas (Tabela 4).

Entre os dados de tratamento, o teste Shapiro Wilk acusou não normalidade, e por isso o teste utilizado para comparação da variação da concentração de sulfato ao longo das campanhas foi o de Kruskal Wallis. Esse teste apresentou valor de p menor que 5%, significando que houve diferença na redução de sulfato entre as campanhas.

Tabela 4: Dados obtidos pelos testes estatísticos de Shapiro Wilk, Kruskal Wallis e Anova entre os dados de tratamento e controle biótico

		Controle Biótico				Tratamento			
		C01	C02	C06	C08	C01	C02	C06	C08
SW	W=	0.8808	0.9377	0.8329	0.924	0.8334	0.7813	0.7987	0.8534
	p=	0.3471	0.582	0.189	0.49	0.0096	0.009	0.0092	0.0098
KW/NA		F= 0,1082 GL= 3 p= 0,9534				H= 88062 GL= 3 p= 0,0320			

Fonte: Da autora

5.2.1.3. Tratamento entre campanhas: testes individuais:

Para saber quais as campanhas de tratamento que diferem entre si, outro teste estatístico foi aplicado: Student-Newman-Keuls, que indicou diferença estatística entre as campanhas 01-02 e 01-06. Os dados obtidos nos testes estatísticos estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5: Valores obtidos por meio do teste de Student-Newman-Keuls ao comparar a média de remoção de sulfato entre as campanhas dos frascos de tratamento.

Student-Newman-Keuls			
Comparação	p=	Comparação	p=
C01xC02	0.0265	C02xC06	0.7855
C01xC06	0.0128	C02xC08	0.1113
C01xC08	0.5313	C06xC08	0.0623

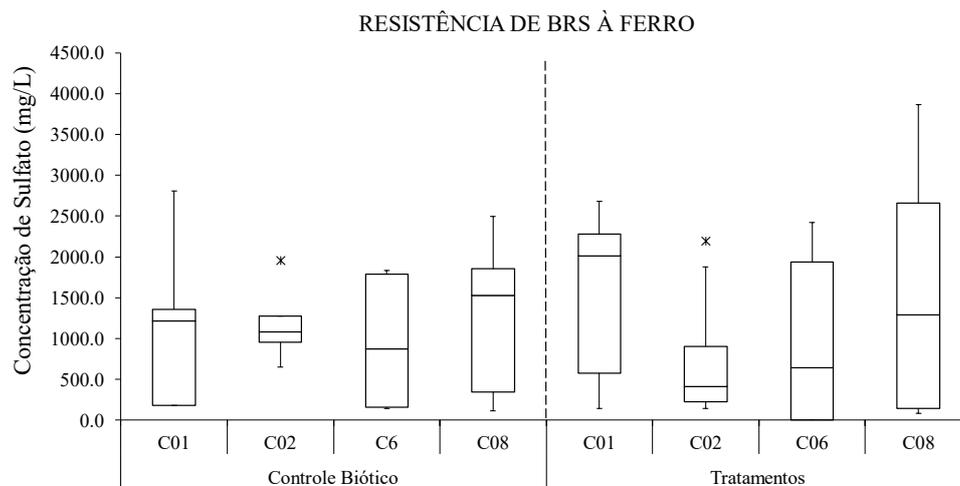
Fonte: Da autora

Essas similaridades e diferenças podem ser observadas no boxplot da Figura 14. Ao comparar os controles bióticos ao longo das campanhas é possível notar que há similaridade entre os dados, pois mesmo que os dados da campanha 02 destoem dos demais quanto a amplitude, todos os quartis se encontram na mesma faixa de abrangência dos demais.

De maneira diferente aos controles, no tratamento é possível observar que as medianas e os quartis inferiores das campanhas 02 e 06 estão fora da linha de amplitude

da campanha 01, bem como a mediana e o quartil superior da campanha 01 está fora da amplitude das campanhas 02 e 06, e essa é a diferença mostrada no teste de Student-Newman-Keuls.

Figura 14 - Boxplot do comportamento da concentração de sulfato ao longo das campanhas entre frascos de tratamento e controle biótico



Fonte: Da autora

Como a análise estatística mostrou que há diferença significativa entre campanhas, foram realizados outros testes entre as campanhas para cada concentração individualmente, com o intuito de observar quais os dados que indicaram essa diferença. Foram realizados testes de Shapiro Wilk para cada concentração, a fim de testar se os dados eram paramétricos seguido de testes de variância para testar similaridade entre as campanhas.

As concentrações de 100 mg/L, 200 mg/L e 300 mg/L, após o teste de variância não apresentaram diferença significativa entre as campanhas, ao passo que na concentração de 400 mg/L, ao ser realizado teste Anova, apresentou valor de p menor que 5%, o que significa que houve diferença estatística entre campanhas (Tabela 6).

Tabela 6: Dados dos testes estatísticos da concentração de 400 mg/L de ferro entre campanhas

		400 mg/L - Fe			
		C01	C02	C06	C08
SW	W =	0.8414	0.8215	0.8107	0.8375
	P =	0.2169	0.1513	0.1155	0.2042
ANOVA		F= 35697		GL= 3	p= 0,0373

Fonte: Da autora

Para entender quais as campanhas que diferem entre si, foi realizado o teste estatístico T-Posteriori, constatou-se que houve diferença significativa entre as campanhas 01-02 e 01-06, as mesmas apontadas pelo teste estatístico envolvendo todas as concentrações. Os dados desse obtidos nos testes estatísticos estão dispostos na Tabela 7.

Tabela 7: Valores encontrados pelo Teste T-posteriori para comparação estatística da variação de sulfato entre campanhas no frasco de tratamento de 400 mg/L.

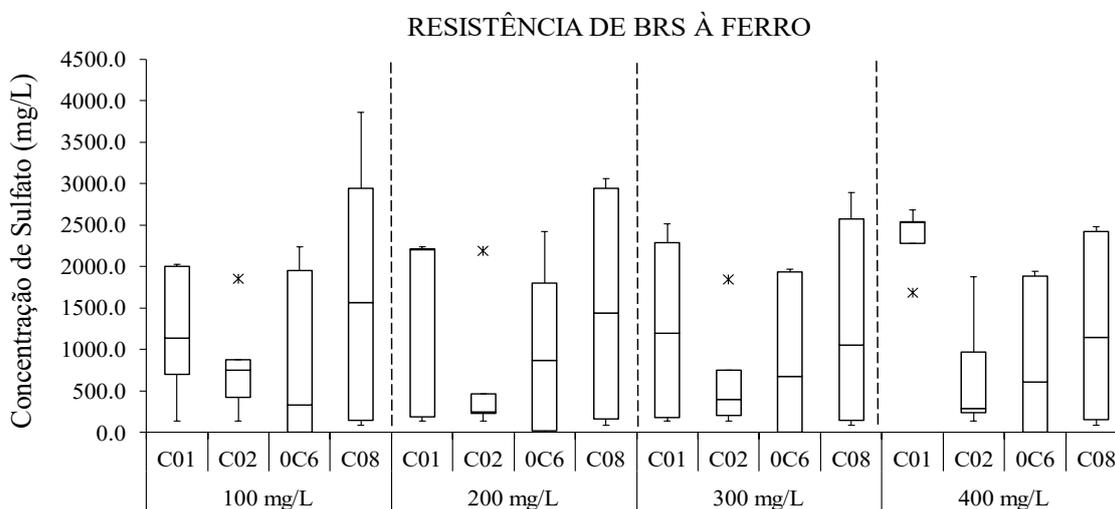
Teste T - Posteriori			
Comparação	p=	Comparação	p=
C01xC02	0.0087	C02xC06	ns
C01xC06	0.0175	C02xC08	ns
C01xC08	ns	C06xC08	ns

Fonte: Da autora

*ns: não significativo

Essa diferença dos valores de concentração de sulfato nos frascos de tratamento com 400 mg/L pode ser melhor observada no gráfico da Figura 15, em que nas primeiras campanhas há uma similaridade entre as campanhas, enquanto que na concentração mais alta de ferro é possível observar que na campanha 01 a amplitude dos dados é menor, o que significa que a variação da concentração de sulfato ao longo do ensaio foi menor que as demais. A diferença entre as campanhas 01 e 08 não foi considerada significativa porque o quartil superior da oitava campanha encontra-se dentro da amplitude de dados da campanha 01.

Figura 15 - Boxplot comparativo da variação da concentração de sulfato entre as campanhas nas diferentes concentrações de ferro



Fonte: Da autora

5.2.1.4. Controle abiótico x tratamento: eficiência de redução de sulfato

Realizadas as análises das variações da concentração de sulfato dos ensaios, determinou-se a eficiência da remoção entre os ensaios e com isso compará-las. Para isso, foi calculada a taxa de remoção de sulfato por meio da subtração da maior e menor concentração de sulfato ao longo do ensaio. A partir desses dados, testes estatísticos foram realizados para fins comparativos.

A partir da taxa de remoção de todas as concentrações de cada campanha dos frascos de ensaio de tratamento e controle abiótico, foi realizado um teste de normalidade de Shapiro Wilk, cujos resultados indicaram normalidade entre os controles abióticos e dados não normais entre as taxas de remoção de sulfato dos tratamentos, e devido isso o teste utilizado para comparar a eficiência entre controle e tratamento de cada concentração foi o de Mann-Whitney, em que o resultado foi que há diferença entre controle e tratamento para todas as concentrações de ferro. Os dados obtidos nos testes estão dispostos na Tabela 8.

