

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO “STRICTO SENSU” EM
ENGENHARIA QUÍMICA – NÍVEL MESTRADO

ESTUDO DA REDUÇÃO DE Cr(VI) USANDO ESPÉCIES DE MACRÓFITAS
AQUÁTICAS VIVAS PELA TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X DE
ALTA RESOLUÇÃO

NEIVA MARTIN

TOLEDO
2008

NEIVA MARTIN

**ESTUDO DA REDUÇÃO DE Cr(VI) USANDO ESPÉCIES DE MACRÓFITAS
AQUÁTICAS VIVAS PELA TÉCNICA DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X DE
ALTA RESOLUÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós -
Graduação em Engenharia Química em
cumprimento parcial aos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Engenharia
Química, área de concentração em
Desenvolvimento de Processos.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Rodolfo
Espinoza Quiñones

TOLEDO

2008

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária
UNIOESTE/Campus de Toledo.

Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

Martin, Neiva

M382e Estudo da redução de Cr(VI) usando espécies de
macrófitas aquáticas vivas pela técnica de fluorescência de
raios-X de alta resolução / Neiva Martin. -- Toledo, PR : [s.
n.], 2008.

xvi ; 104 f.

Orientador: Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones
Dissertação (Mestre em Engenharia Química) –
Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo.
Centro de Engenharias e Ciências Exatas.

1. Desenvolvimento de processos 2. Macrófita aquática 3.
Cromo – Redução 4. Bioacumulação 5. Fluorescência de raio
X 6. Efluentes - Tratamento - Uso de macrófitas aquáticas 7.
Metais pesados - Remoção I. Espinoza Quiñones, Fernando
Rodolfo, Or. II. T

CDD 20. ed. 660.28423

DEDICATÓRIA

A meu esposo, meus pais e meus irmãos, que compartilharam comigo mais essa conquista.

AGRADECIMENTO

A Deus, por iluminar meus passos, e me dar força e coragem para realizar esse trabalho.

Ao meu esposo Nivorley, pela força, apoio, dedicação, incentivo, compreensão, amor e amizade.

Aos meus pais, José e Neide, pelo amor e apoio.

Aos meus irmãos, Nilza e Johnny, pela força e apoio.

Aos professores do curso, pelo conhecimento compartilhado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones, pela ajuda, dedicação e orientação.

À Diretora do Colégio Estadual Senador Teotônio Vilela, prof. Nairu Yamanaça, pela compreensão e incentivo.

Aos colegas de trabalho, pela ajuda e compreensão nos momentos de ausência.

Ao acadêmico de Engenharia Química Fernando Gomes da Silva Junior “Maraca” pela ajuda na parte experimental.

Aos colegas de turma, pela ajuda mútua.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, pelo fornecimento das instalações.

Aos meus amigos, com os quais dividi as angústias e expectativas durante esse período.

A todos, que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho!

“O degrau de uma escada não serve simplesmente para que alguém permaneça em cima dele, destina-se a sustentar o pé de um homem pelo tempo suficiente para que ele coloque o outro um pouco mais alto”.

(THOMAS HUXLEY)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE EQUAÇÕES	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Metais Pesados	4
2.2. Formas Tóxicas de Metais	4
2.3. O Cromo	5
2.4. Toxicidade e Essencialidade do Cromo	6
2.5. Fitorremediação	8
2.6. Macrófitas Aquáticas	9
2.6.1. <i>Salvinia auriculata</i>	11
2.6.2. <i>Pistia stratiotes</i>	12
2.6.3. <i>Eicchornia crassipes</i>	13
2.7. Nutrição Vegetal	15
2.8. Bioacumulação e Biossorção de Metais Pesados	16
2.9. Entorno Químico na Adsorção de Metais	17
2.10. Remoção de Íons Cromo por Macrófitas Aquáticas	19
3. ESPECTROSCOPIA DE RAIOS-X	25
3.1. Fluorescência de Raios-X	25
3.1.1. Mecanismo Auger	27
3.1.2. Mecanismo Fluorescente	27
3.2. Produção de Radiação Síncrotron	28
3.3. Uso Analítico de Espectroscopia de Raio-X de Alta Resolução (HR-XRF). 31	
3.3.1. Espectrometria de Raios-X Inelásticos	32
3.3.2. Geometria do Espectrômetro	33
3.3.3. Feixe de Raios-X Monocromáticos	34
3.3.4. Analisador Esférico	35
3.3.5. Resolução na Óptica de Bragg	35

3.4. Regras de Seleção	37
3.5. Linhas de Emissão de Cromo	39
3.6. Borda de Absorção do Cromo	44
3.7. Espectroscopia de Absorção Atômica	45
3.8. Espectroscopia Ultravioleta – Visível	47
4. MATERIAIS E MÉTODOS	49
4.1. Solução de Cultivo das Plantas	49
4.2. Estado de Oxidação do Cromo na Solução Hidropônica	50
4.3. Experimento de Bioacumulação	51
4.4. Coleta das Plantas e Preparo das Amostras	52
4.5. Irradiação das Amostras	53
4.6. Espectro de Emissão	55
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1. Influência do pH no Estado de Oxidação do Cromo	57
5.2. Redução dos Espectros de Emissão Cr-K β	59
5.2.1. Calibração em Energia	60
5.2.2. Normalização Relativa à Intensidade de Raios-X Incidente	62
5.2.3. Subtração do Efeito Matriz	63
5.2.4. Subtração do Efeito da Borda de Absorção do Cromo	65
5.3. Linhas Espectrais Cr-K β nos Compostos de Cromo	68
5.3.1. Linha Espectral K $\beta_{1,3}$	71
5.3.2. Linha Espectral K $\beta_{2,5}$	73
5.4. Misturas de Óxidos de Cromo (III) e (VI)	75
5.5. Linhas Espectrais Cr-K β nas Raízes	77
5.5.1. <i>Salvinia auriculata</i>	77
5.5.2. <i>Pistia stratiotes</i>	79
5.5.3. <i>Eicchornia crassipes</i>	82
5.5.4. Comparação das Intensidades Relativas das Linhas Cr-K β	84
5.6. Misturas Contendo Matriz e Óxidos de Cromo (III) e (VI)	86
6. CONCLUSÕES E SUGESTÕES	91
6.5. Conclusões	91
6.6. Sugestões	92

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
SÍTIOS CONSULTADOS	102
ANEXO	103

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Tipos de macrófitas aquáticas	10
Figura 2.2 - <i>Salvinia auriculata</i>	12
Figura 2.3 - <i>Pistia stratiotes</i>	13
Figura 2.4 - <i>Eicchornia crassipes</i>	14
Figura 2.5 - Estrutura da fitoquelatina	19
Figura 3.1 - Excitação e des-excitação atômica	26
Figura 3.2 - Processo Auger	27
Figura 3.3 - Fluorescência de raios-X	28
Figura 3.4 - Facilidades de luz síncrotron no LNLS	30
Figura 3.5 - Linha de Luz D12A, no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron	31
Figura 3.6 - Esquema do espectrômetro de espalhamento inelástico de raios-X....	32
Figura 3.7 - Geometria do espectrômetro de fluorescência de raios-X de alta resolução	33
Figura 3.8 - Diagrama das linhas espectrais das séries K e L	38
Figura 3.9 - Linhas espectrais $K\alpha_{1,2}$, $K\beta_{1,3}$, $K\beta_{2,5}$ e $K\beta''$ em compostos de cromo ...	40
Figura 3.10 - Espectro de emissão de raios-X $K\beta$ em compostos de cromo	41
Figura 3.11 - Espectros de emissão das linhas $K\beta$ para diferentes compostos de Cr obtidos com espectrômetro: (a) comercial e (b) de alta resolução em energia	42
Figura 3.12 - Espectros de emissão fluorescente de alta resolução para Cr metálico (....) e compostos (___) correspondentes a simetria (a) octaédrica (CrIII) e (b) tetraédrica (CrVI)	43
Figura 3.13 - Coeficiente de absorção do cromo por unidade de massa	45
Figura 4.1 - Experimento de bioacumulação de Cr(III) e Cr(VI) pelas macrófitas aquáticas <i>Eicchornia crassipes</i> , <i>Pistia stratiotes</i> e <i>Salvinia auriculata</i>	52
Figura 4.2 - Disposição do conjunto amostra-analisador-detector no círculo de Rowland na câmara XRD1	54
Figura 4.3 - Pastilha de amostra no porta-amostra de teflon	55
Figura 4.4 - Disposição geométrica do filme de Mylar, porta-amostra e detector no interior da câmara XRD1	55
Figura 5.1 - Resposta da absorvância como função da concentração de Cr(III) ..	57

Figura 5.2 - Ajuste de dois picos Gaussianos no entorno da linha $K\beta_{1,3}$ do Cr^0	61
Figura 5.3 - Suavizado do espectro do monitor da intensidade do feixe de raios-X monocromáticos incidente na amostra e seu “suavizado”	62
Figura 5.4 - Espectro Cr- $K\beta$ da <i>Salvinia auriculata</i> tratada com Cr(VI)	63
Figura 5.5 - Espectro de espalhamento de raios-X na matriz da planta	64
Figura 5.6 - Espectro Cr- $K\beta$ com e sem efeito matriz	65
Figura 5.7 - Espectro de absorção do cromo	66
Figura 5.8 - Derivada do espectro de absorção do cromo	66
Figura 5.9 - Representação da borda de absorção pela função escalo.....	67
Figura 5.10 - Espectro Cr- $K\beta$ com e sem efeito da Borda de Absorção	68
Figura 5.11 - Superposição dos espectros $K\beta$ do Cr^0 , Cr_2O_3 e CrO_3	69
Figura 5.12 - Espectros de emissão do Cr^0 , Cr_2O_3 e CrO_3 na região da linha espectral (a) principal $K\beta_{1,3}$ e (b) satélite $K\beta_{2,5}$	70
Figura 5.13 - (a) Comportamento da energia e (b) da largura da linha espectral Cr- $K\beta_{1,3}$ em função do estado de oxidação	72
Figura 5.14 - (a) Comportamento da energia, (b) da largura e (c) da intensidade da linha espectral Cr- $K\beta_{2,5}$ em função do estado de oxidação	74
Figura 5.15 - Linha espectral Cr- $K\beta_{2,5}$ para misturas contendo diferentes proporções de Cr_2O_3 e CrO_3 . (a) 100% Cr_2O_3 ; (b) 90% Cr_2O_3 e 10% CrO_3 ; (c) 70% Cr_2O_3 e 30% CrO_3 ; (d) 50% Cr_2O_3 e 50% CrO_3 ; (e) 30% Cr_2O_3 e 70% CrO_3 ; (f) 10% Cr_2O_3 e 90% CrO_3 ; (g) 100% CrO_3	76
Figura 5.16 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ do Cr^0 , Cr(III), Cr(VI) comparadas com a da <i>Salvinia auriculata</i> tratada com Cr(VI)	77
Figura 5.17 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ do Cr^0 , Cr(III), Cr(VI) e da <i>Salvinia auriculata</i> tratada com Cr(III)	78
Figura 5.18 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ da <i>Salvinia auriculata</i> cultivada com Cr(III) e Cr(VI)	79
Figura 5.19 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ do Cr^0 , Cr(III), Cr(VI) e da <i>Pistia stratiotes</i> tratada com Cr(VI)	80
Figura 5.20 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ do Cr^0 , Cr(III), Cr(VI) e da <i>Pistia stratiotes</i> tratada com Cr(III)	80
Figura 5.21 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ da <i>Pistia stratiotes</i> cultivada com Cr(III) e Cr(VI)	81

Figura 5.22 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ do Cr^0 , Cr(III), Cr(VI) e da <i>Eicchornia crassipes</i> tratada com Cr(VI)	82
Figura 5.23 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ do Cr^0 , Cr(III), Cr(VI) e a <i>Eicchornia crassipes</i> tratada com Cr(III)	83
Figura 5.24 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ da <i>Eicchornia crassipes</i> que foi cultivada com Cr(III) e Cr(VI)	84
Figura 5.25 - Intensidade relativa da linha espectral $K\beta_{2,5}$ em função das macrófitas aquáticas cultivadas com Cr(III) e Cr(VI)	85
Figura 5.26 - Linha espectral Cr- $K\beta_{2,5}$ para misturas contendo 90mg da macrófita <i>Salvinia auriculata</i> e diferentes proporções de Cr(III) e Cr(VI). (a) 2,05 mg de Cr(III) e 3,64 mg de Cr(VI); (b) 3,42 mg de Cr(III) e 2,60 mg de Cr(VI); (c) 4,79 mg de Cr(III) e 1,56mg de Cr(VI)	88
Figura 5.27 - Comportamento da área líquida da linha espectral Cr- $K\beta_{2,5}$ em função da concentração de Cr(III) nas misturas contendo diferentes proporções de Cr_2O_3 e planta.	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Principais macronutrientes em plantas	15
Tabela 2.2 - Principais micronutrientes em plantas	16
Tabela 3.1 - Construção dos grupos de transição e número de elétrons em cada estado	38
Tabela 3.2 - Principais parâmetros obtidos nos diferentes compostos estudados a partir de medidas de fluorescência $K\beta$ de alta resolução	44
Tabela 4.1 - Micronutrientes e suas concentrações na solução de Clark	49
Tabela 4.2 - Macronutrientes e suas concentrações na solução de Clark	49
Tabela 5.1 - Concentração de Cr (III) em soluções com variação de pH	58
Tabela 5.2 - Cromo total, Cr(III) e Cr(VI), em mgL^{-1} , em diferentes pH	58
Tabela 5.3 - pH da solução de cultivo das macrófitas aquáticas	58
Tabela 5.4 - Condições experimentais de irradiação	59
Tabela 5.5 - Linhas espectrais $K\beta_{1,3}$ e $K\beta_{2,5}$ para o cromo em diferentes estados de oxidação	71
Tabela 5.6 - Parâmetros dos picos $K\beta_{2,5}$ para as misturas de óxidos de cromo	75
Tabela 5.7 - Parâmetros da linha espectral $K\beta_{2,5}$ do cromo nas macrófitas tratadas com cromo (III) e (VI)	85
Tabela 5.8 - Proporções das misturas de 90mg de matriz e Cr(III) e Cr(VI)	87
Tabela 5.9 - Parâmetros dos picos $K\beta_{2,5}$ para as misturas de 90mg de planta e óxidos de Cr(III) e Cr(VI)	87
Tabela 5.10 - Concentração de cromo acumulado nas macrófitas aquáticas	89
Tabela 5.11 - Remoção de cromo pelas macrófitas aquáticas estudadas	90

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 3.1 - Rendimento fluorescente para as séries K e L	28
Equação 3.2 - Potência irradiada	29
Equação 3.3 - Potência total	29
Equação 3.4 - Comprimento de onda crítico	29
Equação 3.5 - Cálculo do comprimento de onda crítico para elétrons	30
Equação 3.6 - Lei de Bragg	35
Equação 3.7 - Energia de um fóton	36
Equação 3.8 - Resolução do analisador no processo de difração de raios-X	36
Equação 3.9 - Lei de Beer-Lambert	46
Equação 3.10 - Transmitância da amostra	47
Equação 5.1 - Conversão de passos do analisador em posições angulares	60
Equação 5.2 - Conversão de posição angular do analisador em energias (eV)	61
Equação 5.3 - Função Escalão utilizada para subtração da borda de absorção ...	67
Equação 5.4 - Variação da energia da linha espectral $K\beta_{2,5}$ em relação à $K\beta_{1,3}$	71
Equação 5.5 - Intensidade Relativa da linha espectral $K\beta_{2,5}$ em relação à $K\beta_{1,3}$	71
Equação 5.6 - Cálculo da porcentagem de cromo removido pelas macrófitas	89

MARTIN, Neiva. **Estudo da Redução de Cr(VI) Usando Espécies de Macrófitas Aquáticas Vivas pela Técnica de Fluorescência de Raios-X de Alta Resolução**. 104p. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

RESUMO

Neste trabalho foi feito o experimento de bioacumulação do cromo trivalente e hexavalente por três espécies de macrófitas aquáticas: *Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes*, visando verificar a ocorrência do processo de redução do Cr(VI) durante a biossorção. Previamente, um teste de especiação de cromo baseado em extração química do cromo trivalente a partir de uma solução hidropônica dopada com cromo hexavalente, foi realizado em diferentes pHs, para verificar se o pH da solução nutritiva pode ser o responsável pela redução natural do estado de oxidação do cromo antes do processo de biossorção pelas plantas. Não foi observada a redução do Cr(VI) para Cr(III) no pH da solução de cultivo. Pelas características da técnica de Fluorescência de Raios-X de Alta Resolução em Energia (HR-XRF), que permite medir a energia das linhas espectrais de raios X $K\beta$ com alta resolução em energia (em torno de 2,0 eV) para a região dos metais de transição, foi possível estudar a mudança do estado de oxidação do cromo hexavalente através das linhas espectrais $K\beta_{1,3}$, $K\beta_{2,5}$ e $K\beta''$, que traz informação sobre o estado de oxidação do metal e seu ambiente químico. As medidas de HR-XRF foram realizadas na câmara de vácuo XRD1, no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, em Campinas. Após a coleta, discos compactados de raízes secas e padrões de compostos de cromo foram preparados. Cada disco de amostra, o analisador esférico, e o detector de radiação foram acomodados em um círculo de Rowland com arranjo de Johann. Durante as medidas, um detector foi usado para monitorar a intensidade do feixe de raios X monocromáticos incidentes. Todas as amostras foram irradiadas com feixe monocromático de 6,1 keV. Os espectros de emissão foram normalizados pelas contagens do monitor, e subtraída as contribuições da matriz orgânica e da borda de absorção do cromo. Baseado na intensidade da linha espectral $K\beta_{2,5}$ das amostras de raízes e padrões, a concentração de cromo total nas plantas foi calculada, indicando que esta é de

aproximadamente 1,0% por biomassa seca após 27 dias de experimento. Os espectros de emissão Cr-K β das raízes das macrófitas tratadas com Cr(III) ou Cr(VI) foram comparados, e as suas linhas espectrais K $\beta_{2,5}$ mostraram-se idênticas em energia e largura para as três plantas aquáticas, sugerindo que a redução do cromo, de hexavalente para trivalente, ocorreu em todos os casos estudados. A largura do pico para a linha espectral K $\beta_{2,5}$ em todas as amostras de raízes mostrou-se maior que nas amostras de compostos de cromo, o que pode ser explicado pelo fato de que é possível haver diferentes ligantes para o íon cromo na estrutura orgânica das raízes. Baseado nesses resultados, a redução do Cr(VI) para Cr(III) ocorreu durante o processo de biossorção do cromo pelas raízes das macrófitas aquáticas. Desta forma, verifica-se que estas macrófitas têm um grande potencial para detoxificar e acumular íons cromo, podendo ser utilizada com eficiência na remoção de metais em efluentes industriais.