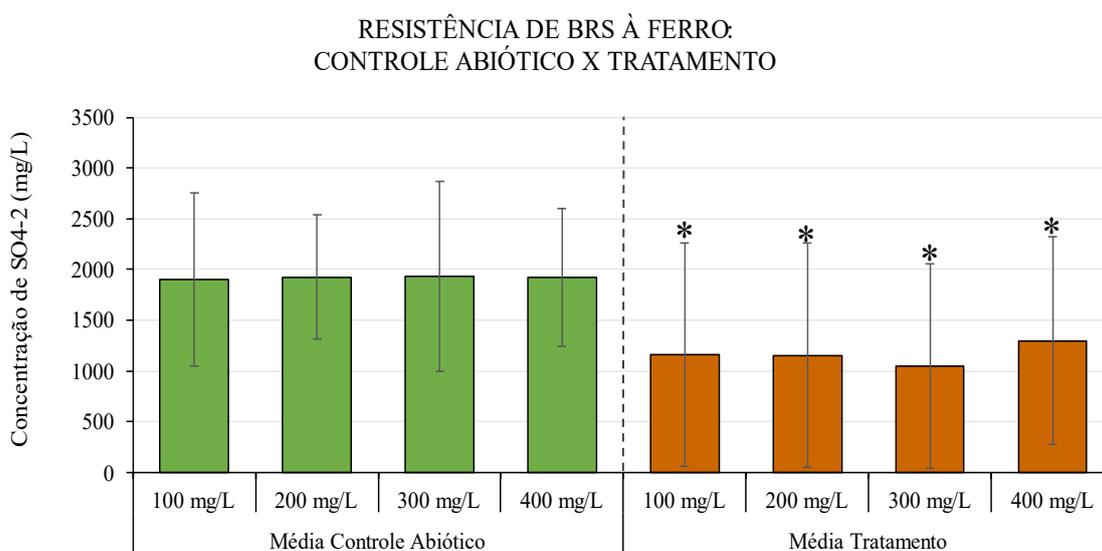
Tabela 8: Dados obtidos pelos testes estatísticos de Shapiro Wilk e Mann-Whitney para comparação das eficiências entre controle abiótico e tratamento nas diferentes concentrações de ferro

	100 mg/L		200 mg/L		300 mg/L		400 mg/L		
	CA	T	CA	T	CA	T	CA	T	
SW	W=	0.9747	0.8913	0.948	0.8342	0.9601	0.8584	0.9563	0.8611
	p=	0.8144	0.0304	0.3869	0.0096	0.5224	0.0099	0.4724	0.0099
Teste		Mann-Whitney		Mann-Whitney		Mann-Whitney		Mann-Whitney	
Resultados	Z=		23263	Z=		18665	Z=		26239
	p=		0.010	p=		0.031	p=		0.0043
									0.0495

Fonte: Da autora

A Figura 16 contém um gráfico em que é possível observar as diferenças estatísticas entre as médias por campanhas das taxas de redução de sulfato entre controle abiótico e tratamento nas diferentes concentrações de ferro, no qual é possível obter uma visão geral sobre essa assimilaridade.

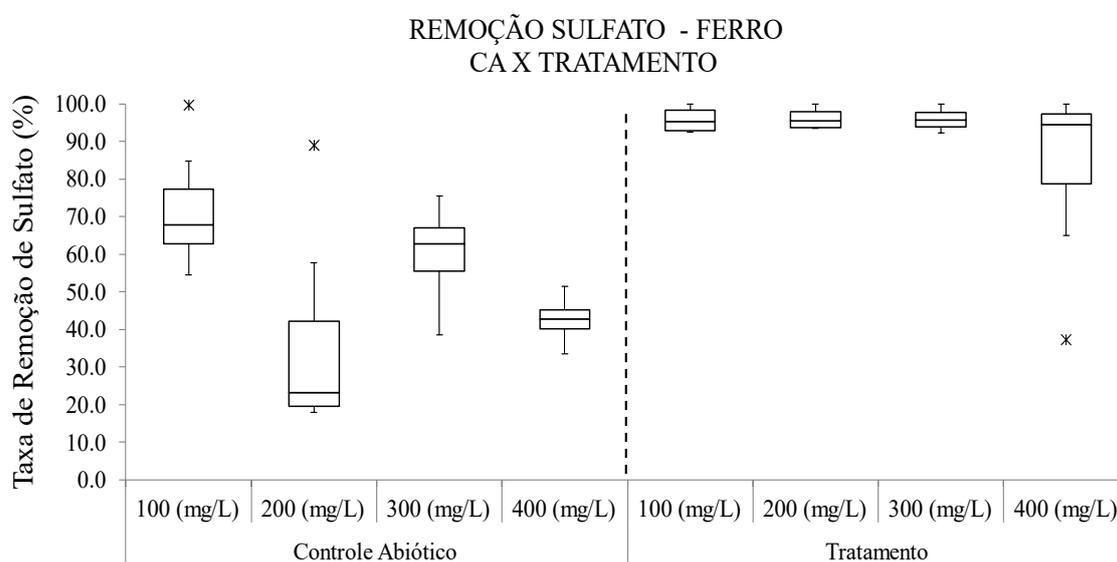
Figura 16 - Gráfico mostra diferença na média das eficiências da remoção de sulfato entre controle e tratamento nas diferentes concentrações de ferro



Fonte: Da autora

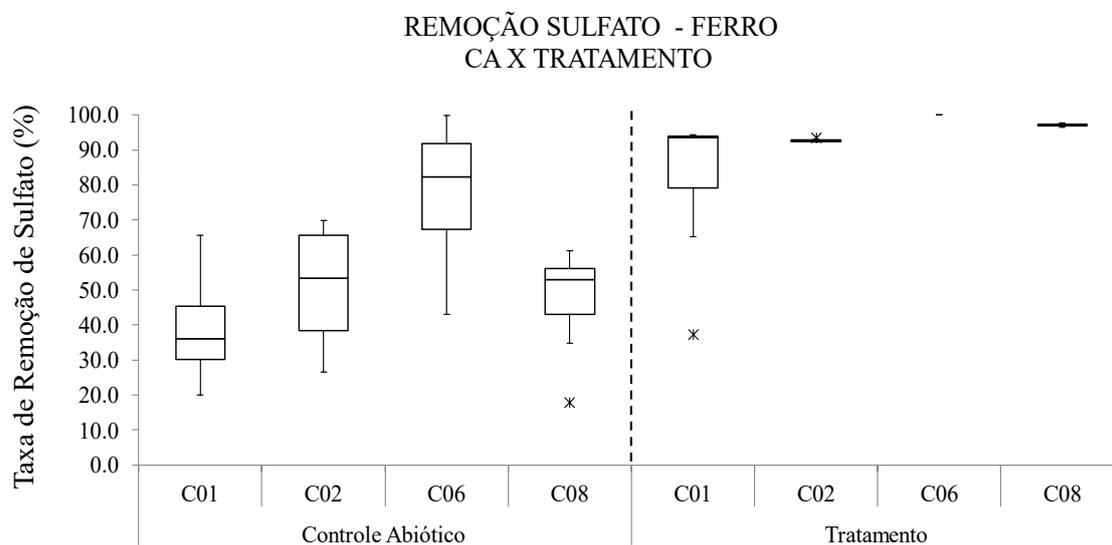
Para uma comparação mais detalhada dos dados de eficiência de redução de sulfato, foram construídos dois gráficos boxplot (Figura 17 e Figura 18). O primeiro contém a média da taxa de remoção de sulfato das campanhas nas diferentes concentrações para controle abiótico e tratamento. O segundo contém a média das taxas de remoção de sulfato nas diferentes concentrações para cada campanha.

Figura 17 - Boxplot da eficiência na remoção de sulfato do controle e tratamento entre concentrações



Fonte: Da autora

Figura 18 - Boxplot da eficiência do controle abiótico e tratamento na remoção de sulfato entre campanhas



Fonte: Da autora

Em ambos os gráficos é possível observar diferença entre as eficiências de remoção de sulfato entre controle abiótico e tratamento tanto entre diferentes concentrações quanto ao longo das campanhas.

Quando se compara a eficiência entre campanhas no tratamento, é possível observar que a concentração de 400 mg/L foi diferente das demais, pois apesar da mediana e da pequena amplitude do quartil superior sugerir que parte dos dados estão próximos e similares às outras campanhas, o quartil inferior mostra uma amplitude maior, significando maior heterogeneidade da outra parte dos dados.

O mesmo ocorre com a campanha 01, que destoa das demais campanhas pela amplitude do seu quartil inferior, e ao analisar os dois gráficos juntos, pode-se afirmar que a eficiência diferente das demais foi a de 400 mg/L da primeira campanha, mesmo dado observado na análise estatística dos dados brutos.

5.2.1.5. Concentração final de Fe dissolvido

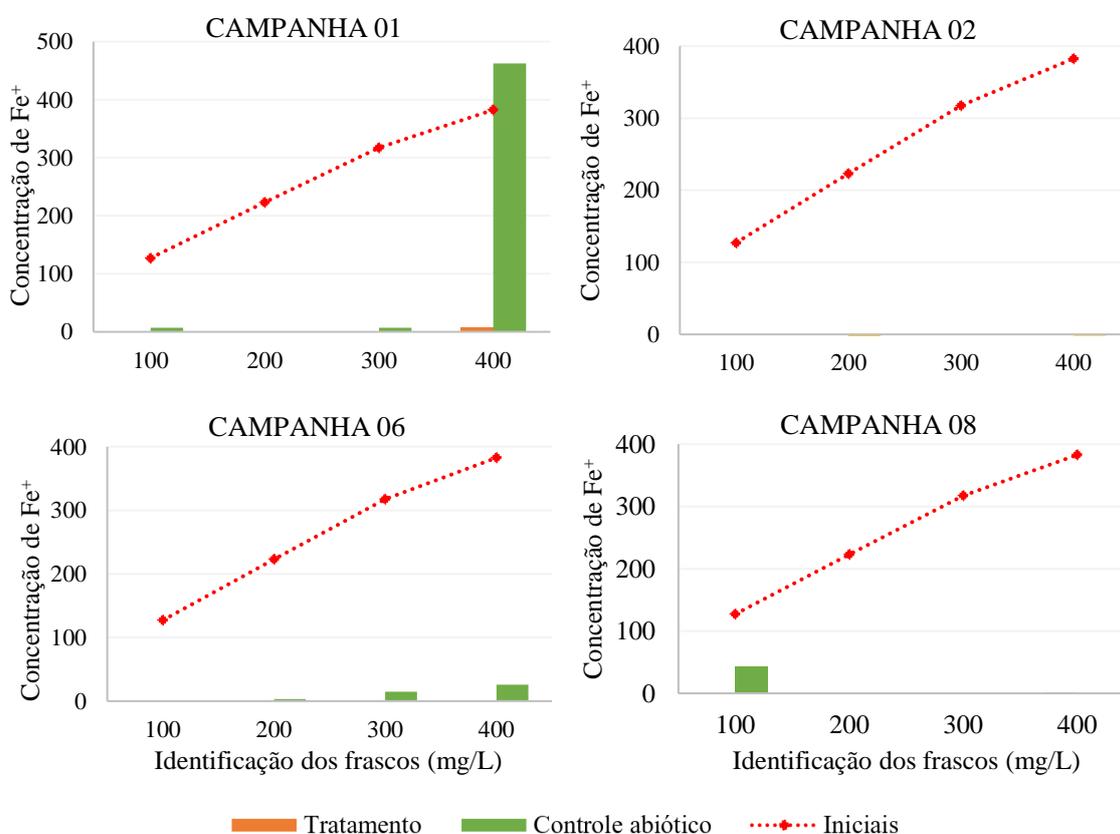
A última análise realizada foi a da concentração final de íons Fe⁺ dissolvidos no líquido sobrenadante dos frascos de ensaio por meio da adsorção atômica. Na amostra retirada dos frascos da campanha 01, o controle de 400 mg/L apresentou uma concentração de 462,8 mg/L, enquanto que os controles de 100 mg/L, 200 mg/L e 300

mg/L apresentaram concentrações de 6,82 mg/L, 0,182 mg/L e 6,975 mg/L respectivamente. Dentre os frascos de tratamento, apenas o de 400 mg/L apresentou concentração diferente de zero, que foi de 8,18 mg/L.

As amostras dos frascos de ensaio de tratamento das demais campanhas apresentaram concentração de Fe^+ igual a zero, e dos frascos de controle apenas as amostras da campanha 06 em que os controles de 200 mg/L, 300 mg/L e 400 mg/L apresentaram concentrações de 3,4 mg/L, 14,88 mg/L e 25,87 mg/L respectivamente, e da campanha 08, o frasco controle de 100 mg/L, com concentração de 42,32 mg/L.

A Figura 19 contém os gráficos referentes a análise de todas as campanhas com o comparativo entre a concentração inicial de ferro adicionada ao meio e a concentração final do metal dissolvido no sobrenadante.

Figura 19 - Gráficos de comparação entre concentrações iniciais e finais de Fe^+ nos frascos de ensaio

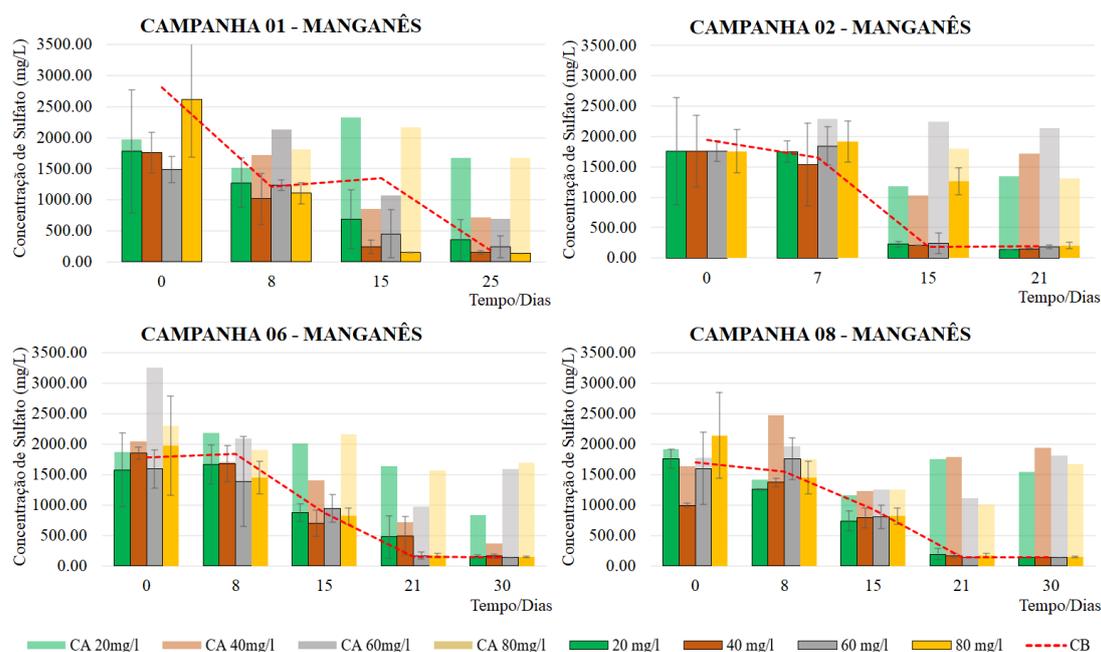


Fonte: Da autora

5.2.2. Ensaio de resistência ao manganês

Durante os ensaios, os valores de absorbância obtidos pelo equipamento de espectrofotometria foram convertidos em concentração de sulfato (mg/L) e o comportamento dos frascos de controles (biótico e abióticos) puderam ser comparados com o dos frascos de tratamento. A Figura 20 contém os gráficos dos dados de todas as campanhas, nos quais os dados do tratamento são referentes a média das triplicatas, e a linha vermelha indica o valor médio do eixo, para melhor visualização e entendimento.

Figura 20 - Gráfico de comparação do comportamento da concentração de sulfato durante os ensaios entre controles bióticos (CB) e abióticos (CA) e tratamento nas diferentes concentrações de Mn



Fonte: Da autora

Ao comparar visualmente os dados brutos dos ensaios pode-se notar que o comportamento dos tratamentos se assemelha com o comportamento do controle biótico (CB), ao passo que os controles abióticos (CA) apresentaram menor variação no decorrer das medidas durante o ensaio.

É possível notar que o ensaio da campanha 02 teve menor tempo de duração, pois após 15 dias de ensaio os tratamentos com concentração de 20, 40 e 60 mg/L se encontravam em valores próximos do mínimo de sulfato detectável pelo equipamento, e

após 21 dias todos os frascos de tratamento tiveram valores da concentração de sulfato mínimas.

Feitas estas observações, utilizou-se o software Bioestat® 5.3 para os testes estatísticos a seguir.

5.2.2.1. Controle biótico x tratamento entre concentrações

O primeiro teste realizado foi o de Shapiro Wilk para testar a normalidade das médias da variação da concentração de sulfato entre os tratamentos e controles bióticos. A primeira análise foi para fins de comparação entre o controle biótico e as médias de todas as campanhas de cada concentração de manganês nos frascos de tratamento, e os valores de p apresentaram não normalidade dos dados, indicados em negrito na Tabela 9. Por esse motivo, foi adotado o teste de comparação múltipla não paramétrica de Kruskal Wallis, que demonstrou que há similaridade entre os dados ($p > 0,05$).

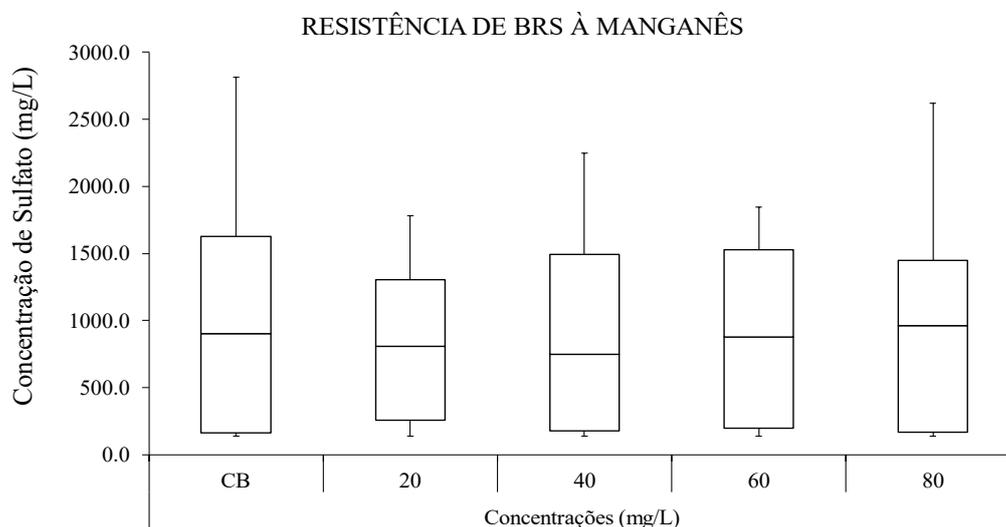
Tabela 9: Valores obtidos nos testes de Shapiro Wilk e Kruskal Wallis nos testes estatísticos dos dados entre concentrações de manganês dos frascos de tratamento e controle biótico.