Palavras-chave: Cromo hexavalente, cromo trivalente, macrófitas vivas, HR-XRF.

MARTIN, Neiva. **Hexavalent chromium detoxification by living aquatic macrophytes root-based biosorption using high resolution x-ray fluorescence** 104p. 2008. Dissertation of Science Master in Chemical Engineering. Parana West State University.

ABSTRACT

In this work, the chromium ions bioaccumulation experiment was carried out using three species of aquatic macrophytes: *Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* and *Eicchornia crassipes*, in order to confirm the hexavalent chromium detoxification during the biosorption process. Previously, a chromium speciation test based on chemical extraction of trivalent chromium from hexavalent chromium-doped hydroponic solutions was also performed at different pH, in order to verify if the nutritive solution pH could be responsible by the natural reduction of oxidation state on chromium before the biosorption process by the plants. No reduction from Cr(VI) to Cr(III) was observed at all solution pH. Based on the peculiar characteristics of High Resolution X-ray Fluorescence technique (HR-XRF), which allows to measure the X-ray $K\beta$ spectral line energy with good energy resolution (around 2,0 eV) for the transition metal region, the change on oxidation state of hexavalent chromium was possible to study through the $K\beta_{1,3}$, $K\beta_{2,5}$ and $K\beta''$ spectral lines, which bring up information on chromium oxidation state and chemical environment. The HR-XRF measurements were performed at the XRD1 vacuum chamber available in the National Laboratory of Synchrotron Light, located near Campinas city. After collection, dry roots and chromium compound standard were prepared in compact disk by pressing. Each sample disk, spherical curved analyzer, and radiation detector were placed in a circle of Rowland within an arrangement of Johann. Another radiation detector was also used to monitoring of monochromatic X-ray beam intensity during the measurements. All the samples were irradiated by a 6.1 keV monochromatic X-ray beam. All the emission spectra were normalized to the monitor counts, and subtracted the organic matrix contribution and chromium absorption edge. Based on the spectral $K\beta_{2,5}$ peak intensity of roots and standard samples, the total chromium uptake concentration in plant was calculated, indicating that there is approximately 1.0 % of chromium per dry biomass after 27 days of experiment.

When both Cr-K β spectra of macrophytes roots with Cr(III) and Cr(VI) treatment were compared, their spectral K $\beta_{2,5}$ peak were identical in energy and width for the three aquatic plants, suggesting that the chromium reduction from hexavalent to trivalent form have occurred in all cases studied. The peak width at half maximum for K $\beta_{2,5}$ in all root samples were slightly larger than the chromium compound samples, which can be explained by the fact that there is the possibility to have different ligands to chromium ions inside the biological structure of roots. Based on these results, the chromium detoxification from hexavalent to trivalent form have actually happened during the biosorption of chromium into the macrophytes roots. Finally, these aquatic macrophytes have a great potential to detoxificate and accumulate of chromium ions that can be very useful to the metal removal from industrial effluents.

Keywords: hexavalent chromium, trivalent chromium, living macrophytes, HR-XRF.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento da população e a decorrente necessidade de aumento na produção de alimentos e na industrialização exigem um crescente consumo de água para os mais variados fins (SCHNEIDER & RUBIO, 2003). Deste modo, a geração de águas residuárias ou efluentes industriais e seu despejo em corpos de água traz uma enorme preocupação quanto à poluição ambiental. Entre os poluentes encontrados no meio aquático, podem-se citar os metais pesados, óleos, pesticidas, corantes, reagentes tensoativos, entre outros (BRAILE & CAVALCANTI, 1993).

Em se tratando de metais pesados, a maioria destes é prejudicial a uma variedade de espécies vivas, incluindo os seres humanos, causando disfunções orgânicas que podem levar esses organismos à morte. Em particular, o cromo é introduzido no meio ambiente pelo despejo de efluentes das indústrias metalúrgicas, de cromagem, de tintas, de pigmentos e curtumes. Ele apresenta-se, comumente, em dois estados de oxidação: trivalente e hexavalente. Dentre eles, o cromo (III) é considerado elemento traço essencial para os animais em baixas concentrações, pois está envolvido no metabolismo da glicose, lipídeos e proteínas em mamíferos. Por outro lado, o cromo (VI) é não essencial e tóxico, mesmo em baixas concentrações (MATOS, 2006).

Entretanto, se o cromo (III) for liberado para o meio ambiente, não há garantia de que o mesmo permanecerá neste estado, pois processos de oxidação podem formar cromo (VI) (UNEP, 1991 citado por SILVA & PEDROZO, 2001; RICHARD & BOURG, 1991 citado por CHAVES, 2005; OUTRIDGE & SHEUHAMMER, 1993 citado por BULUT et al., 2007). O cromo (VI), por sua vez, penetra facilmente nas células, onde sofre redução para cromo (III) e causa danos à estrutura celular. Dessa forma, ocorre um aumento na concentração de cromo (III) acima do normal, causando um desequilíbrio e transformando-o em tóxico (PAULINO, 1993). Sendo assim, atividades antropogênicas que liberem cromo (III) ou (VI) são igualmente indesejáveis.

No tratamento de efluentes industriais que contém cromo, tem sido aplicada uma enorme variedade de métodos, que geralmente envolvem precipitação, oxidação ou redução, filtração, troca iônica (com resinas quelantes, carvão ativado, etc.) (RODRIGUES et al., 2006). Pela aplicação de alguns destes métodos, pode-se

obter bons resultados na remoção de metais pesados. Porém, podem apresentar custo elevado, visando atender as normas ambientais vigentes quanto ao despejo de efluentes. Um método alternativo, mais recente, tem sido o uso de plantas no tratamento de efluentes industriais, conhecido como Fitorremediação. Suas principais vantagens são: o baixo custo, a possibilidade de aplicação em grandes áreas contaminadas, e o tratamento *in situ*; sendo este menos agressivo ao meio ambiente (CUNNINGHAM et al., 1996).

Em efluentes que contém cromo no estado hexavalente, há necessidade de fazer a detoxificação do mesmo, levando-o a forma trivalente, por processos químicos, biológicos, ou ambos. Essa redução do cromo pode ser feita naturalmente por algumas espécies de plantas, tal como a macrófita aquática flutuante *Eichhornia crassipes*, durante o processo de remoção de nutrientes e metais pelas raízes da planta (LYTLE et al., 1998).

A detoxificação do cromo por outras espécies de plantas tem sido uma das motivações do presente trabalho, de modo a não restringir o uso a uma única espécie no processo de redução do Cr(VI). Porém, existem outras plantas aquáticas que podem ter esse potencial de detoxificação natural. Dentre elas estão a *Salvinia auriculata* e a *Pistia stratiotes*, muito comuns na região sul do Brasil.

O estudo da especiação do cromo, depois de adsorvido/bioacumulado pela planta, pode ser feito por métodos convencionais, que envolvem extração química. Porém, esses métodos podem introduzir alterações nos resultados, tornando-os menos confiáveis (LYTLE et al., 1998). Outros métodos não convencionais, sem a introdução de contaminantes, têm sido utilizados. Estes são baseados na espectroscopia de raios-X. Na atualidade, a espectroscopia de raios-X tem se tornado uma poderosa ferramenta na física e química moderna com o intuito de obter informações das propriedades físicas e químicas de amostras, sem requerer abertura química da mesma.

As técnicas espectroscópicas utilizadas para esse tipo de análise são: PIXE, Fluorescência Raios-X por Reflexão Total (SR-TXRF) e Fluorescência de Raios-X com Alta Resolução em Energia (HR-XRF) (PERÄNIEMI & AHLGRÉN, 1995). Esta última (HR-XRF) permite desvendar efeitos químicos na estrutura eletrônica de átomos que conformam um composto orgânico ou inorgânico, podendo extrair informações sobre o estado de oxidação do metal bem como de sua forma de

ligação no composto, graças ao poder de resolução do instrumental nas linhas espectrais satélites do metal (TIRAO et al. 2006).

Dessa forma, o presente trabalho propõe-se investigar, utilizando a técnica HR-XRF, se as macrófitas aquáticas *Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes* são capazes de fazer a redução do cromo (VI) para cromo (III), e, portanto, serem usadas como biorremediadoras de corpos de água e detoxificadoras do metal.

Para uma melhor abordagem do assunto, este trabalho foi dividido em capítulos, da seguinte forma: além da introdução apresentada no Capítulo 1, no Capítulo 2 é abordada a revisão bibliográfica sobre o metal cromo e as macrófitas aquáticas estudadas. No Capítulo 3 são apresentadas as técnicas espectrométricas utilizadas na parte experimental do trabalho. No Capítulo 4 são abordados os materiais e métodos empregados em todos os experimentos. No Capítulo 5 são descritas a redução e o tratamento dos espectros de emissão gerados para cada amostra, e comparados aos resultados obtidos de amostras padrões (compostos de cromo III e VI), discutindo os estados de oxidação do cromo e possíveis ligantes no entorno químico. Por fim, no Capítulo 6 são apresentadas as principais conclusões encontradas e sugestões para trabalhos futuros.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Metais Pesados

Metais pesados são definidos como o grupo de elementos químicos que possuem número atômico maior que 20 ou densidade igual ou superior a 5g/cm^3 (BARCELÓ & POSCHENRIEDER, 1992). Podem ser encontrados na forma elementar (sem alterações) ou formando compostos (BRADY & HUMISTON, 1981).

Alguns desses metais, conhecidos como micronutrientes, são essenciais para animais e plantas, em pequenas quantidades. O Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) é a instância que estipula os limites máximos aceitáveis desses metais em águas. Estes limites encontram-se na resolução CONAMA 357/2005, onde é estabelecido que a concentração máxima de cromo total em águas das classes I e II é de $0,050\text{ mgL}^{-1}$. A resolução CONAMA 20/1986 estabelecia $0,500\text{ mgL}^{-1}$ para o cromo (III) e $0,050\text{ mgL}^{-1}$ para o cromo (VI).

2.2. Formas Tóxicas de Metais

Verifica-se na literatura que a toxicidade de um metal está mais relacionada com a sua forma química (especiação), do que com a concentração total no meio aquático (ANDREW et al., 1977; LUOMA, 1983; WANG, 1987; MEADOR, 1991; ALLEN & HANSEN, 1996; MA et al., 2003; LOMBARDI et al., 2002; GIESY et al., 1977 citado por CHOUERI, 2004; KIM et al., 2001 citado por CHOUERI, 2004; GAGNETEN & VILA, 2001 citado por CHOUERI, 2004; SUNDA & GUILLARD, 1976 citado por KRISHNAN et al., 2007;). Sendo assim, a toxicidade do metal depende da concentração de íons livres no meio aquático, e não da concentração total do metal. Além disso, os autores supra citados afirmam que a matéria orgânica dissolvida reduz a concentração de íons livres no meio, e conseqüentemente, atenuam a toxicidade para organismos aquáticos.

O que diferencia um metal pesado de outros poluentes tóxicos é a sua não biodegradabilidade. A toxicidade do metal se deve a sua habilidade de ligação com as moléculas de proteínas e prevenir a replicação do DNA e subsequente divisão

das células. Portanto, é essencial a remoção desses metais pesados da água, antes de disponibilizá-la para os mais diversos usos.

2.3. O Cromo

O cromo foi descoberto na Rússia em 1765 por P. S. Hallas, mas o elemento só foi isolado em 1797 pelo químico francês Louis-Nicholas Vauquelin (ARFSTEN et al., 1998 citado por SILVA & PEDROZO, 2001). Ele preparou o metal a partir do tratamento de crocoita ($PbCr_4$) com ácido clorídrico diluído. O óxido de cromo, resíduo da reação, foi aquecido, originando o metal cromo. A palavra cromo vem do latim *chroma* e significa cor, isso porque os compostos de cromo são bastante coloridos.

O cromo é um metal cinza de número atômico 24, massa atômica 51,99g, com estrutura cristalina cúbica de corpo centrado. É o sétimo metal mais abundante na Terra como um todo, e não é encontrado livre na natureza, mas pode ser encontrado em forma de compostos, naturalmente em plantas, rochas, animais, solos e gases, podendo formar também vários compostos tóxicos. É um metal sem odor e muito resistente à corrosão. Os estados de oxidação mais comuns do cromo são (II), (III) e (VI). Os mais estáveis são os trivalentes e os hexavalentes, além da forma elementar, aparecendo na composição de óxidos, sulfatos, cromatos, dicromatos e sais básicos.

O cromo (VI) eventualmente será convertido em cromo (III), por meio de espécies redutoras como substâncias orgânicas, sulfeto de hidrogênio, enxofre, sulfeto de ferro, amônio e nitrito (USPHS, 1997 citado por SILVA & PEDROZO, 2001; KIMBROUGH et al., 1999 citado por BAYER, 2005). Essa forma trivalente geralmente não migra significativamente em sistemas naturais. Ao contrário, ela é rapidamente precipitada e adsorvida a partículas suspensas e sedimentos de fundo. No entanto, mudanças nas propriedades químicas e físicas de um ambiente aquático podem resultar em mudanças no equilíbrio cromo (III)-cromo (VI) (RICHARD & BOURG, 1991 citado por CHAVES, 2005).

Já foi mostrado que os íons de cromo (III) e (VI) acumulam-se em muitas espécies aquáticas, especialmente em peixes que se alimentam no fundo, como o peixe *Ictalurus nebulosus*; e em moluscos bivalves, como a ostra *Crassostrea*

virginica, o mexilhão *Mytilus edulis* e o molusco *Mya arenaria* (KIMBROUGH et al., 1999 citado por BAYER, 2005).

No solo, o cromo (III) é relativamente imóvel devido à sua forte capacidade de adsorção nesse meio. Em contraste, o cromo (VI) é altamente instável e móvel, visto que não é facilmente adsorvido em solos em condições naturais (MUKHERJEE, 1998). As reações de redox (oxidação do cromo (III) em cromo (VI) e redução do cromo (VI) em cromo (III)) são processos importantes que afetam a especiação e, conseqüentemente, a biodisponibilidade e toxicidade do cromo nos solos. A oxidação pode ocorrer na presença de óxidos de manganês e ferro, em solos frescos e úmidos (anaeróbicos), e sob condições levemente ácidas. A redução pode ocorrer na presença de sulfeto e ferro (II) (condições anaeróbicas), e é acelerada pela presença de matéria orgânica no solo (MUKHERJEE, 1998).

2.4. Toxicidade e Essencialidade do Cromo

O grau de toxicidade do cromo varia com seu estado de oxidação, e os compostos de cromo (VI) são mais nocivos que os compostos de cromo (III) (PAULINO, 1993).

O cromo (III) é considerado um nutriente traço essencial, necessário para o metabolismo de glicose, proteínas e gordura em mamíferos. Os sinais de deficiência em humanos incluem perda de peso e tolerância diminuída à glicose (GOYER, 1996 citado por BRIGDEN, 2000; USPHS, 1997 citado por SILVA & PEDROZO, 2001). As exigências mínimas diárias de cromo (III) para uma boa saúde não são conhecidas, mas estima-se, para humanos, que uma ingestão diária de 50-200 µg/dia seja segura e adequada. No entanto, embora seja um nutriente alimentar essencial, doses muito altas podem ser prejudiciais (USPHS, 1997 citado por SILVA & PEDROZO, 2001).

O cromo (VI) é não-essencial e tóxico. Os compostos são corrosivos e reações alérgicas na pele ocorrem logo após o contato, independente da dose. Exposições breves a níveis elevados podem resultar na ulceração da pele exposta, em perfurações no trato respiratório e na irritação do trato gastrointestinal. Danos ao rim e ao fígado também foram relatados (USPHS, 1997 citado por SILVA & PEDROZO, 2001). Além disso, a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer

(IARC, 1998 citado por BRIGDEN, 2000) classifica os compostos de cromo (VI) como carcinógenos conhecidos. A exposição ocupacional prolongada a níveis de cromo aéreo mais altos do que os presentes no ambiente natural foi associada ao câncer de pulmão. Os indivíduos que apresentam maior risco incluem os que trabalham em indústrias de produção de cromato e os envolvidos na fabricação e no uso de pigmentos de cromo; riscos semelhantes podem existir em trabalhadores que lidam com ligas de cromo, em soldadores de aço inoxidável, e em chapeadores de cromo (USPHS, 1997 citado por SILVA & PEDROZO, 2001; KIMBROUGH, 1999 citado por BAYER, 2005).

Os sais de cromo (VI) são, geralmente, solúveis no pH biológico, tendo assim fácil penetração nas células. Já os sais de cromo (III) são praticamente insolúveis, dificultando sua passagem para o interior da célula (FELCMAN, 1988 citado por FERREIRA, 2002).

O cromo (III) é essencial para a vida humana. Porém, o mesmo pode converter-se em cromo (VI), que é altamente tóxico. Os compostos de cromo (III) são bastante corrosivos, e as partes do corpo mais atingidas são a pele e o sistema respiratório, podendo causar até perfuração do septo nasal. O cromo (VI) também é tóxico para a vida aquática. O grau de toxicidade depende de alguns fatores, como: temperatura, pH, tempo de exposição, dureza e oxigênio dissolvido.

Os sintomas de toxicidade visíveis causados às plantas por níveis excessivos de cromo são: a diminuição de crescimento, atrofia no desenvolvimento radicular, enrolamento e descoloração das folhas e em algumas culturas, folhas com manchas vermelho-amarronzadas contendo áreas de necrose (RICHARD & BOURG, 1991 citado por CHAVES, 2005).

As principais fontes de cromo lançadas nos efluentes são provenientes de indústrias de aço inoxidável, tratamento de couro, produção de pigmentos, entre outras.

Há diversos processos para o tratamento de efluentes com cromo. Entre eles estão a precipitação cáustica, eletrólise, evaporação e osmose reversa, mas podem apresentar inconvenientes, como alto consumo de energia, aplicabilidade limitada, baixa capacidade de remoção, entre outros (FOURNIER, 1975 citado por BARCELOUX, 1999).