		Concentrações (mg/L)				
		CB	20	40	60	80
SW	W=	0.8523	0.8983	0.8775	0.842	0.8853
	p=	0.0099	0.0538	0.0246	0.0098	0.0347
KW		H= 0,1074 GL= 4 p= 0,9986				

Fonte: Da autora

Para melhor visualização desse resultados obtido pelo teste estatístico, plotou-se um boxplot para fim de comparação do comportamento do controle biótico com os tratamentos de mesma campanha (Figura 21). Nesse gráfico é possível observar que todas as medianas estão em valores de concentrações bem próximos, demonstrando assim que há similaridade entre os dados.

Figura 21 - Boxplot comparativo entre o comportamento do controle biótico (CB) e tratamentos durante os ensaios



Fonte: da autora.

5.2.2.2. Controle biótico x tratamento entre as campanhas

A seguir, foram realizados os mesmo testes do item anterior, porém para comparar a média da variação da concentração de sulfato de todas as concentrações de manganês nos frascos de tratamento por campanha e os respectivos controles bióticos. O resultado do teste de Kruskal-Wallis mostrou que não houve diferença significativa entre controle biótico e tratamento ao longo das campanhas (Tabela 10).

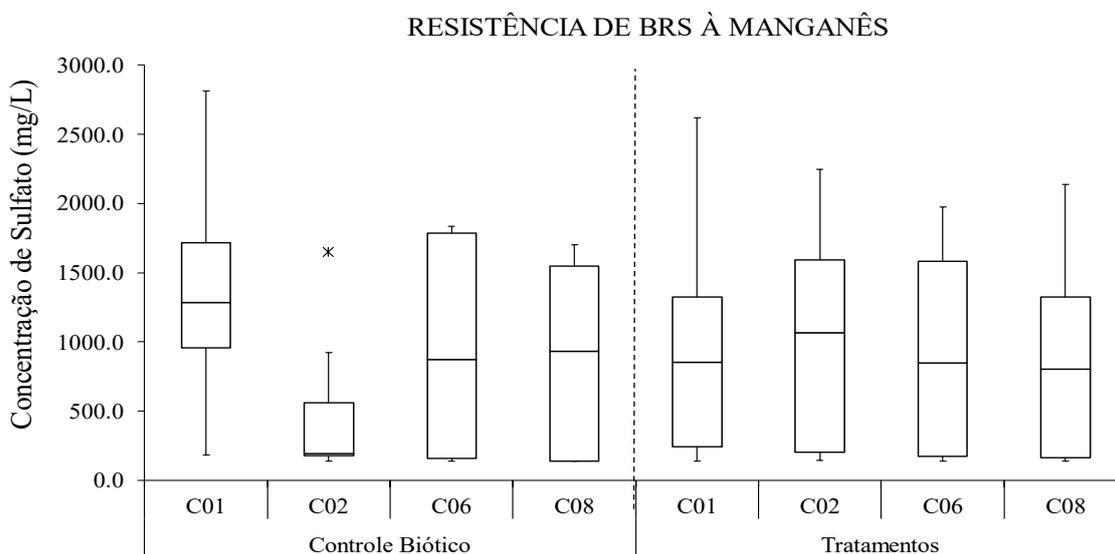
Tabela 10: Valores obtidos nos testes de Shapiro Wilk e Kruskal Wallis nos testes estatísticos dos dados entre os frascos de tratamento e controle biótico ao longo das campanhas.

	Controle Biótico				Tratamento			
	C01	C02	C06	C08	C01	C02	C06	C08
SW	W= 0.8808	0.5833	0.8329	0.8553	0.8989	0.8517	0.8793	0.8798
	p= 0.3471	0.0085	0.189	0.2631	0.0812	0.0141	0.0171	0.0174
KW	H= 12644 GL= 3 p= 0,7376				H= 12911 GL= 3 p= 0,7312			

Fonte: Da autora

Para melhor visualização desses dados estatísticos, plotou-se um gráfico boxplot (Figura 22) no qual é possível a observação e comparação do comportamento da variação da concentração de sulfato nos frascos de tratamento e controle biótico. Quanto maiores os quartis do boxplot maior a variabilidade dos dados, e com isso observa-se que mesmo a variação do controle biótico na campanha 02 seja menor que as demais, o conjunto de dados encontra-se na mesma faixa de intervalo dos demais, e, portanto sem diferença significativa entre eles.

Figura 22 - Boxplot do comportamento dos ensaios de controle biótico e tratamentos ao longo das campanhas e concentrações de manganês



Fonte: Da autora

Dessa forma, é possível afirmar que mesmo nas concentrações mais altas de manganês, a variação na concentração de sulfato se manteve próxima das demais, indicando que não houve impacto sobre as atividades metabólicas das BRS nem na concentração de 80 mg/L, a mais alta testada neste trabalho, quando comparado com a atividade microbiana do controle. A mesma observação pode ser feita em relação a resistência microbiana ao longo das campanhas, o que significa que a atividade metabólica das BRS não sofreu alteração ao longo do tempo.

5.2.2.3. Controle abiótico x tratamento: eficiência de redução de sulfato

A próxima etapa da análise consistiu em realizar a comparação entre a variação da concentração de sulfato entre os frascos de tratamento e controles abióticos. Para isso foi realizado o teste Shapiro Wilk para determinar normalidade, e foi constatada a existência de dados não normais. Devido isso, foi necessário utilizar um método de comparação T de Student para os dados paramétricos e Man-Whitney para os não paramétricos para comparar os pares (controle e tratamento) de cada concentração de manganês. Os valores obtidos estão dispostos na Tabela 11.

Tabela 11: Dados obtidos nos testes estatísticos de Shapiro Wilk, T de Student e Mann-Whitney para comparação dos pares (controle e tratamento) de cada concentração de manganês

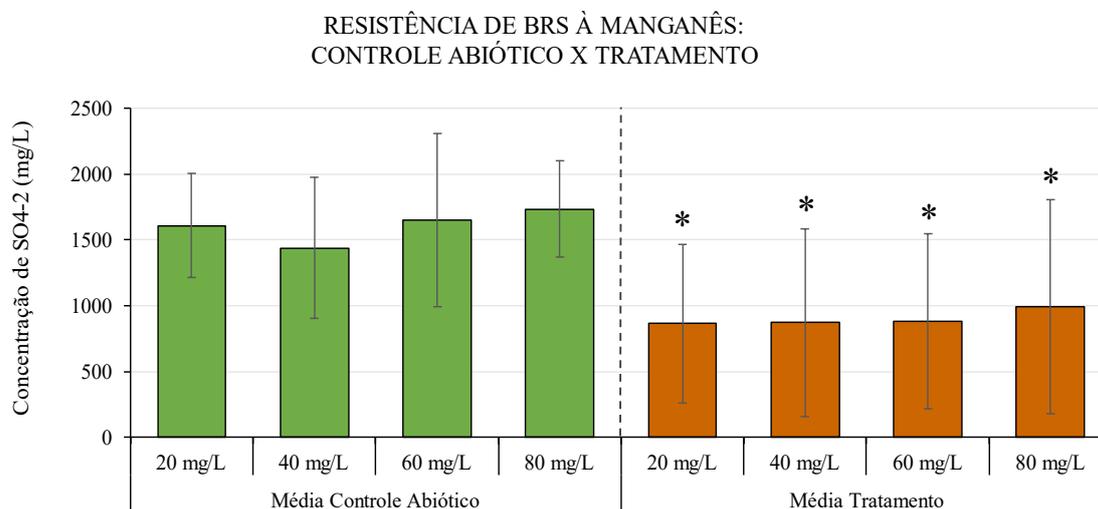
		20 mg/L		40 mg/L		60 mg/L		80 mg/L	
		CA	T	CA	T	CA	T	CA	T
SW	W=	0.9867	0.8983	0.9677	0.8775	0.9462	0.842	0.9708	0.8853
	p=	0.9836	0.0538	0.7129	0.0246	0.4068	0.0098	0.7696	0.0347
	Teste	Test T Student		Mann-Whitney		Mann-Whitney		Mann-Whitney	
Resultados	t=	43586		Z=	24362	Z=	28949	Z=	28791
	p=	< 0,0001		p=	0.0074	p=	0.0019	p=	0.002

Fonte: Da autora

Esses dados indicam que, para todos os pares de dados realizados, há diferença estatística entre eles, portanto a presença do sedimento no frasco influencia na variação da concentração de sulfato ao longo do ensaio.

Pelo gráfico da Figura 23 é possível observar que a média da concentração de sulfato ao longo do ensaio nos controles foi visivelmente maior em comparação à média dos frascos de tratamento, além de serem estatisticamente diferentes.

Figura 23 - Gráfico de comparação estatística entre controle e tratamento nos ensaios de Mn



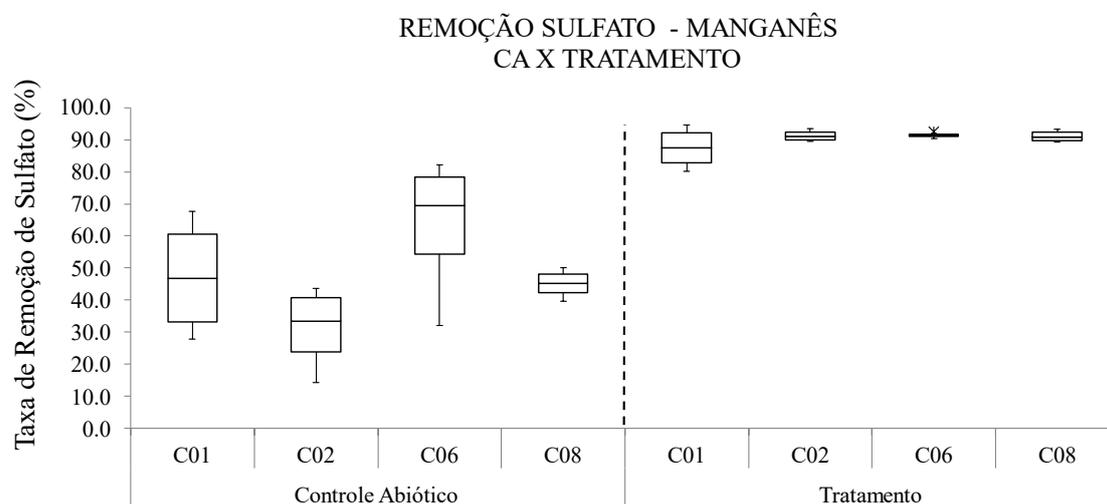
Fonte: Da autora

5.2.2.4. Controle abiótico x tratamento: eficiência de redução de sulfato

Realizados os testes estatísticos, o próximo passo consistiu no cálculo da taxa de remoção de sulfato a fim de determinar as eficiências de cada tratamento e comparar com a eficiência dos reatores abióticos. Com essa comparação é possível observar quais foram essas diferenças mostradas nos testes estatísticos e quais foram os melhores resultados na redução de sulfato.