2.5. Fitorremediação

A fitorremediação é um processo que utiliza sistemas vegetais para recuperar águas e solos contaminados por poluentes orgânicos ou inorgânicos. Esta área de estudo, tomou impulso quando se verificou que a zona radicular das plantas apresenta a capacidade de biotransformar moléculas orgânicas exógenas. A rizosfera tem sido desde então estudada por sua importante função de utilizar moléculas poluentes como fonte de nutrientes para os diversos microorganismos que coabitam essa região.

Na fitorremediação, as plantas são utilizadas para remover metais pesados da água ou do solo através de cinco mecanismos: adsorção e assimilação dos contaminantes (fitoacumulação); volatilização dos contaminantes na atmosfera (fitovolatilização); degradação dos contaminantes dentro do tecido da planta utilizando enzimas (fitodegradação); estímulo de biodegradação através de atividades na rizosfera das plantas (rizodegradação); adsorção e precipitação, eliminando a biodisponibilidade de metais pesados e tóxicos dos solos (fitoestabilização) (FLATHMAN & LANZA, 1998).

As substâncias alvo da fitorremediação incluem metais (Pb, Zn, Cu, Cr, Ni, Hg, Se), compostos inorgânicos, elementos químicos radioativos (U, Cs, Sr), hidrocarbonetos derivados de petróleo (BTEX), pesticidas e herbicidas (bentazona, compostos clorados, etc), explosivos, solventes clorados e resíduos orgânicos industriais (PCPs, PAHs), entre outros (CUNNINGHAM et al., 1996).

Esta é uma técnica alternativa aos tratamentos convencionais de remoção física da camada contaminada do solo, ou do bombeamento e tratamento de águas, pois apresenta baixo custo, aplicação em grandes áreas contaminadas, e a possibilidade de realizar o tratamento *in situ*, agredindo menos o meio ambiente (CUNNINGHAM, 1996). Além disso, após o vegetal absorver o contaminante do solo, a planta pode ser armazenada para tratamento subsequente, podendo ser metabolizada, ou então, o contaminante é transformado em produtos não tóxicos ou menos tóxicos.

Mas, para realizar a fitorremediação, alguns fatores devem ser considerados. O tipo de poluente, a concentração e a presença de toxinas no solo ou não água devem estar dentro dos limites de tolerância da planta. Portanto, é fundamental conhecer o metabolismo do sistema vegetal a ser empregado e os fatores

determinantes da técnica para posterior avaliação de sua eficiência (CUNNINGHAM et al., 1996).

2.6. Macrófitas Aquáticas

Podem ser consideradas macrófitas aquáticas os vegetais visíveis a olho nu com partes fotossinteticamente ativas permanentemente, ou por diversos meses, todos os anos, total ou parcialmente submersas em água doce ou salobra, podendo ainda ser flutuantes (IRGANG & GASTAL Jr., 1996).

Segundo o Programa Internacional de Biologia (IBP), macrófita aquática é a denominação mais adequada para caracterizar vegetais que habitam desde brejos até ambientes verdadeiramente aquáticos, desta formas incluem vegetais desde macroalgas até plantas vasculares.

Macrófitas aquáticas podem viver livres, enraizadas ou flutuantes, como é o caso do aguapé. Outras flutuantes comuns no Brasil são a alface-d'água (*Pistia satratiotes*) e as plantas dos gêneros *Salvinia*, *Lemna* e *Azolla*. Com estrutura para se manterem flutuantes, elas possuem o pecíolo (base da folha) cheio de tecido esponjoso.

As macrófitas são classificadas como submersas, flutuantes ou emergentes e encontram-se distribuídas em vários ambientes, desde água doce até água salina, e possuem várias características favoráveis para acumulação de metais, tais como:

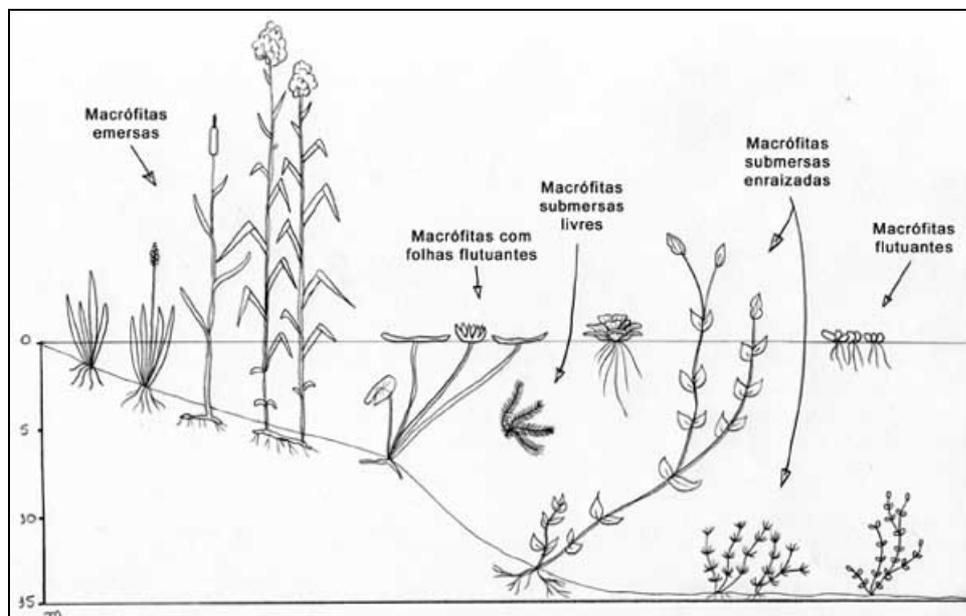
- São organismos predominantes na produção de biomassa em ecossistemas litorâneos altamente produtivos, tais como regiões alagadas e bancos marinhos (BRIX & SCHIERUP, 1989);
- As folhas e epiderme possuem grande área superficial que funciona como armadilha para material particulado, como sítios para sorção de íons metálicos e acumulação de poluentes (BISHOP & DEWATER, 1988 citados por VALITUTTO, 2004);
- Algumas espécies podem absorver metais pelas raízes e rizomas, assim como pelas folhas (WELSH & DENNY, 1980; HEISEY & DAMMAN, 1982 citado por VALITUTTO, 2004);

- Muitas macrófitas aquáticas são fixas e, portanto, são úteis como indicadores para vários contaminantes (SAY et al., 1981 citado por VALITUTTO, 2004).

Alguns exemplos de macrófitas são mencionados, de acordo com suas características:

- Macrófitas aquáticas emersas: enraizadas, porém com folhas fora d'água. Ex: *Eleocharis sp*, *Typha domingensis*.
- Macrófitas aquáticas com folhas flutuantes: enraizadas e com folhas flutuando na superfície da água. Ex: *Nymphaea sp*, *Nymphoides sp*.
- Macrófitas aquáticas submersas enraizadas: enraizadas, crescendo totalmente submersas na água. Ex: *Egeria densa*, *Mayaca sp*.
- Macrófitas aquáticas submersas livres: permanecem flutuando submergidas na água. Geralmente prendem-se a pecíolos e caules de outras macrófitas. Ex: *Utricularia sp*.
- Macrófitas aquáticas flutuantes: flutuam na superfície da água. Ex: *Pistia stratiotes*, *Eichhornia crassipes*.

Os tipos de macrófitas existentes estão esquematizados na Figura 2.1.



Fonte: ESTEVES, 1998.

Figura 2.1 - Tipos de macrófitas aquáticas.

Diversas espécies de plantas aquáticas podem agir como “fitorremediadoras”, removendo resíduos sólidos em suspensão, nutrientes, metais pesados, bactérias e outras substâncias orgânicas tóxicas encontradas em efluentes (LEWIS, 1995).

Alguns exemplos de plantas aquáticas comumente encontradas no Brasil são a *Eichhornia crassipes* (aguapé, lírio d’água, jacinto d’água, baroneza, rainha dos lagos), a *Pistia stratiotes* (alface d’água), a *Salvinia sp.* (samambaia da água, marrequinha, erva-de-sapo, murerê) (FORNO & HARLEY, 1979).

Essas plantas crescem rapidamente, desde que em ambientes que contenham nitrogênio e fósforo. Em pesquisas realizadas nas décadas de 60 e 70, observou-se que essas plantas podem remover metais pesados, fenóis e outros poluentes presentes no meio aquático (WOLVERTON, 1975; KAWAI & GRIECO, 1983; PINTO et al, 1987; LEE & HARDY, 1987).

A habilidade que as plantas aquáticas possuem de remover metais pesados em soluções é bem documentada e, na maioria dos casos, os metais são concentrados nas raízes das plantas e o processo de translocação para as partes aéreas é normalmente lento (LOW & LEE, 1990 citado por VALITUTTO, 2004).

2.6.1. *Salvinia auriculata*

A *Salvinia auriculata* é uma planta pertencente à família das Salviniaceae, do gênero Pteridophyta. É uma samambaia livre-flutuante que consiste basicamente em um sistema de brotos. O módulo morfológico básico é um ramo. Cada ramo consiste em um talo contendo três folhas, um broto de apical e dois laterais que brotam e podem se desenvolver em ramos novos. Duas dessas três folhas são verdes e flutuam, possuem na sua superfície pequenos cabelos que funcionam como repelentes da água. As verdadeiras raízes estão ausentes; e a terceira folha adaptou-se e submergiu absorvendo água e íons funcionando basicamente como uma raiz (FORNO & HARLEY, 1979). A *Salvinia auriculata* pode ser vista na Figura 2.2.



Figura 2.2 - *Salvinia auriculata*.

A *Salvinia auriculata* é macrófita comum de água doce, e sob condições favoráveis é rapidamente disseminada por propagação vegetativa, colonizando extensas superfícies de água em um tempo reduzido (PEIXOTO et al., 2005).

As elevadas taxas de crescimento, e a sensibilidade dessa planta à diferentes agentes tóxicos, justificam sua utilização como espécie bioindicadora de poluição em ecossistemas aquáticos (GARDNER & AL-HAMDANI, 1997).

A *Salvinia auriculata* é conhecida popularmente como “Orelha-de-rato”.

2.6.2. *Pistia stratiotes*

A *Pistia stratiotes* (Figura 2.3) pertence à família das Araceae, do gênero *Spermatophyta*. Possui folhas que são dispostas em rosetas, e as radicais têm o pecíolo maior e mais largo do que as outras; são espatuladas, obtusas, com a face superior de cor verde aveludada, pulverulentas, tendo sete nervuras simples e longitudinais; a face inferior é de cor verde pálida esbranquiçada e cutanilhosa; as folhas radicais têm nove centímetros de comprimento sobre dois centímetros de largura na base e seis centímetros no ápice; as outras folhas são de tamanho

variável, atingindo, às vezes, até doze centímetros de comprimento sobre nove centímetros de largura no ápice (VALITUTTO, 2004).



Figura 2.3 - *Pistia stratiotes*.

As raízes são fibrosas, e apresentam de 20 a 30 centímetros de comprimento, bastante numerosas, e formam como que uma longa trança de cabelos, dispostas na água verticalmente (SCHULTHORPE, 1967).

A *Pistia stratiotes* é conhecida popularmente como “Alface-d’água”.

2.6.3. *Eichhornia crassipes*

A *Eichhornia crassipes* (Figura 2.4) pertence à família das Pontedereaceae, do gênero Spermatophyta. Apresenta ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais. É uma planta nativa do Brasil, provavelmente da Amazônia, tendo uma distribuição extensiva no Norte e Nordeste do Brasil, e também na Venezuela, sendo particularmente abundante no Pernambuco e na Bacia Amazônica (BEYRUTH, 1992).

Atualmente, a *Eichhornia crassipes* pode ser encontrada em mais de cinquenta países do mundo (BAVARESCO, 1998).

A *Eicchornia crassipes* também é conhecida como “Jacinto d’água”, e no Brasil, recebe ainda os nomes de baronesa, camalote, lírio d’água, rainha dos lagos e aguapé, entre outros. É uma planta constituída de 95% de água, consistindo de raízes, rizomas, estolões, pecíolos, folhas e inflorescências. Sua produtividade pode alcançar de 150 a 400 ta⁻¹ em locais nos quais a temperatura média é de 27°C e há disponibilidade de nitrogênio e fósforo na água (PEDRALLI, 1996).

Variam em altura desde alguns centímetros até cerca de um metro, suspensas na água ou fixas no fundo, quando em águas rasas.

O sistema radicular do aguapé funciona como um filtro mecânico e retém material particulado (orgânico e mineral) existentes na água, e cria um ambiente rico em atividades de fungos e bactérias, passando a ser um agente de despoluição, reduzindo a DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), a taxa de coliformes e a turbidez das águas poluídas.



Figura 2.4 - *Eicchornia crassipes*.

2.7. Nutrição Vegetal

Carbono, hidrogênio e oxigênio são essenciais para a nutrição dos vegetais. Porém, os mesmos necessitam também de outros elementos que lhe sirvam de nutriente, como é o caso de alguns elementos que podem aparecer em distintas concentrações. Os que aparecem em maior concentração são chamados de macronutrientes (Nitrogênio, Potássio, Cálcio, Magnésio, Fósforo, Enxofre), listados na Tabela 2.1. Os que ocorrem em menores quantidades são conhecidos como micronutrientes (Cloro, Ferro, Boro, Manganês, Zinco, Cobre, Níquel, Molibdênio).

Os micronutrientes, listados na Tabela 2.2, são, em sua grande maioria, constituintes de regiões muito específicas de enzimas (como o centro de reação), tornando-se essenciais a baixas concentrações. Por sua vez, os macronutrientes são constituintes naturais de proteínas – e assim de todas as enzimas, de ácidos nucléicos, e de outras macromoléculas – ou atuam como agentes osmóticos, sendo necessários em maiores quantidades. Os elementos minerais tais como Nitrogênio, Potássio, Cálcio, Magnésio, Fósforo e Enxofre aparecem em maiores concentrações e podem atingir até 5% do peso seco; enquanto que, os micronutrientes são encontrados em quantidades reduzidas dentro do corpo do vegetal (menos de 0,01%) (EPSTEIN, 1975).

Tabela 2.1 - Principais macronutrientes em plantas.

Macronutrientes	Função
Nitrogênio (N)	É essencial na estrutura de todos os aminoácidos e em todas as proteínas sejam elas estruturais ou catalíticas (enzimas).
Potássio (K)	É ativador enzimático, na síntese de ATP, de carboidratos, na migração de fotoassimilados, na respiração e síntese de proteínas.
Cálcio (Ca)	Tem função estabilizadora da parede celular, no sistema de membrana das células, e na lamela média fazendo a ligação entre os radicais das pectinas.
Magnésio (Mg)	Tem função estrutural na molécula de clorofila
Fósforo (P)	Sua principal função é a transferência de energia. É estrutural nos ácidos nucléicos.
Enxofre (S)	É componente estrutural dos aminoácidos sulfurados, como cisteína e metionina.

Fonte: EPSTEIN, 1975.

Tabela 2.2 - Principais micronutrientes em plantas.

Micronutrientes	Função
Cloro (Cl)	É um co-fator da fotossíntese. Possui um papel fundamental no mecanismo regulação do funcionamento dos estômatos.
Ferro (Fe)	É um dos componentes estruturais dos citocromos e das ferredoxinas, na transpiração e na fotossíntese.
Boro (B)	Auxilia na formação de complexos orgânicos estáveis, com fenóis e boratos, entre outros.
Manganês (Mn)	É um dos ativadores enzimáticos da síntese protéica, do Ciclo de Krebs, da fotossíntese, e da formação de clorofila.
Zinco (Zn)	É um ativador de várias enzimas.
Cobre (Cu)	É um ativador de várias enzimas de oxi-redução
Níquel (Ni)	É essencial à atividade enzimática da uréase, no metabolismo do nitrogênio, e de enzimas ligantes do enxofre.
Molibdênio (Mo)	Atua especificamente no metabolismo do nitrogênio.

Fonte: EPSTEIN, 1975.

2.8. Bioacumulação e Biossorção de Metais Pesados

Bioacumulação é o nome dado ao processo de captação e retenção de uma substância ou contaminante por um organismo a partir de qualquer fonte (água, sedimento, outro organismo), via qualquer rota, e se constitui em efeito nocivo quando induz resposta biológica adversa (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004).

O termo bioacumulação tem sido aplicado quando envolve organismos vivos, enquanto que biossorção é o termo mais adotado quando estão envolvidos organismos mortos (AKSU et al., 1999). Isso porque a bioacumulação é um processo que envolve metabolismo, sendo dependente da energia da biomassa, que deve estar ativa; e a biossorção é um processo passivo, independente da energia da biomassa, no qual a captura dos íons é realizada mesmo estando a biomassa inativa.

O processo de bioacumulação varia grandemente entre os diferentes organismos. Os invertebrados têm uma capacidade particularmente alta de concentrar metais e outros materiais encontrados no seu ambiente ao filtrarem o plâncton, durante a alimentação. Como os metais podem formar complexos estáveis com compostos orgânicos, há uma tendência em serem fixados nos tecidos, e não

excretados, o que se traduz em elevada meia vida biológica – e isto talvez seja um dos maiores problemas apresentados pelos metais com relação aos seus efeitos sobre os organismos aquáticos, associado à transferência na cadeia alimentar (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004).

No processo de bioacumulação, o metal é captado pelas células vivas que utilizam caminhos diferenciados, como o transporte através da membrana celular, a síntese de proteínas intra e extracelulares com capacidade de formar ligação com metais, a precipitação extracelular e a formação de complexos como resultado da excreção de metabólitos (MESQUITA, 1995).

A bioissorção é um processo onde se utiliza sólidos de origem vegetal ou microorganismos na retenção, remoção ou recuperação de metais pesados em um ambiente aquoso (COSSICH et al., 2000).

A bioissorção de metais é um importante componente no tratamento de efluentes líquidos, e segue mecanismos complexos, principalmente troca iônica, quelação, adsorção por forças físicas e o aprisionamento de íons capilares inter e intrafibrilares em espaços de rede de polissacarídeos estruturais (VOLESKY & HOLAN, 1995).