A Figura 24 mostra um gráfico boxplot da taxa de remoção de sulfato dos controles abióticos e tratamentos ao longo das campanhas, e para isso utilizou-se os dados de eficiência obtida em todas as concentrações de manganês em cada campanha, tanto para tratamento quanto para controle. É possível notar que, para tratamento, todas as campanhas apresentaram eficiência acima de 80% para todas as concentrações, inclusive a campanha 01 que teve uma maior variabilidade nos dados em relação as demais campanhas, enquanto que nos controles os quartis estão maiores, demonstrando maior variação dos dados, além das eficiências mais baixas que os de tratamento.

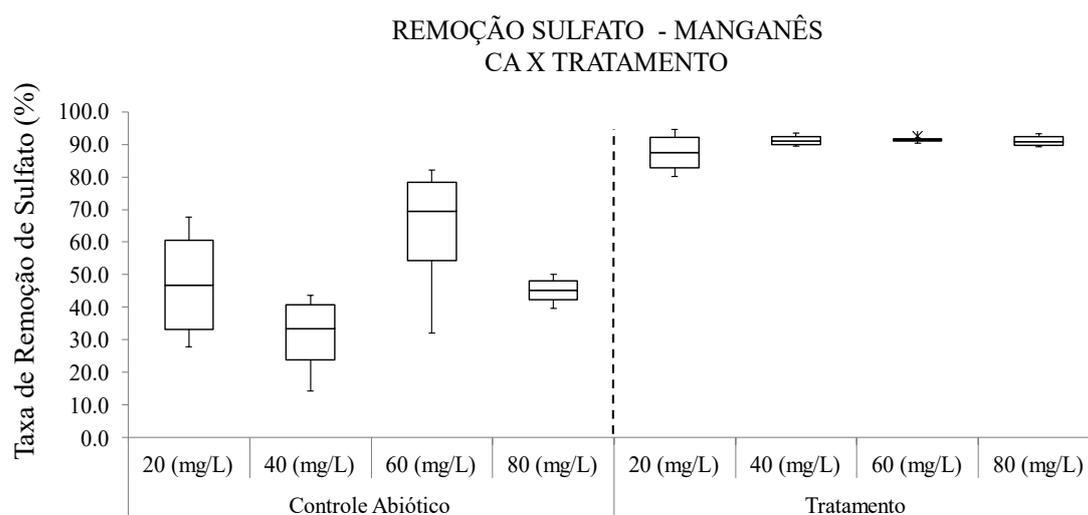
Figura 24 - Boxplot das taxas de remoção de sulfato dos controles abióticos e tratamento ao longo das campanhas



Fonte: Da autora

Da mesma forma, os dados de eficiência do tratamento e controles abióticos foram agrupados por concentração, plotados em um gráfico boxplot para analisar a eficiência entre as diferentes concentrações de manganês (Figura 25).

Figura 25 - Gráfico de comparação estatística entre controle e tratamento nos ensaios de Mn



Fonte: Da autora

O controle abiótico, para todas as concentrações apresentou maior variabilidade, enquanto que o tratamento apresentou uma menor variação e maiores eficiências, todas acima de 90%, com exceção da concentração de 20 mg/L que apresentou uma amplitude maior, mas com o limite inferior acima dos 80%.

5.2.2.5. Concentração final de Mn dissolvido

Por fim, foram realizadas as análises de adsorção atômica para determinar a concentração de íons Mn^{+} dissolvidas no líquido sobrenadante da amostra. Ao contrário do Fe, principalmente os controles apresentaram alguma concentração, mas sempre abaixo da concentração inicial, e a campanha 08 foi a que apresentou maior concentração de Mn dissolvido ao final do ensaio, e conseqüentemente menor remoção de manganês (Tabela 12)

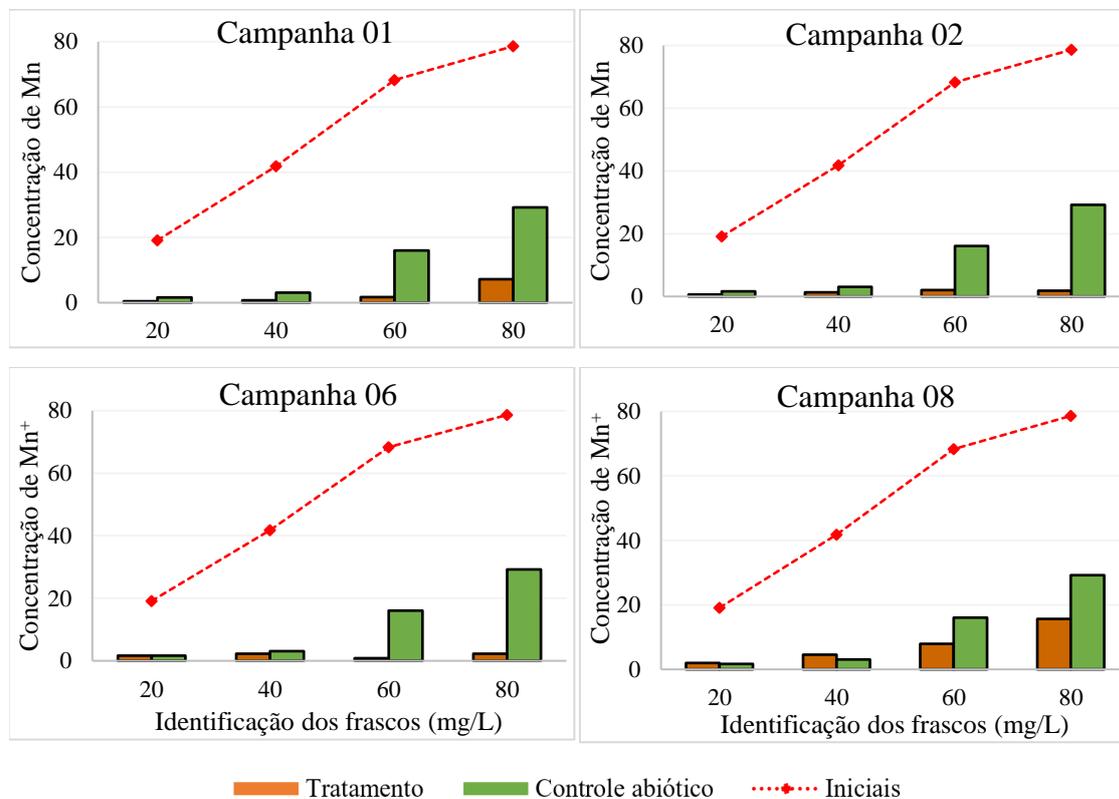
Tabela 12: Remoção de Manganês nos ensaios

Identificação do frasco	Remoção de Manganês (%)			
	C01	C02	C06	C08
20 mg/L	97.48	96.93	91.42	89.51
40 mg/L	98.23	93.04	88.07	75.99
60 mg/L	97.53	89.33	95.59	58.82
80 mg/L	90.85	90.46	88.13	18.04

Fonte: da autora.

A Figura 26 contém os gráficos comparativos das concentrações iniciais e finais de manganês de cada ensaio.

Figura 26 - Gráficos das concentrações de Mn⁺ ao longo das campanhas



Fonte: Da autora

6. DISCUSSÃO

6.1. ANÁLISE QUANTITATIVA DAS BRS

Conforme foi apresentado no item 3.3 da revisão bibliográfica deste trabalho, há muitos fatores ambientais que podem inibir ou favorecer a atividade microbiana das BRS. O monitoramento realizado por meio da análise quantitativa mostrou que durante as seis primeiras campanhas a concentração de células de BRS no sedimento se manteve estável, com pequenas oscilações, variando entre as ordens de grandeza de 10^3 e 10^4 .

Licona (2019) observou uma concentração próxima das concentrações obtidas até a campanha 06, que compreende o período de 30 meses após o rompimento da barragem. Foi analisado o mix de sedimentos das lagoas ácidas da empresa Indústrias Nucleares do Brasil (INB) localizada na cidade de Caldas, MG e a concentração obtida foi de $1,2 \times 10^3$ NMP/100mL.

Outros dois estudos que também obtiveram uma concentração próxima em reservatórios contendo resíduos proveniente de mineração foram Dorador *et al.* (2007) e Fu *et al.* (2016), entretanto a análise do NMP em ambos os casos foi um pouco diferente pois utilizaram o sedimento seco como inóculo. DORADOR *et al.* (2007) analisou amostras de sedimento de fundo do Reservatório de Rapel, no Chile e a concentração de BRS variou de 10^2 a 10^4 NMP/g^{sedimento seco} entre os pontos coletados. FU *et al.* (2016) analisou amostras de sedimento coletado em vários pontos do Lago Baihua, em Guiyang, China. A concentração de BRS encontrada variou entre 3,65 e $0,07 \times 10^4$ NMP/g^{sedimento seco}.