2.9. Entorno Químico na Adsorção de Metais

A remoção de metais pesados de efluentes líquidos ocorre principalmente por troca iônica. No caso das plantas aquáticas, o radical orgânico responsável é o grupo carboxila (R-COO⁻). No meio natural, esse sítio encontra-se ocupado por cátions que existem em maior concentração no ambiente, como H⁺, Na⁺, K⁺, Ca⁺², Mg⁺², Fe⁺². Porém, quando em contato com íons como Cu⁺², Zn⁺², Ni⁺², Cd⁺², Pb⁺², Cr⁺³, existe uma tendência química de ocorrer a substituição dos metais alcalinos e alcalinos terrosos pelos metais de transição (SCHNEIDER et al., 2001).

Existem vários fatores que influenciam a acumulação de metais pesados por plantas aquáticas, tais como: qualidade da alimentação e disponibilidade de alimento (GORBI et al, 2002), temperatura da água e comprimento da cadeia alimentar (BOUDOU & RIBEIRE, 1989), relação superfície-volume (KOIVISTO et al, 1992), tempo de exposição e concentração do metal na água (BORGSMANN et al, 1993), condições físico-químicas do ambiente, estágio fisiológico e desenvolvimento do

organismo (RAINBOW & WHITE, 1989), e estratégias de acumulação de metais particulares de cada espécie (RAINBOW & WHITE, 1989; BORGMANN et al, 1993).

Dessa forma, embora células vivas e mortas sejam capazes de acumular metais, pode haver diferenças nos mecanismos envolvidos em cada caso, dependendo da extensão da dependência metabólica (GADD, 1990).

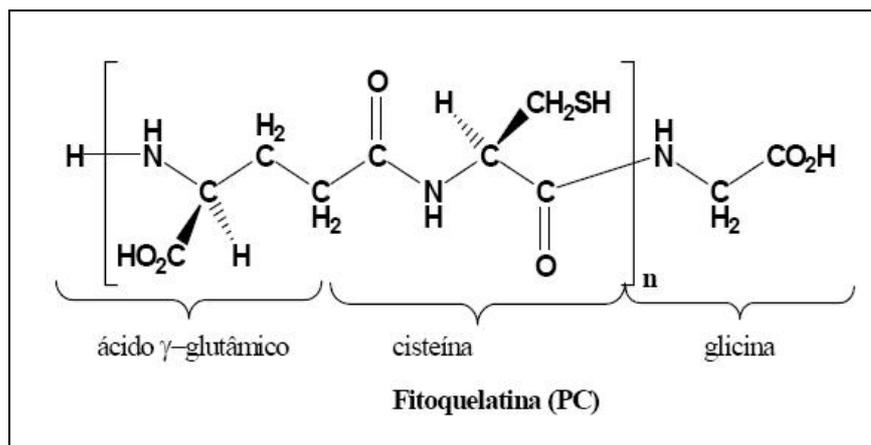
A capacidade de bioacumulação de metais pelas plantas é resultado das interações de vários fatores, tais como: adsorção, absorção, interação com sítios metabólicos, estocagem e eliminação do metal. A importância de cada um desses mecanismos na resposta da planta depende, não só das características biológicas, mas também das condições ambientais (VALITUTTO, 2004).

A absorção de metais pelas células, particularmente pelas raízes, é facilitada por mecanismos próprios de transporte e acumulação, pois vários metais são necessários às plantas como micronutrientes. No entanto, a planta não pode evitar a entrada de elementos tóxicos pelos mesmos mecanismos (LARCHER, 2000).

Os metais conseguem penetrar nas células por sistemas de transporte como difusão e osmose (HAIDER et al., 1983).

O mecanismo de passagem dos metais da membrana plasmática das células das plantas ocorre por meio da formação de complexos entre íons metálicos e ligantes biológicos (fitoquelatinas e ácidos orgânicos) presentes nos organismos que conseguem capturar e acumular metais essenciais e tóxicos (VALITUTTO, 2004).

As proteínas são as responsáveis pelas ligações de vários metais em plantas (REDDY & PRASAD, 1989). Essas proteínas têm sido isoladas e caracterizadas em vários organismos, sendo encontrado três principais aminoácidos – ácido glutâmico, cisteína e glicina, que formam peptídeos com estrutura geral $(\gamma\text{-glutamil-cisteinil})_n\text{-glicina}$, onde n pode variar de 2 até 11, são chamados de fitoquelatinas (Figura 2.5). A cisteína é um aminoácido que possui grupos sulfidril (SH), que têm alta afinidade pelos metais, o que confere as fitoquelatinas a capacidade de ligarem-se aos íons metálicos, formando complexos e, detoxificando as células pela diminuição dos íons livres no citoplasma (HAIDER et al., 1983; GRILL et al., 1985; SOLTAN et al., 1992; MAITANI et al., 1996).



Fonte: VALITUTTO, 2004.

Figura 2.5 - Estrutura da fitoquelatina.

As plantas são capazes de produzir alguns ácidos orgânicos de baixo peso molecular, tais como os ácidos málico e cítrico, que também são quelantes de íons metálicos, pois formam complexos com os mesmos, que por sua vez, são compartimentalizados no vacúolo das células (TAIZ & ZEIGER, 1998; CLEMENS, 2000).

2.10. Remoção de Íons Cromo por Macrófitas Aquáticas

A remoção de cromo utilizando macrófitas aquáticas tem sido amplamente estudada. As plantas removem os metais do corpo de água pela adsorção superficial e/ou pela absorção e os incorporam dentro de seu sistema ou os armazenam numa forma química. As macrófitas aquáticas *Eichornia Crassipes* (aguapé), *Pistia stratiotes* (alface d'água) e *Salvinia auriculata* (orelha de rato) tem sido recentemente estudadas pela sua cinética de adsorção dos íons de cromo (III) e cromo (VI) presentes numa solução nutritiva (ESPINOZA-QUIÑONES et al., 2006).

A redução do Cr(VI) pode ser executada abioticamente pelas reações com íons aquáticos, pela transferência de elétron na superfície do metal, pela redução com substâncias húmicas e outros organismos moleculares, e também pelo tecido da planta liofilizado (MIKALSEN et al., 1991).

A capacidade de bioacumulação dos metais Zn, Co, Cr, Ni, Cu e Fe na raiz e na parte aérea da *Eichornia crassipes* foi estudada. Os resultados obtidos

mostraram níveis mais altos dos metais nas raízes, com exceção do Níquel, que apresentou níveis semelhantes nas duas partes (ZARANYIKA *et al.*, 1994).

Schneider, 1995, propôs a utilização das partes secas da *Eicchornia crassipes* como sorventes de baixo custo para remoção de metal pesado proveniente da contaminação química de indústrias de mineração. A raiz foi o compartimento que apresentou maior taxa de acúmulo de íons de metais pesados divalentes, e o conjunto da biomassa foi considerado um bom sorvente para Zn, Cu, Cd e Pb.

A planta *Potamogeton pectinatus* detoxificou altas concentrações de manganês acumulado quando absorveu, pelas raízes, Mn(II) aquoso e o oxidou a um óxido de manganês(III) não tóxico nos tecidos e folhas (LYTLE *et al.*, 1995; LYTLE *et al.*, 1996).

Em um estudo de Salt *et al.*, 1997, foi demonstrado que o cádmio, na seiva xilema do *B. juncea* foi quelado pelo oxigênio (presente nos ácidos orgânicos) e ligantes sulfúricos (fitoquelantes) no transporte, acumulação e detoxificação de cádmio.

No trabalho de Lytle *et al.*, 1998, verificou-se que houve redução de Cr(VI) para Cr(III), e que a mesma ocorreu nas raízes finas laterais da *Eicchornia crassipes*. Somente Cr(III) foi encontrado no interior da planta, tanto na raiz quanto na parte aérea. Além disso, o número de coordenação do Cr(III) dentro da planta foi seis (6), indicando apenas ligações do tipo Cr-O. Também foi observado que o Cr(III) era translocado para o interior da planta ligado à ácidos orgânicos; e nas raízes, o cromo foi encontrado na forma de íons Cr(III) hidratados.

Em outro estudo, Zayed *et al.*, 1998, demonstraram o acúmulo e translocação dentro das culturas hortícolas. Eles investigaram diferentes espécies de plantas, e em todas elas, a biorredução de Cr(VI) para Cr(III) foi observada. Mais especificamente, todas as plantas foram capazes de converter ou reduzir CrO_4^{2-} , que é tóxica, à espécies não tóxicas de Cr(III). Eles também mostraram que a redução do metal não acontece no meio hidropônico, sugerindo que a mesma aconteça dentro da planta.

As espécies de plantas aquáticas como *Nelumbo nucifera* Gaertn e *Nymphaea Alba* L. têm capacidade de acumular cromo em meio aquoso. Em condições experimentais, estas espécies acumularam mais de 3000mg de cromo por

quilograma de tecido. E concluíram que esse metal é muito tóxico para as plantas (VAJPAYEE et al., 1999; VAJPAYEE et al., 2000).

Klumpp et al., 2002, analisaram amostras de águas do Rio Cachoeira (Sul da Bahia), onde havia sido utilizado fungicida contendo cobre nas plantações de cacau. Para tanto usaram a *Eicchornia crassipes* como bioindicador. Nas amostras foram determinadas concentrações de cobre, alumínio, cromo, nitrogênio e fósforo. E o maior acúmulo foi observado nas raízes da macrófita.

A sobrevivência e o comportamento de um grupo de plantas em diversas concentrações de metais pesados foram observados por *Soltan et al.*, (2003). Entre estas plantas estava a *Eicchornia crassipes*, e os metais estudados foram: Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn. Os resultados mostraram que esta planta pode sobreviver em uma mistura de metais pesados em concentrações de até 3 mgL^{-1} , ou em soluções que contenham até 100 mgL^{-1} de Pb ou 100 mgL^{-1} de Cd. As plantas também exibiram uma reação de desprotonação durante a remoção do metal, o que foi detectado como resultado da diminuição do pH no meio, sendo explicada através da complexação com aminoácidos, grupos carboxílicos e hidroxílicos de moléculas presentes na mitocôndria da *Eicchornia crassipes*. Esse processo de remoção das espécies químicas por esta planta é feito através das células da membrana via difusão ou osmose (HAIDER et al., 1983) e reflete a introdução da síntese de compostos como metalotioninas ou fitoquelatinas que possuem afinidade específica de ligação com metais pesados.

A mesquita (*Prosopis* spp.), uma espécie de planta do deserto, quando cultivada em meio hidropônico, é capaz de acumular Cr(VI) do meio de cultivo, transformando-o em Cr(III), uma forma menos tóxica, dentro dos tecidos vegetais (ALDRICH et al., 2003). No experimento, as plantas foram cultivadas com Cr(VI) em concentrações de 75 e 125 mgL^{-1} . O acúmulo encontrado nas folhas indicou que a mesquita poderia ser classificada como um hiperacumulador de cromo. Eles também utilizaram espectroscopia de absorção de raios-X (XAS) para investigar os mecanismos de ligação e os ligantes do Cr(VI) nos tecidos da mesquita. Os resultados revelaram que o Cr(VI) é absorvido pelas raízes e sua redução à Cr(III) ocorre nas folhas da planta. Observaram, ainda, que nos tecidos e raízes da plantas cerca de 1-6% do cromo permanecia em seu estado hexavalente. O restante foi encontrado na forma inorgânica trivalente ou ligados à ácidos orgânicos, também na forma trivalente.

Park et al., 2004, mostraram que a biomassa da *Ecklonia sp.* pode reduzir Cr(VI) para Cr(III). A análise por espectroscopia fotoeletrônica de raios-X revelou que o cromo estava ligado à biomassa na forma trivalente. Durante a redução do Cr(VI), alguns dos carbonos orgânicos da biomassa foram oxidados a carbonos inorgânicos (HCO_3^- e CO_2). A taxa de remoção de Cr(VI) aumentou com a diminuição do pH da solução. Porém, eles afirmam que Cr(VI) poderá ser totalmente adsorvido da solução, até mesmo em pH 5,0, desde que o tempo de contato seja suficiente. Eles constataram que apenas 223g da biomassa da alga *Ecklonia* é necessária para a redução de 1 mol de Cr(VI), enquanto 834g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, que é o redutor de Cr(VI) comumente usado é necessário para reduzir a mesma quantidade de Cr(VI).

Park et al., 2005, estudaram a alga *Ecklonia sp.* e verificam que a mesma é capaz de reduzir Cr(VI) para Cr(III). Eles investigaram os mecanismos que regem essa redução. Entre os diversos tratamentos químicos usados, os que apresentaram melhores resultados foram os tratamentos ácidos, para remoção de Cr(VI) na fase aquosa, enquanto solvente orgânico melhorou significativamente a eficiência da remoção de cromo total no equilíbrio. A biomassa foi sujeitada a modificações químicas dos grupos amino e carboxila para analisar seus papéis na remoção do Cr(VI). Os resultados mostraram que a metilação do grupo amino diminuiu significativamente a taxa de remoção do Cr(VI), mas a aminação do grupo carboxila aumentou significativamente a taxa de remoção do Cr(VI). Entretanto, a esterificação do grupo carboxila e carboxilação do grupo amino diminui a taxa de remoção do Cr(VI). Estes resultados indicaram que os aminoácidos e grupos carboxilas fazem parte da remoção do Cr(VI) em fase aquosa.

O acúmulo de Cr(VI) em solução aquosa usando a *Nymphaea spontanea* foi investigado por *Choo et al., (2006)*. Os resultados mostraram que essa planta é capaz de acumular Cr(VI) até o limite de $2,119 \text{ mgL}^{-1}$ de uma solução de 10 mgL^{-1} . As raízes da planta acumularam maior quantidade, seguida pelas folhas e pecíolos. Concluíram também que a maturidade da planta exerce grande influência sobre a remoção e acumulação de Cr(VI), pois as plantas de nove semanas de idade removeram mais Cr(VI), seguidas por aquelas de seis e três semanas de idade.

A remoção de cádmio e cromo pelas macrófitas aquáticas *Pistia stratiotes* e *Salvinia herzogii* foi estudada por *Suñe et al., (2007)*. Eles observaram que o processo de absorção de cromo e cádmio envolve duas fases: uma rápida e outra lenta. A fase rápida de absorção de cádmio é diferente para cada espécie de planta;

já para a absorção de cromo não há diferença entre as espécies. Já a fase lenta é diferente para cada espécie e para cada metal. O processo biológico no qual há a absorção intracelular com a subsequente translocação para as folhas das plantas pode ser o processo principal da adsorção de cádmio pela *Salvinia herzogii*; e adsorção, quelação e troca iônica podem ser o principal processo para adsorção desse metal pela *Pistia stratiotes*. Para adsorção de cromo, o principal processo é a adsorção, quelação e troca iônica para ambas as espécies. Para a fase lenta, os mecanismos são diferentes para cada espécie, provavelmente porque a precipitação de cromo induzida pelas raízes ocorre na *Pistia stratiotes*.

A eficiência da macrófita aquática *Eicchornia crassipes* como bioindicador e alternativa na remoção dos metais pesados tóxicos Cd, Pb e Cr em biofertilizantes de origem suína foi avaliada. As macrófitas foram cultivadas no biofertilizante durante 30 dias. Passado esse período, foram coletadas, separadas em parte aérea e raiz, secas e trituradas. As determinações de Cd, Pb e Cr foram realizadas por digestão nitro-peróxido e técnicas de espectrometria de absorção atômica. Eles concluíram que a *Eicchornia crassipes* é eficiente na remoção de metais pesados tóxicos de biofertilizantes provenientes de dejetos suínos, sendo que as maiores concentrações foram encontradas nas raízes, e não na parte aérea (GONÇALVES JUNIOR et al., 2008).

Foram testadas as potencialidades da biomassa seca da *Eicchornia crassipes*, *Valisneria spiralis* e *Pistia stratiotes* na remoção de metais pesados (Cd, Ni, Zn, Cu, Cr e Pb) em soluções aquosas mono e multicomponentes (VERMA et al., 2008). O pH das soluções era de 6,0. A *Valisneria spiralis* foi a mais eficiente, enquanto a *Eicchornia crassipes* foi a menos eficiente para a remoção de todos os metais. Eles concluíram que a presença de outros íons metálicos não influenciou significativamente a capacidade de sorção da biomassa. Ficou provado que a troca iônica é o principal mecanismo envolvido na remoção dos metais. Não houve diferença significativa na quantidade do metal adsorvido quando comparadas às soluções contendo apenas um metal com aquelas contendo vários metais.

O uso da fitorremediação tem recebido especial atenção quando sua aplicação pode ser realizada *in situ*, por meio de plantas que detoxificam metais através de mecanismos de quelação, redução ou oxidação.

Em vários estudos para redução de cromo hexavalente por plantas (RÖMHELD & MARSNER, 1983; MICERA & DESSI, 1988; LIU et al, 1995;

DUSHENKO et al, 1995), técnicas de extração química foram necessárias, a fim de determinar as espécies de cromo no tecido vegetal, introduzindo provavelmente alterações nos resultados da especificação. No entanto, quando espectroscopia de raios-X é aplicada usando fontes de luz altamente intensas (luz síncrotron), obtêm-se as vantagens de ressaltar transições eletrônicas muito fracas e conseqüentemente, especificar íons de cromo nos tecidos de plantas vivas, como nas macrófitas aquáticas (LYTLE et al., 1998).

3. ESPECTROSCOPIA DE RAIOS-X

Alguns estudos foram realizados e indicaram que certas plantas têm habilidade de reduzir o Cr(VI) para Cr(III) (LYON et al., 1969; RÖMHELD & MARSHNER, 1983; MICERA & DESSÌ, 1988; LIU et al., 1995; DUSHENKOV et al., 1995). Porém, alguns desses estudos foram conduzidos utilizando técnicas de especiação que requereram extração química de materiais da planta antes da determinação da espécie de cromo nos tecidos das mesmas. Entretanto, tais processos de preparação de amostras podem alterar a especiação resultante.

Para minimizar tal problema, pode-se utilizar a espectroscopia de raios-X. A espectroscopia de raios-X tem sido amplamente utilizada em análises elementares como também para estudo da estrutura eletrônica de materiais. Um considerado avanço técnico nas fontes de luz tem produzido dados experimentais que contribuem para um melhor entendimento dos processos de absorção e emissão que ocorrem ao redor das moléculas e sólidos. Os experimentos de absorção abrangem, principalmente, o estudo das estruturas moleculares, enquanto os experimentos de emissão são utilizados para o estudo das estruturas eletrônicas (TIRAO et al., 2006).