Entretanto, entre as campanhas 06 e 07 pode-se observar um aumento de 6 ordens de grandeza no número de células, e esse fenômeno pode estar relacionado com vários fatores, como aumento da concentração de fonte de carbono disponível, diminuição na concentração ou mortalidade de espécies de microrganismos que competem pelo mesmo substrato, como por exemplo os microrganismos metanogênicos, aumento na concentração de sulfato presente no sedimento, diminuição da concentração de oxigênio dissolvido.

Jerônimo (2022) realizou estudos com a atividade metanogênica utilizando as mesmas amostras deste estudo, e observou que houve alteração na atividade metanogênica nas campanhas 04, 06 e 07. Em comparação com a análise das BRS, tem-

se que na campanha 04 a concentração de BRS permaneceu estável em comparação com os demais, na campanha 06 houve uma queda, seguida de um grande aumento, o que leva a crer que próximo a data de coleta da campanha 06, ocorreu algum fenômeno, natural ou não, que foi sensível para ambos os grupos microbianos.

Microrganismos metanogênicos possuem maior sensibilidade e menor resistência em comparação às BRS, e necessitam assim de mais tempo para recuperar e isso pode explicar esse aumento repentino na concentração de BRS a partir da campanha 07, pois com a diminuição de metanogênicas no ambiente há consequente aumento na quantidade de substrato disponível uma vez que ambos grupos competem pelo mesmo, e dessa forma as BRS podem se desenvolver mais facilmente.

Apenas com os dados dessa análise não é possível determinar com precisão o que pode ter ocasionado o aumento das bactérias redutoras de sulfato no ambiente, apenas que entre as datas de coleta das campanhas 07 e 09 houve um aumento significativo na comunidade microbiana.

6.2. ANÁLISE DE RESISTÊNCIA MICROBIANA A METAIS

Com a análise estatística dos dados foi possível observar que, mesmo ocorrendo redução de sulfato em todos os frascos de ensaio, a presença de inóculo foi um fator que diferenciou no processo, tanto nos ensaios de resistência a ferro quanto manganês.

Os frascos de controle biótico não apresentaram diferenças estatísticas na remoção de sulfato em comparação aos frascos de tratamento para ambos os metais, e com isso é possível afirmar que a presença dos metais adicionados nas concentrações analisadas não teve efeito inibidor na atividade metabólica das BRS. Observou-se também que os controles bióticos não apresentam diferenças estatísticas na redução de sulfato entre si ao longo das campanhas, o que demonstra que a atividade metabólica das BRS não sofreu alteração durante o período que compreende as campanhas analisadas, mesmo com a variação concentração de células entre as campanhas 06 e 08.

Ao comparar a redução de sulfato ocorrido nos frascos de tratamento contendo ferro e o respectivo controle abiótico, notou-se diferença estatística entre eles. Pelos valores de eficiência calculados pode-se observar que a presença do inóculo ocasionou

em taxas de redução de sulfato próximas ou iguais a 100%, diferentemente do que foi observado nos frascos de controle abiótico.

A eficiência de redução de sulfato no ensaio denominado tratamento só teve um resultado diferente, que ocorreu nos frascos de 400 mg/L da campanha 01 que foi de 37,35%. Nas campanhas seguintes mesmo nessa concentração todas os frascos apresentaram um ótimo desempenho, com eficiências máximas de 100%, o que indica que houve uma seleção de BRS resistentes a ferro entre as campanhas 01 e 02.

Outra observação é que, na figura 13 é possível observar que a campanha 02 apresentou quartis menores nas concentrações de 100 mg/L, 200 mg/L e 300 mg/L, e essa diferença foi ocasionada porque nessa campanha a fase lag nessas concentrações foi menor, ocasionando em uma redução de sulfato mais rápida e abrupta entre a segunda e terceira medição, e mais branda entre as demais, além de que nesse ensaio as medições iniciais sofreram interferência da turbidez do sedimento recém inoculado e tiveram leituras fora do padrão calculado de sulfato inicial. Por isso no boxplot a amplitude desses dados foi menor e apresentaram um outlier, que é a concentração de sulfato inicial.

Quanto ao ensaio de resistência a manganês, ao comparar estatisticamente o comportamento dos dados dos controles abióticos com os frascos de tratamento durante os ensaios é possível notar diferenças significativas, uma vez que o tratamento apresentou eficiências superiores aos controles, e com isso pode-se afirmar que a presença de inóculo foi um diferencial positivo no processo de redução de sulfato.

Nos frascos reatores denominados tratamento é possível afirmar que não houve diferença significativa entre as campanhas nem entre as concentrações, o que demonstra que a capacidade metabólica das BRS não se alterou nem ao longo das campanhas e nem foi sensível à variação da concentração de manganês adicionada. A maior oscilação de dados de eficiência ocorreu na campanha 01 e na concentração de 20 mg/L, porém essa oscilação ocorreu acima dos 80% para ambos os casos. E os dados mais homogêneos ocorreram na concentração de 60 mg/L e na campanha 06.

Os resultados obtidos nesse trabalho demonstram a redução de sulfato metabolizado pelas BRS em frascos de ensaio em condições ideais, entretanto pode-se comparar com resultados de outros trabalhos que testaram a redução de sulfato das BRS na presença de metais utilizando diferentes condições e reatores.

Trumm et. al (2015), utilizando um reator anaeróbio de fluxo ascendente obteve uma taxa de redução de sulfato em torno de 76%, com concentrações de metais de 108 mg/L de ferro e 24 mg/L de manganês, concentrações essas próximas às concentrações iniciais utilizadas nesse trabalho, e Vieira (2014), ao adicionar 98,43 mg/L de ferro em um reator anaeróbio em batelada com a finalidade de tratar drenagem ácida de mina obteve eficiência média de 56,7%. Essa diferença na taxa de redução de sulfato consiste em, além do inóculo ser diferente, nas condições de ensaio. O pH inicial, conforme discutido no item 3.3 desse trabalho, tem influência direta na eficiência da redução de sulfato, uma vez que as BRS utilizam parte da sua energia no processo de exportação de prótons da célula durante o processo de regulagem de pH. Ao utilizar um pH inicial entre 7,2 e 7,5 não há esse gasto energético, e portanto maior eficiência na redução de sulfato.

Com os ensaios para determinar a concentração de íons Fe^{+} dissolvidos no líquido sobrenadante dos frascos de ensaio, pode-se observar que em quase todos os frascos houve redução de ferro dissolvido. A remoção de ferro foi de 100% em todos os frascos de tratamento, com exceção do frasco que continha 400 mg/L da campanha 01, que foi de 97,8%. Esse resultado se assemelha aos resultados do trabalho de Zhang e Wang (2016) que obtiveram remoção de ferro em 99,9% com concentração de 463 mg/L e Castro Neto (2015) que para concentração de ferro de 100 mg/L obteve remoção acima de 99%.

O ferro na sua forma de sulfato, que foi adicionada no início do ensaio, é ionicamente instável, e se reage facilmente com o sulfeto que foi produzido durante o processo metabólico, formando FeS que além de ser uma molécula mais estável é insolúvel em água e por isso não pode ser detectado pelo equipamento. Além da redução de sulfato realizado pelas BRS, havia também a redução química, devido a adição da solução redutora NaS , e é por isso que houve redução de sulfato também nos frascos de controle.

A remoção de manganês sofreu uma variação ao longo das campanhas, com eficiência média de 94,64% na campanha 01, 96,18% na campanha 02, 94,65% na campanha 06 e 82,2% na campanha 08. Essa última campanha, além da remoção média apresentar menor taxa, as taxas foram diminuindo conforme a concentração de manganês adicionado ao ensaio foi maior, como pode ser observado na Tabela 13.

Essa variação na remoção de manganês é observada em outros trabalhos, como Yabuki (2020) que na primeira fase de operação do reator de leito fixo e fluxo ascendente obteve remoção de manganês entre 7 e 18%, e alcançando eficiência máxima de 85%. Esse aumento se deu devido a adição de ferro no reator, uma vez que a precipitação de ferro facilita na remoção de manganês. Essa variação na eficiência de remoção de manganês pode estar relacionada à complexidade na interação desse metal, uma vez que o produto de solubilidade (K_{ps}) é superior aos outros analitos.

Outro estudo que apresentou variação na eficiência de remoção de manganês foi o de Barbosa *et al.* (2014) realizou um ensaio com três diferentes concentrações de manganês em um reator e batelada, e obteve eficiência de 27% na primeira etapa quando a concentração inicial de manganês era de 1,5 mg/L, enquanto nos ensaios com 10 e 25 mg/L apresentaram eficiência de 93 e 95% respectivamente. Os autores observaram que as maiores eficiências na remoção de manganês ocorreram nas etapas com menores eficiências na remoção de sulfato. Assim como o sulfato de ferro, o cloreto de manganês adicionado no início do ensaio é uma das formas mais estáveis do Mn, a bivalente, e é facilmente dissolvido em meio aquoso, uma vez que trata-se de um sal tetra hidratado. Ao contrário do que ocorre com os meios que contêm ferro, após a reação de redução de sulfato o manganês não se liga com o sulfeto. A precipitação pode ocorrer na forma de óxidos, hidróxidos e carbonatos, e podem ser removidos do meio por adsorção a hidróxidos de ferro. Se o ferro adicionado estiver sendo removido na forma de sulfeto, é bem provável que o manganês dissolvido esteja sendo convertido a carbonatos de manganês, semelhante ao rodocrosita ($MnCO_3$) ou kutnahorita ($CaMn(CO_3)_2$), cuja formação é favorecida em pH alcalino a partir de 8,0 (TRUMM, 2015).