Dentre as técnicas analíticas empregadas para determinação do estado de oxidação de metais presentes em amostras de plantas, está a Fluorescência de Raios-X de alta resolução.

3.1. Fluorescência de Raios-X

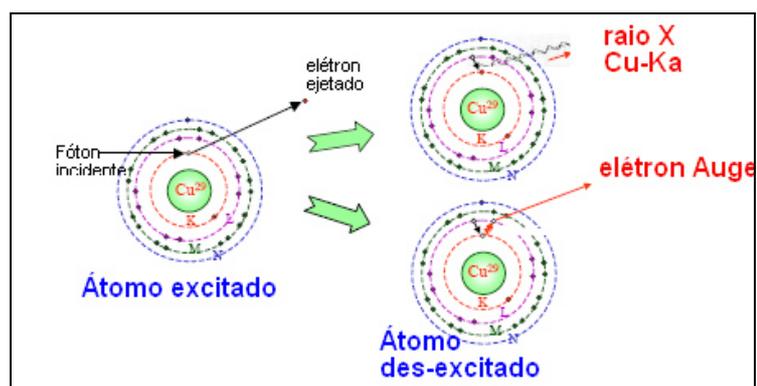
A análise por fluorescência de raios-X é um método quali-quantitativo multielementar baseado na medida das intensidades (número de raios-X detectados pro unidade de tempo) dos raios-X característicos emitidos pelos elementos que constituem a amostra, quando excitada por partículas como elétrons, prótons ou íons produzidos em aceleradores de partículas ou ondas eletromagnéticas (raios-X e gama emitidos por radionuclídeos), além do processo mais utilizado, que é através de tubos de raios-X (PEREIRA, 1998).

Segundo o postulado de Bohr, as radiações são emitidas somente como

resultado de uma transferência de elétrons entre níveis de energia. Portanto, é necessário ejetar um elétron de um átomo para iniciar o processo de emissão da radiação característica daquele átomo. Sendo assim, a ejeção de elétrons do nível K de átomos para gerar a série espectral K requer que a energia do fóton incidente supere a energia de ligação daqueles elétrons ao núcleo.

As energias de ligação são freqüentemente chamadas de energia crítica de excitação, visto que elas representam a energia mínima que deve ser igualada ou excedida para ejetar elétrons de um átomo, deixando assim, o átomo em um estado instável, necessário para iniciar o processo que permite a emissão do raio-X característico (PEREIRA, 1998).

Em processos de absorção fotoelétrica (Figura 3.1), um fóton é completamente absorvido pelo átomo e um elétron da camada interna é ejetado. Parte da energia do fóton é usada para vencer o potencial de ligação do elétron e a restante é carregada pelo elétron na forma de energia cinética. Após a interação, o átomo é deixado num estado altamente excitado (realmente um íon), pois uma vacância foi criada em um dos níveis eletrônicos mais internos. No processo de desexcitação do átomo, há dois mecanismos presentes: um radiativo e outro não radiativo que possibilitam que o átomo, quase imediatamente, volte a sua configuração eletrônica mais estável. Esses mecanismos são conhecidos como Auger (processo não radiativo) e Fluorescente (processo radiativo).

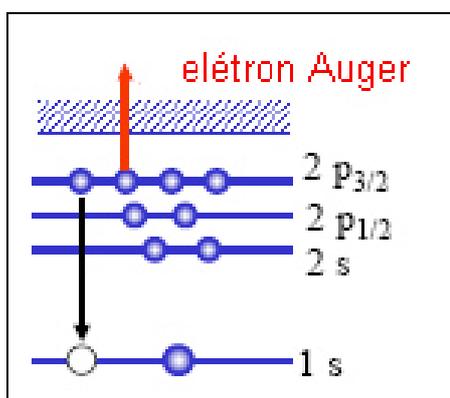


Fonte: DALBA, 1999-2000.

Figura 3.1 – Excitação e des-excitação atômica.

3.1.1. Mecanismo Auger

O mecanismo Auger (Figura 3.2) é o processo não radiativo pelo qual dois elétrons atômicos são ejetados sem que haja emissão de radiação. A energia de des-excitação do átomo é imediatamente absorvida através do mecanismo de conversão interna, onde outro elétron é ejetado espontaneamente. A probabilidade de produção de elétrons Auger é aumentada quando a diferença de energia entre os estados das camadas diminui.

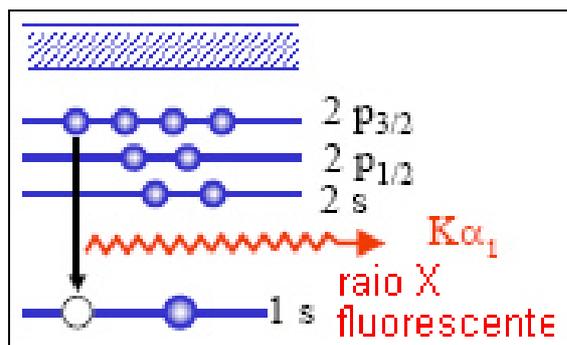


Fonte: DALBA, 1999-2000.

Figura 3.2 - Processo Auger.

3.1.2. Mecanismo Fluorescente

Quando certa radiação, muito energética (raios-X, raios gama, elétrons, prótons) colide com átomos, a sua energia é absorvida para ejetar elétrons das camadas mais internas, ionizando o átomo. No processo de des-excitação, é emitido fóton de raio-X característico devido à transição de elétrons entre os orbitais atômicos de estados de baixo para alto potencial de ligação, como mostrado na Figura 3.3. Esse processo é conhecido como Fluorescência.



Fonte: DALBA, 1999-2000.

Figura 3.3 - Fluorescência de raios-X.

Na des-excitação atômica, há competição entre o processo radiativo (Fluorescência) e o não radiativo (Auger). A produção de raios-X característicos ou de elétrons Auger é governada pelos rendimentos Fluorescente ou Auger, respectivamente. Evidências experimentais mostram que o rendimento de Fluorescência, calculado pela Equação 3.1, é dependente do número atômico do elemento, bem como da série da linha espectral.

$$\omega_F = \frac{Z^4}{A + Z^4} \quad \text{com} \quad A = \begin{cases} 10^4 & \text{serie - K} \\ 10^8 & \text{serie - L} \end{cases}$$

Equação 3.1 - Rendimento fluorescente para as séries K e L.

3.2. Produção de Radiação Síncrotron

Os raios-X podem ser produzidos por várias fontes baseadas na aceleração de cargas elétricas de forma tangencial, no caso de tubos de raios-X; ou de forma centrípeta, no caso da radiação síncrotron; ou na excitação de átomos por feixes ionizantes, tais como partículas carregadas (ESPINOZA-QUIÑONES, 2007).

A radiação síncrotron é emitida quando um elétron muito rápido, próximo da velocidade da luz, interage com um campo magnético. Um campo magnético na região por onde viaja o elétron causará ao elétron a mudança de direção exercendo sobre ele uma força (centrípeta) perpendicular tanto à direção em que se move o elétron como à do campo magnético. Este é chamado de *bremsstrahlung* magnético ou radiação síncrotron. Se os elétrons forem energéticos e o campo magnético

intenso, a radiação emitida pode ser na forma de raios-X. Além disso, se o elétron está viajando à velocidades muito próximas à velocidade da luz, a radiação é somente emitida na direção frontal para a qual o elétron se move. O resultado é um feixe altamente intenso, polarizado e muito focalizado de radiação síncrotron (ESPINOZA-QUIÑONES, 2007).

Da eletrodinâmica clássica a potência irradiada (P_{SR}) é proporcional à mudança do momento da partícula, de massa m_0 e carga elétrica e , conforme a Equação 3.2.

$$P_{SR} = \frac{e^2 c}{6\pi\epsilon_0 (m_0 c^2)} \left(\frac{dp}{dt} \right)^2$$

Equação 3.2 - Potência irradiada.

Em máquinas circulares, anel de confinamento de partículas carregadas, existe uma aceleração perpendicular à velocidade das partículas ($v=\beta c$) principalmente nos ímãs dipolares (campo magnético B) com um raio de curvatura ρ ($\rho = \beta\gamma m_0 c / (eB)$). A potência total de N partículas confinadas, com $\gamma = E/m_0 c^2$, é dada pela Equação 3.3.

$$P_{SR} = \frac{e^2 c \gamma^4}{6\pi\epsilon_0 \rho^2} N$$

Equação 3.3 - Potência total.

Esta expressão é também válida para um anel tendo todos os ímãs da mesma intensidade e seção transversal livre entre eles.

O comprimento de onda desta radiação é uma função da energia das partículas carregadas e da intensidade do campo magnético que curva a trajetória das partículas carregadas. O espectro da radiação é um contínuo e é caracterizado por seu comprimento de onda crítico (λ_c), dado pela Equação 3.4, que divide o espectro em duas partes com igual potência: metade da potência radiada acima do comprimento de onda crítico e a outra metade abaixo dele.

$$\lambda_c = \frac{4\pi}{3} \frac{E_0^3}{cBE^2}$$

Equação 3.4 - Comprimento de onda crítico.

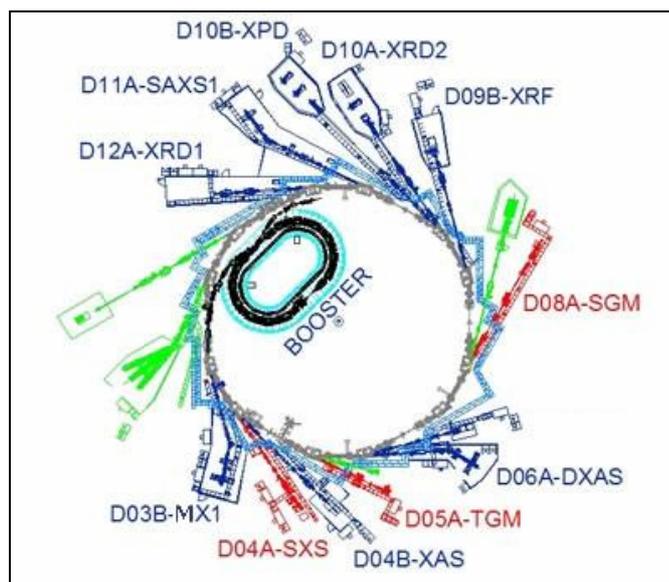
sendo E_0 a energia do elétron em repouso ($E_0 = m_0c^2$), B a intensidade do campo magnético do eletroímã curvado, E a energia do feixe confinado no anel, e c a velocidade da luz.

A Equação 3.4 se reduz à Equação 3.5 quando as partículas carregadas são elétrons.

$$\lambda_c (nm) = \frac{1,864353}{B(T) \cdot [E(GeV)]^2}$$

Equação 3.5 - Cálculo do comprimento de onda crítico para elétrons.

Numa facilidade de luz síncrotron, os elétrons são geralmente acelerados por um canhão de elétrons. Logo os elétrons são injetados dentro de um anel de confinamento no qual circulam produzindo a radiação síncrotron, sem ganhar mais energia (Figura 3.4).



Fonte: www.lnls.br

Figura 3.4 – Facilidades de luz síncrotron no LNSL.

A radiação síncrotron é emitida tangencialmente ao anel de confinamento eletrônico e captada por linhas de luz. As linhas de luz podem se originar nos ímãs que curvam o feixe eletrônico, e estão localizados nos vértices do anel de confinamento. Na seção reta das linhas de luz se inserem os dispositivos de controle (ESPINOZA-QUIÑONES, 2007). A linha de luz D12A, no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, em Campinas, pode ser vista na Figura 3.5.



Figura 3.5 - Linha de Luz D12A, no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron.

A linha de luz inclui dispositivos ópticos de raios-X que controlam a largura da banda, o fluxo de fótons, as dimensões do feixe, o foco, e a colimação do feixe. Os dispositivos ópticos incluem fendas, atenuadores, monocromadores de cristal e espelhos. Os espelhos podem ser curvados para focalizar o feixe. Um alto fluxo de fótons numa pequena área é comumente requerido de uma linha de luz. No final da linha de luz está a sala experimental onde amostras são colocadas na linha do feixe.

3.3. Uso Analítico de Espectroscopia de Raios-X de Alta Resolução (HR-XRF)

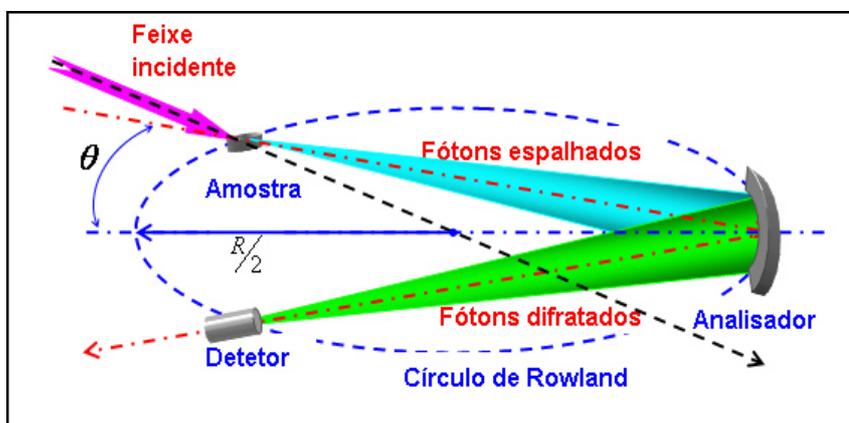
A espectroscopia de espalhamento inelástico de raios-X em regime de energia e baixo momento transferido fornece acesso experimental a efeitos de estado sólido mostrados em espectro de excitação eletrônica. Espectrômetros de raios-X baseados em fonte de radiação síncrotron, que realizam medidas de espalhamento inelástico ressonante e não ressonante de raios-X com alta resolução em energia estão disponíveis. Neste contexto, a espectrometria de espalhamento inelástico de raios-X tem se tornado uma técnica bem estabelecida para o estudo de excitações eletrônicas na matéria condensada (TIRAO et al., 2004).

Análise de alta resolução em energia dos fótons espalhados pode ser feita usando um cristal analisador na geometria de quase-retro-difração. A potencialidade

do retroespalhamento de Bragg por monocristais perfeito para atingir resoluções muito elevadas ($1 \cdot meV$), ao longo de uma grande aceitação angular do cristal foi demonstrado por GRAEFF & MATERLIK (1982).

3.3.1. Espectrometria de Raios-X Inelásticos

A espectrometria de raios-X inelásticos é uma técnica simples. Um feixe de fótons de raios-X bem colimado e monocromático com energia e momento (E_1 e \vec{q}_1) é utilizado para bombardear a amostra. Os fótons espalhados também apresentam energia e momento (E_2 e \vec{q}_2). Estes são selecionados em comprimento de onda de acordo com a lei de Bragg, num arranjo de cristais analisadores posicionado sobre uma superfície esférica (Círculo de Rowland) que cobre um ângulo sólido $d\Omega$. Os fótons difratados são monocromáticos, e são focalizados num detector de alta eficiência, onde são coletados. O esquema de um espectrômetro de espalhamento inelástico de raios-X pode ser visto na Figura 3.6.



Fonte: ESPINOZA-QUIÑONES, 2007.

Figura 3.6 - Esquema do espectrômetro de espalhamento inelástico de raios-X.

O número de fótons espalhados dentro de uma dada energia fornece informação sobre as propriedades intrínsecas dos componentes da amostra. Devido à baixa seção de choque de espalhamento inelástico, somente uma pequena porção dos feixes incidentes é espalhada. Portanto, o experimento baseado no espalhamento inelástico de fótons de raios-X precisa de um feixe incidente intenso e brilhante; um analisador que permita selecionar uma dada energia e focalizar toda a

radiação difratada num detector, e realizar a análise em energia dos fótons espalhados, variando o ângulo de incidência do feixe espalhado sobre o analisador e a focalização no detector.

3.3.2. Geometria do Espectrômetro

A análise em energia dos fótons de raios-X espalhados pela amostra é realizada por meio de um espectrômetro que consiste de um cristal analisador operando em quase-retro-difração, num arranjo do tipo Johann, como mostrado na Figura 3.7.

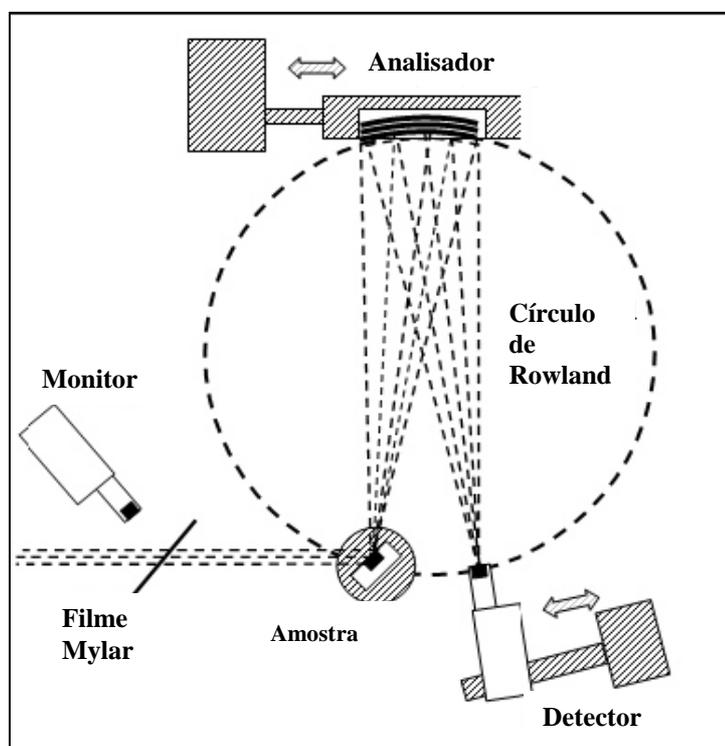


Figura 3.7 - Geometria do espectrômetro de fluorescência de raios-X de alta resolução.

Com o intuito de manter a correta relação geométrica entre a amostra, o cristal analisador e o detector para uns amplos ângulos difratados, são necessários colocar todos os três no círculo de Rowland.