Uma observação que deve ser levada em conta é que os valores iniciais de manganês dissolvido são diferentes ao de manganês adicionado, dessa forma, entende-se que parte do manganês removido não ocorreu por meio da redução de sulfato.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ensaios para análise quantitativa da concentração de BRS no Reservatório de Retiro Baixo demonstrou que houve um aumento significativo na comunidade microbiana no local a partir da campanha 07. Fatores ambientais como maior concentração de substrato ou ausência de outros microrganismos cujo metabolismo compete com as BRS por substrato, por exemplo, podem ter influenciado esse aumento de células microbianas no local, e é necessário que sejam realizadas outras análises como físico-química das amostras de sedimento e monitoramento de outras espécies de microrganismos para o entendimento do motivo do crescimento da comunidade de BRS nesse período.

Em relação aos ensaios de resistência microbiana a metais, pode-se afirmar que as BRS presentes no sedimento se mostraram resistentes a todas as concentrações de metais que foram expostas. A resistência a ferro mostrou um aumento entre as campanhas 01 e 02 na concentração de 400 mg/L. A resistência a manganês se manteve com taxas elevadas em todas as campanhas. A remoção média dos metais dissolvidos no meio foi quase total para ferro e acima de 90% para manganês nas campanhas 01, 02 e 06 e 80% na campanha 08.

O objetivo desse trabalho era determinar se houve ou não impacto na resistência microbiana das BRS a metais após o rompimento da barragem I de Brumadinho, e com base apenas as análises realizadas nesse trabalho a única alteração observada foi no aumento da resistência das BRS a ferro entre as campanhas 01 e 02. Do ponto em que ocorreu o rompimento da barragem até o local da coleta de amostras há uma distância de aproximadamente 300 km de curso d'água e parte do substrato do rejeito foi se depositando pelo caminho e não há como prever quando esse rejeito chegou nos pontos de coleta de amostra e tampouco afirmar o quanto desse material já foi depositado no sedimento de fundo.

Sendo assim, pode-se afirmar que a atividade das bactérias redutoras de sulfato, até o momento da coleta de amostra de sedimentos da campanha 09 não cessou, e a alteração observada ocorreu a partir da campanha 07 com o aumento da concentração de células microbianas de BRS. Na resistência a metais também não foi observado nenhuma queda na atividade metabólica ao longo das campanhas, pelo contrário, manteve-se

estável na resistência a manganês e aumentou a taxa de remoção de sulfato na última campanha na presença de ferro.

Os resultados da remoção de sulfato e metais desse trabalho corroboram para a utilização das BRS para a remoção de sulfato, ferro e manganês de águas contaminadas com esses metais. Mesmo não tendo sido usado nenhum tipo de reator nesse projeto, a comparação dos resultados com trabalhos que utilizaram diferentes tipos de reatores abre possibilidades para futuros trabalhos de tratamento de águas residuárias contendo esses metais, como efluentes industriais ou drenagem ácida de mina.

REFERÊNCIAS

AMACHAWADI R.G, *et al.* Occurrence of the transferable copper resistance gene *tcrB* among fecal enterococci of U.S. feedlot cattle fed copper-supplemented diets. **Appl Environ Microbiol**; 79: 4369–75,2013.

ANEEL, UHE **Retiro Baixo. Informações gerais do Empreendimento.** Publicado em 13 de outubro de 2005. Consultado em 09 de fevereiro de 2022. Disponível em <http://www2.aneel.gov.br/arquivos/PDF/Retiro_Baixo.pdf>

ANM. RESOLUÇÃO Nº 4/19. **Ministério de Minas e Energia/Agência Nacional de Mineração.** 15 de Fevereiro de 2019. Diário Oficial da União. Publicado em: 18/02/2019, Edição: 34, Seção: 1, Página: 58

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater.** 9215. 9215 A e B. 23nd.ed. 2017

AYANGBENRO, A. S.; OLANREWAJU, O. S.; BABALOLA, O. O. Sulfate-Reducing Bacteria as an Effective Tool for Sustainable Acid Mine Bioremediation. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-10, 22 ago. 2018. Frontiers Media SA.

AYRES, M. *et al.* **BioEstat 5.3: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas. Sociedade Civil.** Mamirauá: Belém, Pará-Brasil. 2007. 324p. Disponível em <https://www.mamiraua.org.br/downloads/programas/> Acesso em 16 de dezembro. 2022.

AZEVEDO, A. L. Acidente em Mariana é o maior da História com barragens de rejeitos. **O Globo.** 17 de novembro de 2015. Disponível em <<https://oglobo.globo.com/brasil/acidente-em-mariana-o-maior-da-historia-com-barragens-de-rejeitos-18067899>> Acesso em: 22 de janeiro de 2022.

BARBOSA, L. P. *et. al.* Nickel, manganese and copper removal by a mixed consortium of sulfate reducing bacteria at a high COD/sulfate ratio. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30: 2171-2180, 2014

BICUDO, C.E.M.; BICUDO, D.C. **Amostragem de Invertebrados Bentônicos. Amostragem em Limnologia, São Carlos-SP: RiMa. 371p. 2004.**

BRASIL. Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005 **Conselho Nacional de Meio Ambiente.** Disponível em: <www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>.

BRASIL. **Relatório CPI de Brumadinho e outras barragens.** Comissão Parlamentar de Inquérito, Presidente: Senadora Rose de Freitas (PODE/ES), Vice-Presidente: Senador Randolfe Rodrigues (REDE/AP), Relator: Senador Carlos Viana (PSD/MG). Senado Federal. Julho de 2019.

CARVALHO, M. S. *et al.* (2017) **Concentração de metais no rio Doce em Mariana, Minas Gerais, Brasil. Acta Brasiliensis,** v. 1, n. 3, p. 37-41.

CASAS, L. L. Moradores lutam por nova vida após tragédias em Mariana e Brumadinho. **Folha de São Paulo,** publicado em 3 de novembro de 2019. Disponível em: <<https://www1.folha.uol.com.br/ilustrissima/2019/11/moradores-lutam-por-nova-vida-apos-tragedias-em-mariana-e-brumadinho.shtml>>

CASTRO, H. F.; WILLIAMS, N. H.; OGRAM, A. Phylogeny of sulphatereducing bacteria. **FEMS Microbiology Ecology,** v. 31, 2000.

CASTRO NETO, E. S. **Redução do sulfato e remoção de metais provenientes de drenagem ácida de mina.** 2015. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2015.

CIBAPAR – Consórcio Intermunicipal da Bacia Hidrográfica do rio Paraopeba. **Estudos preliminares para implementação do Plano Diretor das águas da bacia do rio Paraopeba.** Betim, 2010. 346p.

DASH, H.R. *et al.*. Marine bacteria: potential candidates for 131 enhanced bioremediation. **Appl. Microbiol. Biotechnol.,** v. 97, p. 561-571, 2013.

DEFALCO, T. **Caracterização de bactérias resistentes a metais pesados e o potencial para biorremediação**. 2022. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2022. doi:10.11606/D.11.2022.tde-09062022-152749. Acesso em: 2023-03-07.

DORADOR, C. *et al.* Bacterial diversity in the sediments of a temperate artificial lake, Rapel reservoir. **Rev. Chil. Hist. Nat.**, Santiago, v. 80, n. 2, p. 213-224, junho, 2007. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2007000200007>

DURÃES, M.F. **Caracterização e avaliação do estresse hidrológico da Bacia do Rio Paraopeba, por meio de simulação chuva-vazão de cenários atuais e prospectivos de ocupação e uso do solo utilizando um modelo hidrológico**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia. Belo Horizonte, MG. 2010

ELETRONBRAS. **Usina Retiro Baixo - 82 MW**. Disponível em: <<https://www.furnas.com.br/subsecao/131/usina-retiro-baixo---82-mw?culture=pt>> Acesso em 08 de fevereiro de 2022.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 3ª edição, Editora Interciencia. Rio de Janeiro, RJ. 2011.

FU, L. Y. *et al.* Studies on the diversity of Sulfate-Reducing Bacteria in sediments from Baihua Lake with molecular biological techniques. **Material Science and Environmental Engineering** – Chen (Ed.) 2016 Taylor & Francis Group, London, ISBN 978-1-138-02938-5

GADD, G. M. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. **Microbiology**, v. 156, n. Pt 3, p. 609-43, Mar 2010.

HUA, Z. S. *et al.* Ecological roles of dominant and rare prokaryotes in acid mine drainage revealed by metagenomics and metatranscriptomics. **ISME J**, v. 9, n. 6, p. 1280-94, Jun 2015.

IBRAM. Setor Mineral -1º Semestre 2021 -2º Trimestre 2021. **Coletiva de Imprensa dia 21 de julho de 2021.** Disponível em: <<https://ibram.org.br/wp-content/uploads/2021/07/PPT-COLETIVA-IMPRESA-FINAL.pdf>>

ILHAM-SUNGUR, E.; CANSEVER, N.; COTUK, A. 2007. Microbial corrosion of galvanized steel by a freshwater strain of sulphate reducing bacteria (desulfovibrio sp.). **Corrosion Science**. 49:1097-1109.

JERÔNIMO, K. A. **Avaliação da atividade metanogênica nos sedimentos do Reservatório de Retiro Baixo, Rio Paraopeba, em Brumadinho (MG).** Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2022.

Jl, G.; SILVER, S. Bacterial resistance mechanism for heavy metals of environmental concern. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 14, p. 2707- 2708, 1995.

LARA, L. G.; MELO, J. A. **Comitê de Bacia Hidrográfica do Rio Paraopeba (Sf3).** IV Encontro dos Comitês Afluentes do Rio São Francisco. CBHSF – Comitê de Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco. Salvador, 05 e 06 de outubro de 2017.