O círculo de Rowland é um arranjo côncavo de uma rede de difração que pode ser utilizada na realização de experimento de espectroscopia de difração. No processo de selecionar um determinado comprimento de onda através da lei de

Bragg, faz-se necessário minimizar os efeitos de perda de resolução, e de intensidade do feixe monocromático. A geometria de Rowland serve como um meio de capturar uma enorme porção do ângulo sólido sem perda de resolução em energia. Este círculo identifica as corretas posições da fonte do feixe espalhado (amostra) e do detector da radiação difratada.

3.3.3. Feixe de Raios-X Monocromáticos

No Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), em Campinas – SP, na linha de luz D12A existe a câmara XRD1 onde se realizam experimentos de espectroscopia de raios-X espalhados inelasticamente por um processo fluorescente na amostra.

A fonte de raios-X é extraída do ímã D12 de 1,67 T do anel de confinamento de 1,37 GeV do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron. A energia crítica do espectro de radiação síncrotron é de 2,08 keV. A injeção da corrente do feixe de elétrons é da ordem de 120 mA e o tempo de vida do feixe é da ordem de 12 horas (ESPINOZA-QUIÑONES, 2007).

Depois da saída da radiação síncrotron, tem-se um espelho de raios-X com focalização vertical, feito de vidro revestido com Ródio, de 750 mm de comprimento e 100 mm de largura. O espelho tem a função de coletar toda a divergência angular vertical do feixe de luz síncrotron (0,32 mrad para fótons de 6 keV) e opera na configuração de feixe paralelo. Este dispositivo permite diminuir a divergência dos raios-X que chegam até a amostra e, portanto, melhorar a resolução em energia do espectrômetro.

Em seguida, o feixe de raios-X da luz síncrotron é monocromatizado por meio de um monocromador de cristal duplo de Si(111), em montagem não dispersiva. A orientação do monocromador foi escolhida de modo a selecionar a energia próxima a 6,100 keV, acima da borda de absorção da camada K do cromo (5989 eV). O primeiro cristal é planar e montado sobre um bloco de cobre resfriado por água com o intuito de remover a carga térmica. O segundo cristal é cilíndricamente curvado com o intuito de focalizar o feixe monocromático sobre a amostra. O tamanho horizontal do feixe focalizado na amostra é de aproximadamente 2,5 mm (ESPINOZA-QUIÑONES, 2007).

3.3.4. Analisador Esférico

Para se obter a melhor focalização de uma radiação, pode utilizar um arranjo esférico composto de um grande número de pequenos cristais monocromadores planos, cuja distância focal é igual ao dobro do raio do círculo de Rowland. O analisador consiste de um arranjo de pequenos mono cristais de Si(111), colocados sobre uma superfície esférica com raio de curvatura de 421 mm. O diâmetro do círculo de Rowland corresponde ao raio de curvatura do analisador. A grande área efetiva do analisador (8,5 cm de diâmetro) permite coletar radiação espalhada num ângulo sólido de até 32 msr. O analisador é montado sobre um suporte que o movimenta por meio de um motor a passos, que permite um alinhamento angular fino do analisador e, portanto, um preciso posicionamento do feixe focado na janela de entrada do detector. O suporte do analisador e o motor a passos estão sobre uma mesa goniométrica vertical, onde são também colocados o porta-amostra e o sistema de detecção. O analisador opera na reflexão dos planos (333) do Silício e está posicionado no ângulo de Bragg de 89,2°. Dessa forma, analisa a radiação de 5932,6 eV (TIRAO et al., 2004).

3.3.5. Resolução na Óptica de Bragg

Quando uma série de ondas paralelas que estão em fase colide com um sólido cristalino, o comprimento de onda que emerge pode ser obtido pela Lei de Bragg, descrita pela Equação 3.6:

$$2d \cdot \text{sen}(\theta) = n \cdot \lambda$$

Equação 3.6 - Lei de Bragg.

sendo, θ o ângulo de Bragg, λ o comprimento de onda, n a ordem de difração, e d o espaçamento entre planos no cristal.

A Equação 3.7 descreve a energia de um fóton, que é quando a radiação eletromagnética se comporta como uma partícula.

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = \frac{1,2398 \cdot keV \cdot nm}{\lambda(nm)}$$

Equação 3.7 - Energia de um fóton.

sendo h a constante de Planck ($h = 4,1357 \times 10^{-18} keV \cdot s$); c a velocidade da luz ($c = 0,29979 \times 10^{18} nm/s$); e λ o comprimento de onda (em nm).

Na Equação 3.7, tem-se a relação entre a energia da radiação e o seu respectivo comprimento de onda.

Logo, se o instrumental de HR-XRF (Fluorescência de raios X de alta resolução em energia) permite fazer pequenas varreduras angulares no analisador ($\Delta\theta$), conseqüentemente, pela lei de Bragg (Equação 3) resulta numa variação em energia (ΔE) da radiação difratada. No detector, a radiação é absorvida e convertida em sinal elétrico que, logo depois, através do multicanal, cada posição do analisador é registrada em canais, conformando assim um espectro de XRF. No espectro HR-XRF, as linhas espectrais características do elemento de interesse na amostra podem estar bem resolvidas ou não; isto é, os picos (gaussianos ou lorentzianos) com certa largura em energia, muito próximos entre si, aparecem no espectro bem separados energeticamente ou não. Esse poder de separação de picos espectrais é conhecido como o poder de resolução do instrumental. Este poder de resolução do instrumental depende basicamente da geometria do sistema óptico e das leis físicas que governam os processos de espalhamento ou difração no instrumental. A partir das diferenciações da Equação 3.4 e da Equação 3.5, pode-se deduzir o poder de resolução do analisador expresso pela Equação 3.8.

$$\left| \frac{dE}{E} \right| = \left| \frac{d\lambda}{\lambda} \right| = \cot(\theta) \cdot d\theta$$

Equação 3.8 - Resolução do analisador no processo de difração de raios-X.

sendo $d\theta$ a quantidade mínima de avanço angular do analisador na seleção da energia E ou comprimento de onda λ ; dE a incerteza em energia acarretada pelo movimento angular do analisador; e $d\lambda$ a incerteza em comprimento de onda.

Para ângulos de incidência dos raios-X, relativo à superfície do analisador, muito próximos de 90° , a resolução do analisador se torna ótima, permitindo identificar e quantificar facilmente linhas espectrais com diferença em energia muito

próximas daquelas dada pela resolução do instrumental. Portanto, na condição de retro-difração de Bragg, os experimentos de HR-XRF com radiação síncrotron possuem alta resolução em energia.

3.4. Regras de Seleção

A radiação característica surge quando há um rearranjo dos elétrons nos orbitais de um elemento metálico sempre que um ou mais elétrons são ejetados no processo de excitação. Existe um grande número de possibilidades de transições eletrônicas, especialmente quando se consideram os vários estados quantizados que cada elétron pode ter. Porém, essas transições devem obedecer às regras de seleção. Para que possam ocorrer, as transições eletrônicas devem ter $\Delta n \geq 1$, $\Delta l = \pm 1$ e $\Delta J = 0$ ou 1 , onde n é o número quântico principal, l é o número quântico angular, e J o vetor soma dos números quânticos angular e spin.

Os nomes dos estados eletrônicos são uma condensação das informações dos níveis quânticos. Por exemplo, quando $l = 0$, o estado é chamado de s; quando $l = 1$, é chamado de p; quando $l = 2$, é chamado de d; quando $l = 3$, é chamado de f; e assim por diante.

O J , que é a soma do número quântico angular e o spin ($J = l + s$), determina o número de estados eletrônicos degenerados para cada nível de energia. Por exemplo, quando $l = 1$ e $J = \frac{1}{2}$, os dois estados resultantes são chamados de $p_{\frac{1}{2}}$; quando $l = 1$ e $J = \frac{3}{2}$, os quatro estados resultantes são denominados de $p_{\frac{3}{2}}$.

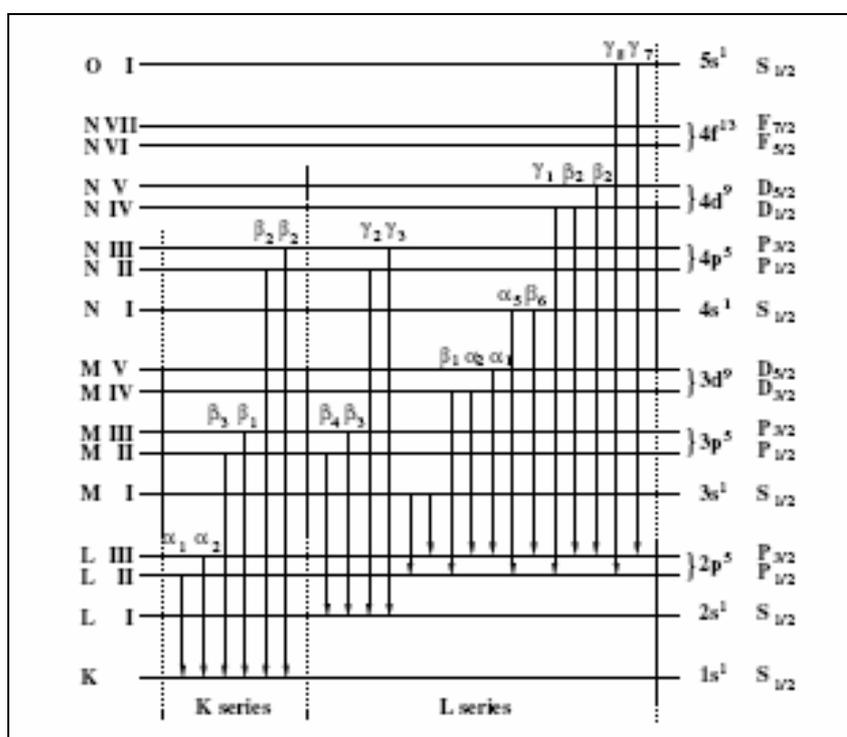
A Tabela 3.1 mostra a construção dos grupos de transição, e apresenta também o número de elétrons permitido em cada grupo.

A multiplicidade $(2J + 1)$ significa o número de elétrons permitido em cada grupo. A Figura 3.8 apresenta um diagrama esquemático das principais linhas de emissão de raios-X nas séries K e L.

Tabela 3.1 - Construção dos grupos de transição e número de elétrons em cada estado.

Grupo	l	s	J	Multiplicidade
K	0	+1/2	1/2	2
L _I	0	-1/2	1/2	2
L _{II}	1	-1/2	1/2	2
L _{III}	1	+1/2	3/2	4
M _I	0	+1/2	1/2	2
M _{II}	1	-1/2	1/2	2
M _{III}	1	+1/2	3/2	4
M _{IV}	2	-1/2	3/2	4
M _V	2	+1/2	5/2	6
N _I	0	+1/2	1/2	2
N _{II}	1	-1/2	1/2	2
N _{III}	1	+1/2	3/2	4
N _{IV}	2	-1/2	3/2	4
N _V	2	+1/2	5/2	6
O _I	3	-1/2	5/2	6
O _{II}	3	+1/2	7/2	8

Fonte: JENKINS et al., 1996.



Fonte: KÜPPER, 2005.

Figura 3.8 – Diagrama das linhas espectrais das séries K e L.

Várias linhas espectrais são produzidas pelas diferentes transições eletrônicas. Por exemplo, quando um elétron da camada K é ejetado, um elétron de

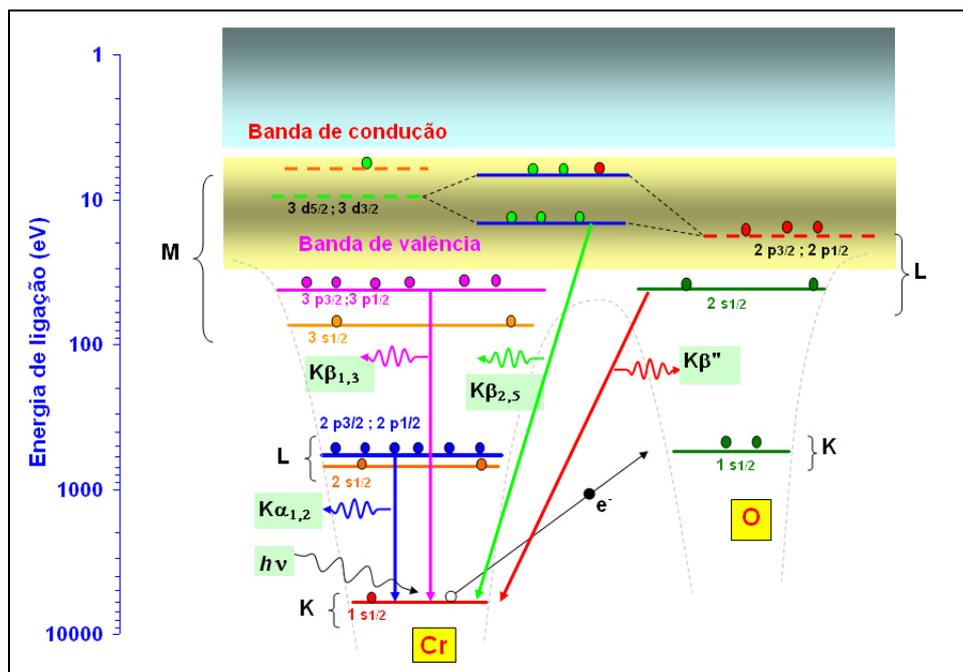
uma camada mais externa (L, M, N,...) poderá ocupar essa vacância produzindo uma série de linhas de emissão de raios-X denominadas $K\alpha$, $K\beta$, $K\gamma$. Se esse elétron for proveniente da camada L, que consiste em três níveis de energia (I, II e III), ele só poderá ser um elétron do nível II ou III (respeitando as regras de seleção) produzindo as linhas $K\alpha$. Se os elétrons forem provenientes da camada M, as linhas espectrais são chamadas de $K\beta$; e assim sucessivamente.

3.5. Linhas de Emissão do Cromo

No estado fundamental, o cromo metálico apresenta a seguinte configuração eletrônica: $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^5 4s^1$, onde os orbitais 3d possuem 5 elétrons desemparelhados. A excitação de tais elementos de transição pela ejeção de elétrons da camada 1s provoca transições eletrônicas das camadas 2p, 3p e 3d à camada 1s, com emissão de raios-X fluorescentes, cujas energias são dependentes do número atômico do metal. Quando se tem íons de cromo, as energias dos níveis eletrônicos sofrem modificações pela presença do ligante, resultando em algumas transições eletrônicas com emissão de raios-X cuja energia depende do estado de oxidação do metal e também de seu ligante.

As transições mais internas dão origem às linhas espectrais $K\alpha$. Elas aparecem quando elétrons da camada L passam a ocupar a vacância na camada K. Essa linha espectral é chamada de $K\alpha_{1,2}$ ($2p_{3/2} \rightarrow 1s_{1/2}$ ou $2p_{1/2} \rightarrow 1s_{1/2}$).

A linha espectral $K\beta_{1,3}$ corresponde à transição $3p_{3/2} \rightarrow 1s_{1/2}$ ou $3p_{1/2} \rightarrow 1s_{1/2}$. É chamada de linha principal. O efeito do entorno químico faz com que as linhas espectrais: a principal $K\beta_{1,3}$ e as satélites $K\beta''$ e $K\beta_{2,5}$ se desloquem em energia. A energia da linha espectral $K\beta''$ tem informação do tipo de átomo que está ligado ao metal, enquanto que sua intensidade fluorescente está relacionada com o número de átomos ligantes e com a distância entre eles e o metal. Por outro lado, as linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ resultam de transições que preenchem a camada $1s_{1/2}$ a partir dos orbitais 3d e/ou 4p do metal e 2p ou 3p do ligante. Esta estrutura de linha mostra deslocamentos que podem ser usados para caracterizar o estado de oxidação (TIRAO et al., 2004). As linhas espectrais do cromo são apresentadas na Figura 3.9.



Fonte: ESPINOZA-QUIÑONES, 2007.

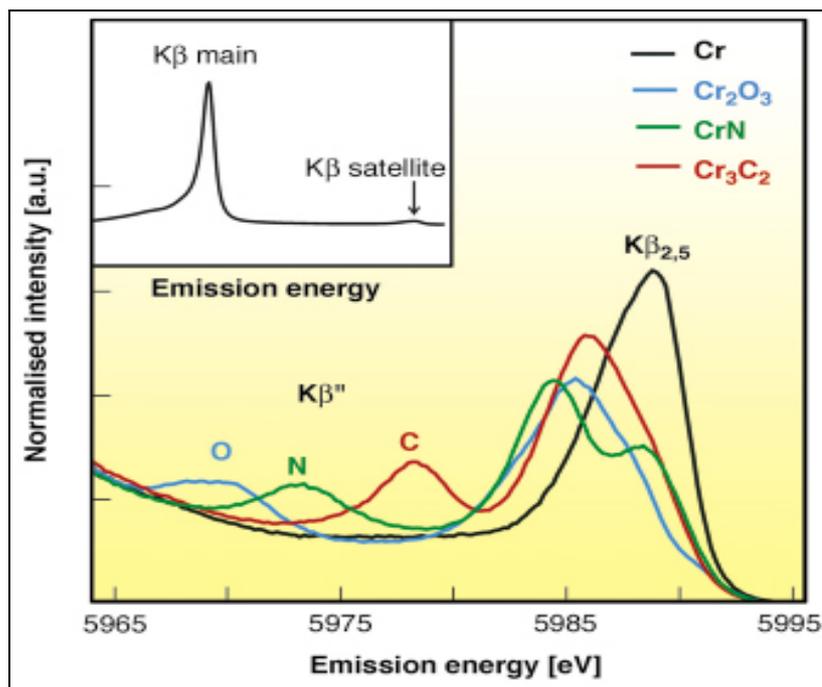
Figura 3.9 – Linhas espectrais $K\alpha_{1,2}$, $K\beta_{1,3}$, $K\beta_{2,5}$ e $K\beta''$ em compostos de cromo.

Porém, determinar o estado de oxidação através da intensidade das linhas espectrais para o cromo não é um trabalho simples, uma vez que há uma mistura de caráter dipolar e quadrupolar nessa transição (BERGMANN et al., 1999).

As linhas espectrais mais intensas são as $K\alpha$. As linhas espectrais $K\beta_{1,3}$ são cerca de 8 vezes menos intensas que as $K\alpha$. Já as linhas $K\beta_{2,5}$ e $K\beta''$ (linhas satélites) são cerca de 50-100 vezes mais fracas que as linhas $K\alpha$ (KORTRIGHT & THOMPSON, 2001).

A espectroscopia de emissão de raios-X da banda de valência ao caroço metálico tem permitido extrair informação na formação de nano materiais, tais como carbeto de cromo nano cristalino (SAFONOV et al., 2006) que por outra técnica não seria acessível.

A Figura 3.10, mostra as linhas satélites do cromo metálico e dos compostos Cr_2O_3 , CrN e Cr_3C_2 , onde pode-se observar que a forma do espectro e, especialmente a posição do pico $K\beta''$, depende do entorno químico do cromo. Há um deslocamento de energia do pico $K\beta''$ dependendo do composto ligado ao cromo.



Fonte: SAFONOV et al., 2006.

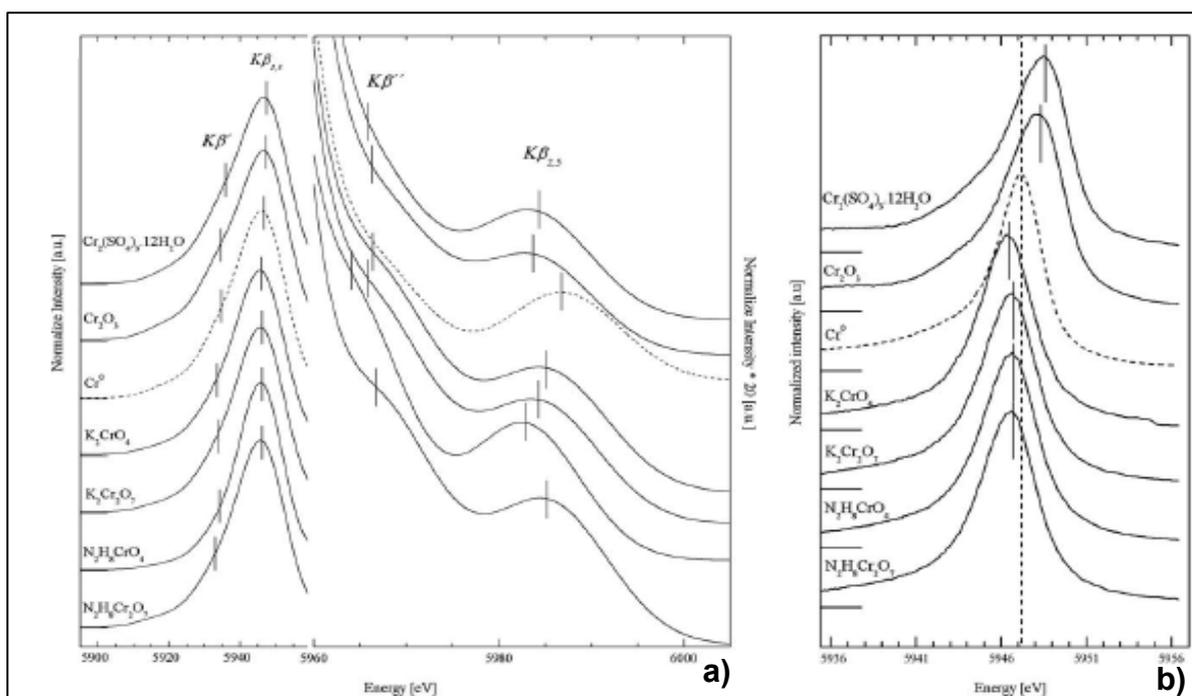
Figura 3.10 - Espectro de emissão de raios-X $K\beta$ em compostos de cromo.

Da Figura 3.10, pode-se observar que todos os compostos apresentam o cromo em seu estado de oxidação trivalente, e o pico $K\beta_{2,5}$ apresenta deslocamento para a esquerda em relação ao mesmo pico do cromo metálico.

Um problema que ainda não foi resolvido é a interpretação quantitativa do espectro $K\beta$. No caso de compostos de cromo, observa-se algumas discrepâncias relativas à mudança da linha $K\beta_{1,3}$ (IIHARA et al. 1993; GAMBLIN & URCH, 2001); bem como a intensidade relativa do pico $K\beta_{2,5}$ (HELSEN & KUCZUMOW, 1992; URSIC et al., 2003).

A simetria dos compostos de cromo varia de acordo com o estado de oxidação do metal. Cromo metálico, cromo trivalente e cromo hexavalente apresentam simetria cúbica, octaédrica (Oh) e tetraédrica (Td), respectivamente (TIRAO et al., 2004).

Tirao et al. (2006) realizaram um estudo sobre a relação entre o estado de oxidação do cromo e a largura, intensidade e transições de energia das linhas $K\beta$ obtidas num espectrômetro de fluorescência de raios-X com alta resolução em energia e também num espectrômetro convencional. Os espectros para os diferentes compostos de cromo podem ser vistos na Figura 3.11.



Fonte: TIRAO et al., 2006.

Figura 3.11 – Espectros de emissão das linhas $K\beta$ para diferentes compostos de Cr obtidas com espectrômetro: (a) comercial e (b) de alta resolução em energia.

Eles observaram que com um espectrômetro convencional não é possível verificar o deslocamento em energia para o pico $K\beta_{2,5}$ que varia de acordo com o estado de oxidação do cromo. Já com um espectrômetro de alta resolução em energia, é possível verificar esses pequenos deslocamentos, pois sua resolução é da ordem de 1,8 eV para a linha $K\beta_{1,3}$.

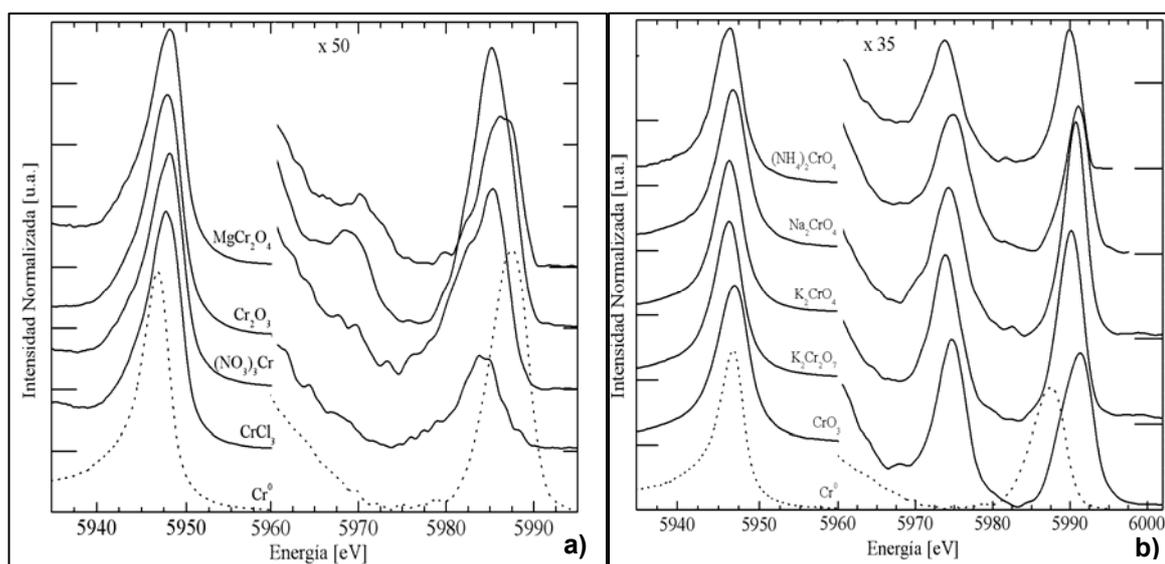
Na Figura 3.12, são apresentados os espectros de emissão $K\beta$ para os compostos de Cr(III) e Cr(VI). A posição e largura da linha principal $K\beta_{1,3}$ também são influenciadas pelo estado de oxidação do metal. A energia desta linha decresce monotonamente quando o estado de oxidação é aumentado (GAMBLIM & URCH, 2001). Já sua largura cresce linearmente com o estado de oxidação (TIRAO, 2006).

Como a energia relativa à linha espectral $K\beta''$ depende do átomo ligante (que na maioria dos compostos estudados trata-se de oxigênio), a área integrada da linha $K\beta''$ varia consideravelmente com a quantidade de átomos de oxigênio. Ao normalizar-se a intensidade da linha $K\beta_{1,3}$ pelo número de oxigênios ligados por átomo de cromo, obtém-se a probabilidade de transição desta linha por pares Cr-O. Em seu estudo, TIRAO et al. (2006) observaram que esta intensidade normalizada decresce exponencialmente como uma função da distância interatômica Cr-O e poderia ser usada para caracterizar a distância de ligação com uma precisão próxima à 10^{-2} Å.

A linha $K\beta_{2,5}$ mostra deslocamento em energia dependendo do estado de oxidação do metal. Na Figura 3.12, pode ser visto claramente sua posição ao redor de 5985 eV para o Cr(III), enquanto que para o Cr(VI) a energia está próxima de 5990 eV, e para o cromo metálico esta linha espectral apresenta energia em 5988 eV (TIRAO et al, 2004).

A variação observada de $\Delta E_{2,5} = EK\beta_{1,3} - EK\beta_{2,5}$ se comporta de acordo com a seguinte relação: $\Delta E_{2,5}(\text{CrIII}) < \Delta E_{2,5}(\text{Cr}^0) < \Delta E_{2,5}(\text{CrVI})$.

Para caracterização dos estados de oxidação em compostos desconhecidos, é mais conveniente utilizar a relação $\Delta E_{2,5}$ pois esta é mais sensível do que aquela onde relaciona-se somente a energia da linha principal (TIRAO et al, 2004).



Fonte: TIRAO et. al., 2004.

Figura 3.12 - Espectros de emissão fluorescente de alta resolução para Cr metálico (...) e compostos (___) correspondentes a simetria (a) octaédrica (CrIII) e (b) tetraédrica (CrVI).

Na tabela 3.2 são apresentados os parâmetros das linhas espectrais $K\beta$ para os compostos de cromo estudados por Tirao e colaboradores utilizando fluorescência de raios-X com alta resolução em energia. Os parâmetros apresentados são posição e largura natural da linha de $K\beta_{1,3}$; probabilidade de transição por pares Cr–O; e energia relativa das linhas $K\beta''$ e $K\beta_{2,5}$, onde $\Delta E_{2,5}$ significa energia relativa a linha $K\beta_{2,5}$ enquanto que $\Delta E_{1,3}$ é relativa a $K\beta_{1,3}$.

Tabela 3.2 - Principais parâmetros obtidos nos diferentes compostos estudados a partir de medidas de fluorescência $K\beta$ de alta resolução.

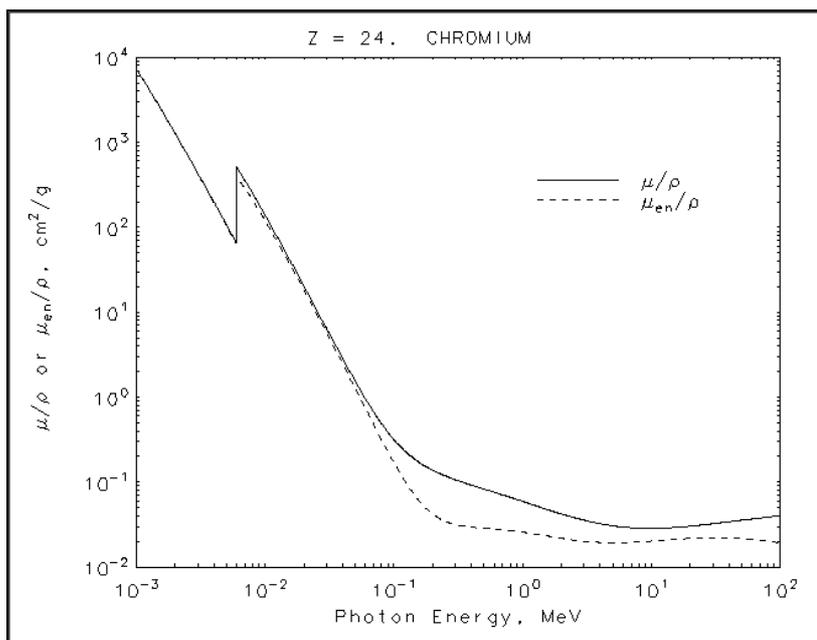
Composto	Linha $K\beta_{1,3}$		Linha $K\beta'$		Linha $K\beta_{2,5}$		
	Posição [eV]	Largura [eV]	ΔE [eV]	Prob. de Trans.(u.a.)	$\Delta E_{2,5}$ [eV]	Prob. de Trans.(u.a.)	
Cr^0	$5946,82 \pm 0,03$	$1,5 \pm 0,2$	--	--	$40,9 \pm 0,1$	--	
	5946,71	--	--	--	--	--	
$CrCl_3$	$5948,08 \pm 0,07$	$1,5 \pm 0,3$	--	--	35 ± 2	--	
$(NO_3)_3Cr$	$5948,12 \pm 0,04$	$2,1 \pm 0,1$	--	--	$35,6 \pm 0,3$	--	
Cr(III)	Cr_2O_3	$5948,07 \pm 0,04$	$1,9 \pm 0,2$	$15,9 \pm 0,4$	$0,0032 \pm 0,0003$	$37,2 \pm 0,3$	$0,040 \pm 0,007$
	$MgCr_2O_4$	$5948,29 \pm 0,06$	$1,5 \pm 0,3$	15 ± 2	$0,0023 \pm 0,0003$	37 ± 1	$0,024 \pm 0,003$
	CrO_3	$5946,99 \pm 0,03$	$3,08 \pm 0,08$	$16,5 \pm 0,1$	$0,064 \pm 0,006$	$44,0 \pm 0,1$	$0,066 \pm 0,006$
	$(NH_4)_2Cr_2O_7$	$5946,36 \pm 0,03$	$2,6 \pm 0,1$	$16,3 \pm 0,2$	$0,059 \pm 0,003$	$43,5 \pm 0,1$	$0,023 \pm 0,004$
Cr(VI)	$K_2Cr_2O_7$	$5946,30 \pm 0,02$	$2,7 \pm 0,6$	$16,3 \pm 0,1$	$0,085 \pm 0,004$	$43,76 \pm 0,06$	$0,034 \pm 0,005$
	K_2CrO_4	$5946,18 \pm 0,04$	$2,5 \pm 0,2$	$16,4 \pm 0,1$	$0,09 \pm 0,01$	$43,90 \pm 0,08$	$0,093 \pm 0,007$
		$5945,03 \pm 0,01$	--	$14,04 \pm 0,02$	--	$42,65 \pm 0,01$	--
	Na_2CrO_4	$5947,03 \pm 0,09$	$2,4 \pm 0,3$	$16,3 \pm 0,1$	$0,09 \pm 0,01$	$44,0 \pm 0,1$	$0,082 \pm 0,009$
$NH_4)_2CrO_4$	$5946,22 \pm 0,02$	$2,8 \pm 0,1$	$16,2 \pm 0,2$	$0,059 \pm 0,008$	$43,68 \pm 0,08$	$0,060 \pm 0,007$	

Fonte: TIRAO et. al., 2004.

Os parâmetros apresentados na Tabela 3.2 mostram uma grande sensibilidade ao estado de oxidação do metal, à relação de átomos de oxigênio por átomo de cromo e a distância da ligação Cr-O.

3.6. Borda de Absorção do Cromo

Quando fótons de raios-X atingem um átomo com energia suficiente, pode ocorrer a ejeção de um elétron de uma camada interna do átomo. Essa energia necessária para ejetar esse fotoelétron é chamada de energia de borda de absorção, e sua intensidade depende do elemento e do elétron que está sendo ejetado (TASCH & DAMIANI, 2000). A probabilidade de um elétron ser ejetado é dada pelo coeficiente de absorção por massa. A Figura 3.13 mostra um gráfico do coeficiente de absorção por massa *versus* a energia dos raios-X para o cromo.



Fonte: (<http://physics.nist.gov/PhysRefData/XrayMassCoef/tab3.html>).

Figura 3.13 – Coeficiente de absorção do cromo por unidade de massa.

O salto brusco ou descontinuidade a 6,0 KeV (HUBBELL & SELTZER, 1996) representa a energia da borda de absorção necessária para ejetar um elétron na camada K do cromo. O aumento da energia resulta em um processo com menor eficiência; e o excesso de energia é convertido em energia cinética para o elétron ejetado (TASCH & DAMIANI, 2000).

Sendo assim, depois da irradiação da amostra com fótons de raios-X com energia maior que 6,0 KeV, alguns dos átomos de cromo da amostra apresentarão vacâncias na camada K. Como isto representa um estado instável, elétrons de outras camadas irão decair, respeitando as regras de seleção, de modo a preencher essa vacância. A energia emitida a partir desta transição será característica do elemento e da transição. Para irradiação com fótons menos energéticos, ocorrerá ejeção de elétrons de camadas mais externas do átomo (TASCH & DAMIANI, 2000).

3.7. Espectroscopia de Absorção Atômica

Espectroscopia de Absorção Atômica (AAS) é uma técnica analítica utilizada para determinação da concentração de elementos metálicos em solução (WELTZ, 1998). Essa técnica pode ser utilizada para analisar a concentração de mais de sessenta e dois tipos de metais em solução.

A técnica utiliza basicamente o princípio de que átomos livres (estado gasoso) gerados em um atomizador são capazes de absorver radiação de frequência específica que é emitida por uma fonte espectral; a quantificação obedece desta forma, os princípios da lei de Beer-Lambert (BORGES et al., 2005).

A Lei de Beer-Lambert é descrita pela Equação 3.9.

$$A = -\log_{10}\left(\frac{I}{I_0}\right) = \varepsilon.c.L$$

Equação 3.9 - Lei de Beer-Lambert.

na qual A é a absorvância; I_0 é a intensidade da radiação incidente; I é a intensidade transmitida pela amostra; L é o caminho óptico da amostra (distância que a radiação percorreu por ela); ε é a constante chamada de absorvidade molar, que é uma grandeza característica da espécie absorvente; e c é a concentração da espécie absorvente (PERKAMPUS, 1992).

Os componentes fundamentais de um espectrômetro de absorção atômica compreendem uma fonte, que fornece as linhas de emissão da espécie atômica interessada; um nebulizador-combustor, para induzir a amostra na forma de um aerossol na chama; um monocromador, para isolar o comprimento de onda desejado, e um sistema apropriado para medir a potência do sinal que alcança o detector fotossensível.