LEMOS, J. L. S. et. al. **Revisão acerca da utilização de microrganismos na biorremediação de rejeitos industriais contendo metais pesados** Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008. 65 p

LI, X. *et al.*. The bioenergetics mechanisms and applications of sulfate-reducing bacteria in remediation of pollutants in drainage: a review. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 158, p. 162-170, ago. 2018. Elsevier BV.

LICONA, F. M. M. **Estudo de bactérias acidofílicas redutoras de sulfato com potencialidade no tratamento de drenagem ácida de mina.** 2019. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2019. <<https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/handle/tede/1512>>

LIMA, D. Tragédia em Brumadinho: vítima é identificada após mais de 2 anos. **Publicado no Jornal Estado de Minas em 06 de outubro de 2021.** Disponível em:<https://www.em.com.br/app/noticia/gerais/2021/10/06/interna_gerais,1311834/tragedia-em-brumadinho-vitima-e-identificada-apos-mais-de-2-anos.shtml>

LOPES, M. **Mineração No Brasil Atual E Sua Influência Na Economia Nacional.** Julho de 2014. Disponível em < <https://tecnicoeminerao.com.br/mineracao-brasil-atual-e-sua-influencia-na-economia-nacional/#:~:text=Atualmente%20a%20minera%C3%A7%C3%A3o%20no%20brasil,sider%C3%BArgicas%20e%2C%20principalmente%20as%20petroqu%C3%ADmicas>>

LOPES, T. R.. **Estudo de metais pesados em sedimentos de fundo na região de foz em afluentes do reservatório de Itaipu.** 2016. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, PR, 2016.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock.** Tradução : Alice Freitas Versiani et al.; Revisão Técnica: Flávio Guimarães da Fonseca. 14ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MEES, A. **Qualidade da Água em Reservatórios. Coleção Hidrologia e Qualidade da Água.** Agência Nacional de Águas – ANA. 2013. Disponível em <:<http://dspace.ana.gov.br/conhecerh/handle/ana/2205>>

MONTENEGRO, S. **Retiro Baixo será esvaziada até a cota operacional mínima para conter rejeitos.** Revista Digita Agência Canal Energia. Brasília, 29 de janeiro de 2019. Disponível em <<https://www.canalenergia.com.br/noticias/53088618/retiro-baixo-sera-esvaziada-ate-a-cota-operacional-minima-para-conter-rejeitos>> Acesso em: 09 de fevereiro de 2022.

NANDA, M. *et al.* Multimetal tolerance mechanisms in bacteria: the resistance strategies acquired by bacteria that can be exploited to :clean-up: heavy metal contaminants from

water. **Aquatic Toxicology**, v. 212, p. 1-10, jul. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.04.011>>.

NICOLAU, P. B. **Microrganismos e ambiente: ar e água, solo e extremos**. 2016. Disponível em: <repositorioaberto.uab.pt> Acesso em: dezembro de 2022.

NIU, Z. S. *et al.* Sulphate-reducing bacteria (SRB) in the Yangtze Estuary sediments: abundance, distribution and implications for the bioavailability of metals. **Science Of The Total Environment**, v. 634, p. 296-304, set. 2018. Elsevier BV.

PACHECO, F. A. L., *et al.*, 2022. Water security threats and challenges following the rupture of large tailings dams. **Sci. Total Environ.** 834, 155285.

POLIGNANO, M. V.; LEMOS, R, S. Rompimento da barragem da Vale em Brumadinho: impactos socioambientais na Bacia do Rio Paraopeba. **Cienc. Cult.** vol.72 no.2 São Paulo Abril./Junho 2020

RODRIGUES, C. *et al.* Chitin as a substrate for the biostimulation of sulfate-reducing bacteria in the treatment of mine-impacted water (MIW). **Journal of Hazardous Materials** - Volume 375, 5 de Agosto de 2019, Pags. 330-338. ISSN 0304-3894, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.086>.

SÁNCHEZ-ANDREA,I; SANZ, J. L.; BIJMANS, M. F. M.; STAMS, A. J. M. Sulfate reduction at low pH to remediate acid mine drainage. **Journal of Hazardous Materials**, Volume 269, 2014, Pages 98-109, ISSN 0304-3894, <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.12.032>>.

SAKAMOTO, I. K. **Quantificação de bactérias redutoras de sulfato por NMP**. In: VARESCHE, M. B. A. (Coord). Curso de treinamento para desenvolvimento, consolidação e aplicação de técnicas cromatográficas e microbiológicas para monitoramento de reatores. Departamento de Hidráulica e Saneamento, Laboratório de Processos Biológicos, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2009. 23 p.

SILVA, L. J. **Estoques de carbono e nitrogênio de solos e sua relação com atributos químicos de solos, águas e sedimentos marginais como indicadores de manejo e conservação de ecossistemas na bacia do Rio Paraopeba-MG**. 2015. 118 f. Dissertação (Mestrado em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2015.

SILVA, V. G. **Caracterização da comunidade meiofaunística com ênfase na nematofauna em ecossistemas aquáticos do Curimataú Oriental Paraibano**. 2018. 61 fl. (Trabalho de Conclusão de Curso – Monografia), Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité – Paraíba – Brasil, 2018.

THOMPSON, F., et al., 2020. Severe impacts of the Brumadinho dam failure (Minas Gerais, Brazil) on the water quality of the Paraopeba River. **Sci. Total Environ.** 705, 135914.

THOMPSON, F., et al., 2023. Brumadinho dam collapse induces changes in the microbiome and the antibiotic resistance of the Paraopeba River (Minas Gerais, Brazil). **Sci. Total Environ.** 865, 161278. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161278>

TRUMM, D. *et al.* Passive Treatment of ARD Using Mussel Shells—Part III: Technology Improvement and Future Direction. **Proceedings of the 10th International Conference on Acid Rock Drain, IMWA Conference**, Santiago, Chile. 2015. p. 21-24.

SOS MATA ATLÂNTICA. “Observando os rios. O retrato da qualidade da água nas bacias dos rios Paraopeba e Alto São Francisco um ano após o rompimento da barragem Córrego do Feijão – Minas Gerais”. **SOS Mata Atlântica**. 2020. Acesso em 18 de fevereiro de 2021. Disponível em: <<https://www.sosma.org.br/wp-content/uploads/2020/01/observando-rios-brumadinho-2020digital.pdf>>.

VIEIRA, B. F. **Precipitação de metais provenientes de drenagem ácida de minas por sulfeto gerado por via biológica**. 2014. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2014.

VIEIRA, B. F.; ARAÚJO, J. C.; TEIXEIRA, M. C.; PEREIRA, J. C. S.; Uma revisão sobre: tratamento biológico de drenagem de mina — cenário atualizado, perspectivas e recomendações de futuros trabalhos. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**. 2021, v. 26, n. 1. Acessado em: 26 Dezembro 2022, pp. 69-76. ISSN 1809-4457. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-415220190123>>.

VILLA-GÓMEZ, D. K. **Simultaneous sulfate reduction and metal precipitation in an inverse fluidized bed reactor**. Tese submetida para Academic Board of Wageningen University e the Academic Board of the UNESCO-IHE Institute for Water Education para obtenção do título de doutor. October 2013. Delft, Holanda.

YABUKI, L. N. M. *et al.* Monitoring and Removal of Metals from Acid Mine Drainage through an Anaerobic Reactor. **Revista Brasileira De Engenharia De Biosistemas**, 2020, <https://doi.org/10.18011/bioeng2020v14n4p389-401>

ZAMPIERI, B. D. B. **Metais em áreas portuárias e sua influência na dinâmica microbiana: da caracterização do problema à busca de soluções**. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2020.

ZHANG, M.; WANG, H. Preparation of immobilized sulfate reducing bacteria (SRB) granules for effective bioremediation of acid mine drainage and bacterial community analysis. **Minerals Engineering** - Volume 92. Junho, 2016, Pags 63-71. <<https://doi.org/10.1016/j.mineng.2016.02.008>>

ANEXO**ANEXO A - Composição do Meio de Cultura Postgate C**

Sais e Reagentes	Quantidades em 1000 mL de água ultrapurificada
NH ₄ Cl	1,0 g
KH ₂ PO ₄	0,5 g
MgCl ₂ . 6H ₂ O	0,1 g
CaCl ₂ . 6H ₂ O	0,06 g
Na ₂ SO ₄	4,5 g
MgSO ₄	0,06 g
Lactato de sódio	6,0 g
Extrato de levedura	1,0 g
C ₆ H ₅ O ₇ Na ₃ (Citrato de Sódio)	0,3 g
Solução de Resazurina	1,0 mL

ANEXO B - Solução de Oligoelementos Ácidos e Básicos Utilizada no Meio De Cultura Postgate C nos Ensaios de Resistência a Metais

Solução Estoque Ácida (1L)

HCl	1,8 g
H ₃ BO ₃	61,8 mg
MnCl ₂	61,25 mg
FeCl ₂	943,5 mg
CoCl ₂	65,5 mg
NiCl ₂	12,86 mg
ZnCl ₂	67,7 mg
CuCl ₂	13,35 mg

Solução Estoque Básica (1L)

NaOH	400,0 mg
Na ₂ SeO ₃	17,3 mg
Na ₂ WO ₄	29,4
Na ₂ MoO ₄	20,5 mg

ANEXO C - Solução de Vitaminas Adicionadas ao Meio Basal (1L)

Biotina	20 mg
Nicotinamida	200 mg
Ácido aminobenzóico	100 mg
Tiamina (Vitamina B1)	200 mg
Ácido pantotênico	100 mg
Piridoxamina	500 mg
Cianocobalamina (Vitamina B12)	100 mg
Riboflavina	100

ANEXO D - SOLUÇÃO TAMPÃO A (1L)

$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	30g
$\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	5g
KNO_3	1g
$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	20ml

Solução Padrão utilizada para a curva de calibração (1L):

Na_2SO_4	0,1479 g
--------------------------	----------