Como o atomizador, geralmente se utiliza uma chama, mas forno de grafite ou plasma também podem ser usados.

Quando o átomo é atomizado, ele passa do estado estável para o excitado, e nessa transição, o mesmo absorve radiação do feixe. O feixe luminoso é gerado por uma lâmpada específica para cada metal. A quantidade de radiação absorvida é medida pelo detector que transmite as informações para um computador, que contém um banco de dados sobre o metal em estudo. Este banco de dados é obtido a partir da construção de uma curva padrão, com soluções padrões de concentração conhecida do metal.

3.8. Espectroscopia Ultravioleta – Visível

A espectroscopia ultravioleta-visível é uma técnica bastante utilizada em análises quantitativas de concentrações de substâncias em soluções. Essa técnica também é fundamentada na Lei de Beer-Lambert (Equação 3.7), que é a base matemática para medidas de absorção de radiação por amostras no estado líquido, sólido ou gasoso nas regiões ultravioleta, visível e infravermelho do espectro eletromagnético.

A espectroscopia na região UV-VIS do espectro eletromagnético é uma das técnicas analíticas mais empregadas, em função de robustez, custo relativamente baixo e grande número de aplicações desenvolvidas (LOBINSKI & MARCZENKO, 1992). Os procedimentos envolvem medidas diretas de espécies que absorvem radiação, medidas após derivação química e acoplamento a diversas técnicas ou processos, como cromatografia, eletroforese e análises em fluxo. Além disso, constitui-se em uma importante ferramenta para determinação de parâmetros físico-químicos, tais como constantes de equilíbrio e de velocidade de reações (ROCHA & TEIXEIRA, 2004).

Para se obter informação sobre a absorção de uma amostra, esta é inserida no caminho óptico do aparelho, e passa-se pela mesma uma radiação ultravioleta (UV) e/ou visível em um certo comprimento de onda. O espectrômetro mede o quanto dessa radiação foi absorvida pela amostra. A intensidade da radiação antes da passagem pela amostra é representada por I_0 , e após a passagem é representada por I . A transmitância da amostra é definida pela Equação 3.10.

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Equação 3.10 - Transmitância da amostra.

A partir dessa informação, a absorbância da amostra é determinada para esse comprimento de onda. Para se ter uma relação entre a absorbância e a concentração da solução, é construída uma curva padrão com soluções de concentração conhecida do elemento em análise.

Quando se trata de amostra no estado líquido, utiliza-se uma cela transparente para acomodar a amostra e inseri-la no porta-amostras por onde irá

passar a radiação. É muito importante que o material da cela não absorva radiação na faixa de comprimento de onda utilizada. Para espectroscopia apenas na região do visível, essas celas podem ser de vidro, porém, a espectroscopia na região ultravioleta requer celas especiais, como o quartzo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Solução de Cultivo das Plantas

Os micro e macronutrientes necessários para o crescimento e desenvolvimento das macrófitas aquáticas flutuantes *Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes* foram os correspondentes ao cultivo hidropônico de plantas (CLARK, 1975). A composição dos micronutrientes é apresentada na Tabela 4.1, e a dos macronutrientes na Tabela 4.2.

Tabela 4.1 - Micronutrientes e suas concentrações na solução de Clark.

Composto	Fórmula	(M)	Massa Mol. (g/mol)	Concentração (Clark)		
				(mL/L)	m-mol/L	mg/L
Acido bórico	H ₃ BO ₃	19	61,83	1	19	1174,77
Sulfato de Zinco	ZnSO ₄ .7H ₂ O	2	287,54	1	2	575,08
Molibdato de amônia	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.086	1235,86	1	0,086	106,28
Sulfato de Cobre	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.5	249,68	1	0,5	124,84
Cloreto de Manganês	MnCl ₂ .4H ₂ O	7	197,91	1	7	1385,37
Cloreto de Ferro	FeCl ₃	40	270,3	-	-	27030,00

Fonte: CLARK, 1975.

Tabela 4.2 - Macronutrientes e suas concentrações na solução de Clark.

Composto	Fórmula	(M)	Massa Mol. (g/mol)	Concentração (Clark)		
				(mL/L)	m-mol/L	mg/L
Nitrato de Cálcio	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	1	236,15	2,53	2,53	597,46
Nitrato de Potássio	KNO ₃	1	101,11	1,3	1,3	131,44
Cloreto de Potássio	KCl	1	74,56	0,5	0,5	37,28
Nitrato de Amônio	NH ₄ NO ₃	1	80,04	0,9	0,9	72,04
Sulfato de Magnésio	MgSO ₄ .7H ₂ O	1	246,48	0,6	0,6	147,88
Ortofosfato de Cálcio	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .H ₂ O	0,023	252	1,5	0,0345	8,59

Fonte: CLARK, 1975.

A partir de óxido de cromo (CrO_3 , massa molar de $99,993 \text{ g mol}^{-1}$) e de nitrato de cromo ($\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, peso molecular de $400,143 \text{ g mol}^{-1}$), foram preparadas soluções padrões de 1 g L^{-1} de Cr(III) e Cr(VI).

4.2. Estado de Oxidação do Cromo na Solução Hidropônica

Para a caracterização do estado de oxidação do cromo na solução de cultivo das macrófitas, foram utilizadas as técnicas de Espectroscopia de Absorção Atômica e Espectrofotometria na região do Ultravioleta/Visível.

Para tanto, foi necessária a construção de uma curva padrão de Cr(III) complexado com EDTA. Foi pesado em balança analítica $5,0004 \text{ g}$ de EDTA e adicionado em 50 mL de uma solução de Cr(III). Essa mistura foi levada à fervura durante 5 minutos, para a formação do complexo Cr(III)-EDTA, que tem coloração violeta.

Depois de resfriada, foi completado o volume para 50 mL e a partir dessa solução, foram pipetadas alíquotas para o preparo de soluções de concentração $0,8$; $1,0$; $2,0$; $3,0$; $4,0$; $5,0 \text{ mgL}^{-1}$. Foram feitas as medidas dessas soluções no Espectrômetro de Absorção Atômica com chama de ar/acetileno oxidante (Analítica, modelo AA932-GBC) para a determinação da concentração de cromo total presente na amostra. Essas concentrações foram de $0,547$; $0,687$; $1,384$; $2,221$; $2,969$; $3,813 \text{ mgL}^{-1}$. Posteriormente, foi feita a leitura da absorbância no Espectrômetro UV-VIS (Shimadzu, modelo UV – 1601 PC) com comprimento de onda de 550 nm . Com esses dados, construiu-se a curva padrão para determinação da concentração de cromo na solução de cultivo das macrófitas.

Para análise da influência do pH no estado de oxidação do cromo, variou-se o pH de uma solução hidropônica (CLARK, 1975) contendo $3,0 \text{ mgL}^{-1}$ de íons Cr(VI), obtidos da solução descrita no item 4.1. A variação do pH foi de $3,03$; $3,51$; $4,04$; $4,57$; $5,05$; $5,54$ e $6,11$, e os ajustes foram feitos com soluções de Na(OH) $0,1 \text{ M}$ e HCl $0,1 \text{ M}$. A cada uma dessas soluções foi adicionado EDTA(ácido etilenodiamintetracético) em excesso, para que ocorresse a complexação com os possíveis íons de Cr(III) ali existentes, uma vez que o EDTA só forma complexo com o Cr(III) e não com o Cr(VI). A mistura foi aquecida e depois resfriada à temperatura

ambiente. Fez-se a leitura da absorvância dessas soluções no Espectrômetro UV-VIS com comprimento de onda de 550 nm.

Com as medidas de absorvância dessas soluções e usando a curva padrão, foi possível, determinar a concentração de íons Cr(III) nas soluções analisadas.

Foi realizada a medida no Espectrômetro de Absorção Atômica para a determinação do cromo total presente em cada amostra na qual variou-se o pH. Depois, a concentração de Cr(VI) foi determinada subtraindo a concentração de Cr(III) da concentração de cromo total. Como o pH das soluções de cultivo foi medido no momento da coleta, foi possível predizer em qual estado de oxidação estavam os íons de cromo nas mesmas.

4.3. Experimento de Bioacumulação

O experimento de bioacumulação foi realizado entre os dias 25 de junho a 22 de julho de 2007.

Em recipientes plásticos limpos, com volume máximo de 7 litros, revestidos com sacos plásticos de polietileno, foram colocados 5 litros de água deionizada e solução nutritiva de Clark (descrita na seção 4.1). Como concentração inicial de íons Cr(VI), uma alíquota da solução padrão de óxido de cromo $1,0 \text{ gL}^{-1}$ foi adicionado em nove recipientes de cultivo de cada planta, dos quais seis correspondiam a uma concentração de $3,0 \text{ mgL}^{-1}$, e três deles correspondiam a uma concentração de $5,0 \text{ mgL}^{-1}$. E o mesmo foi feito com a solução padrão de nitrato de cromo (III) nonohidratado $1,0 \text{ gL}^{-1}$, como concentração inicial de íons Cr(III). No experimento, foram utilizadas três réplicas para cada macrófita e tipo de íons cromo, Cr(III) ou Cr(VI). No total, foram utilizados dezoito recipientes plásticos. Somente plantas saudáveis, limpas e aclimatizadas de tamanho uniforme foram selecionadas para o experimento. Aproximadamente 100, 30 e 30 gramas das plantas *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia auriculata*, foram colocadas dentro de cada recipiente, respectivamente.

Como branco do experimento, aproximadamente 500 gramas de cada planta foi armazenada em sacos plásticos e em geladeira para posterior preparação.

Os recipientes contendo as plantas foram colocados em estufa externa, e ali foram mantidos por 27 dias. Durante esse período, foram medidos o pH, a

temperatura e o nível da água de cada recipiente, diariamente. O pH teve um incremento desde o valor inicial de 3,5 até 5,0 durante as quatro semanas em estufa. A temperatura média foi de 25°C. A perda de água através da transpiração, evaporação e manipulação foi compensada efetuando a reposição com água destilada.

A montagem do experimento de bioacumulação de íons cromo, por três espécies de macrófitas aquáticas em estufa externa, é mostrada na Figura 4.1.



Figura 4.1 - Experimento de bioacumulação de Cr(III) e Cr(VI) pelas macrófitas aquáticas *Eicchornia crassipes*, *Pistia stratiotes* *Salvinia auriculata*.

4.4. Coleta das Plantas e Preparo das Amostras

Passados 27 dias, as plantas foram coletadas, lavadas em água de torneira e água destilada, e deixadas em escorredor por cerca de 5 minutos para retirada do excesso de água. Depois disso, foram separadas manualmente as raízes da parte aérea da planta, e cada uma delas foi pesada. Posteriormente, foram

aconditionadas em papel Kraft, em separado, e levadas para secagem em estufa a 80°C por 72 horas. Uma vez completo este procedimento, as amostras foram pesadas para obtenção dos valores em termos de biomassa seca.

Com auxílio de um moinho de pás de aço, as triplicatas foram trituradas juntamente de modo que ao final se obteve apenas uma amostra de raízes e outra de folhas para cada macrófita. Após isto, foram confeccionadas as pastilhas do pó das amostras, onde aproximadamente 100 mg da amostra da planta (raiz ou folha) foi prensada e empastilhada em formato cilíndrico (5 mm de diâmetro e aproximadamente 2 mm de altura). Para cada um dos nove tipos de amostras, foram confeccionadas três réplicas.

Para levantar uma curva de calibração da concentração de cromo no alvo de pó prensado, foram preparadas amostras de calibração, fazendo uma mistura de 90% de matriz de planta (folha seca da *Eicchornia crassipes*) e 10% de uma mistura de óxidos de cromo: Cr₂O₃ e CrO₃ em proporções 3:7, 5:5 e 7:3, respectivamente.

Foram confeccionados também padrões (pastilhas) de calibração usando compostos puros de cromo: Cr₂O₃ e CrO₃ nas seguintes proporções 10:0, 9:1, 7:3, 5:5, 3:7, 1:9 e 0:10, respectivamente e ainda um padrão (pastilha) de cromo metálico.

4.5. Irradiação das Amostras

No Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), na câmara a vácuo do difratômetro da linha experimental D12A, câmara XRD1, foi montado o espectrômetro de raios X com alta resolução em energia, baseado num analisador em quase-retro-difração, como mostrado na Figura 4.2. A linha em vermelho indica a direção do feixe monocromático da linha de luz, a linha em azul a direção dos raios-X espalhados pela amostra, e a linha em roxo a direção dos raios X difratados pelo analisador.

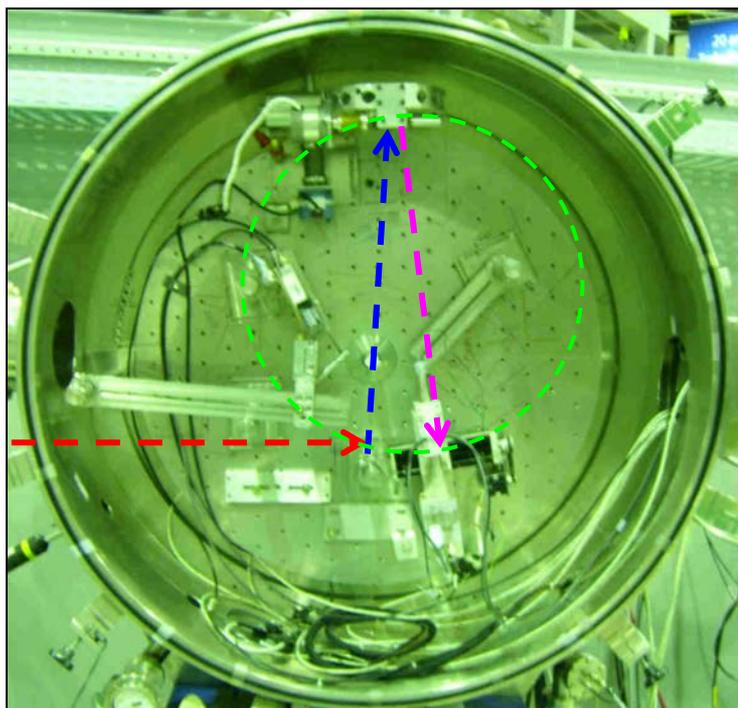


Figura 4.2 – Disposição do conjunto amostra-analisador-detector no círculo de Rowland na câmara XRD1.

Dentro da câmara foram colocados na periferia do círculo de Rowland o porta-amostra (no centro da câmara XRD1), o analisador (parte superior da câmara) e o detector XRT-100CR (AMPTEK). O analisador e o detector foram montados e fixados a motores a passo de modo a se deslocarem em torno do círculo de Rowland, satisfazendo a condição da lei de Bragg em cada posição sobre o círculo.

Todas as amostras (pastilhas) foram fixadas no centro do porta-amostra, como mostrado na Figura 4.3. O porta-amostra era introduzido no orifício específico na haste central da câmara XRD1, como mostrado na Figura 4.4. Neste caso, a linha em roxo indica a direção do feixe monocromático, a linha em amarelo a direção dos raios X espalhados pela amostra, e a linha em verde a direção dos raios X difratados pelo analisador.



Figura 4.3 – Pastilha de amostra no porta-amostra de teflon.

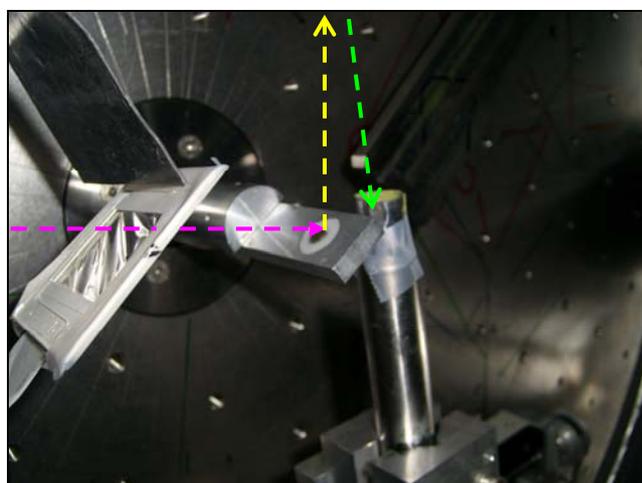


Figura 4.4 – Disposição geométrica do filme de Mylar, porta-amostra e detector no interior da câmara XRD1.

4.6. Espectro de Emissão

A energia do feixe de raios-X monocromático foi previamente selecionada por meio de dispositivos que antecedem à câmara de espalhamento XRD1, na linha de luz D12A. Inicialmente foram feitos testes de focalização entre o analisador e o detector e de posicionamento dos detectores de modo a observar ambas as linhas espectrais $K\beta_{1,3}$ e $K\beta_{2,5}$ do cromo metálico, dos compostos de cromo e das próprias amostras de plantas. O número total de intervalos ou de passos que cobrem o espectro do cromo, contendo as linhas $K\beta_{1,3}$ e $K\beta_{2,5}$, foi ajustado a 100 passos, sendo 30 para fazer a varredura na região do pico $K\beta_{1,3}$ e 70 para a região do pico

$K\beta_{2,5}$. Cada passo do sistema corresponde a uma energia específica do raio-X difratado ou selecionado pelo analisador, de acordo com a lei de Bragg, cujos fótons são registrados pelo detector e visualizados através de um buffer multicanal acoplado à eletrônica padrão, na forma de um espectro de emissão.

Após os testes preliminares, foi selecionado o tempo de 100 segundos em cada posição da configuração amostra-analisador-detector para construir o espectro da região da linha espectral $K\beta_{2,5}$ devido à baixa estatística, enquanto que o tempo foi de 5 segundos para a região do $K\beta_{1,3}$. Cada varredura de um espectro de emissão da amostra foi feita em aproximadamente 2 horas, tempo suficiente para mostrar as linhas espectrais de interesse no espectro das amostras das raízes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Influência do pH no Estado de Oxidação do Cromo

Realizou-se o levantamento da curva de calibração do espectrômetro de absorção atômica (AAS) a partir de soluções diluídas de cromo, na faixa de concentração entre 0,1 e 20,0 mgL⁻¹. Obteve-se a curva de calibração do espectrômetro UV-Vis, como mostrado na Figura 5.1.

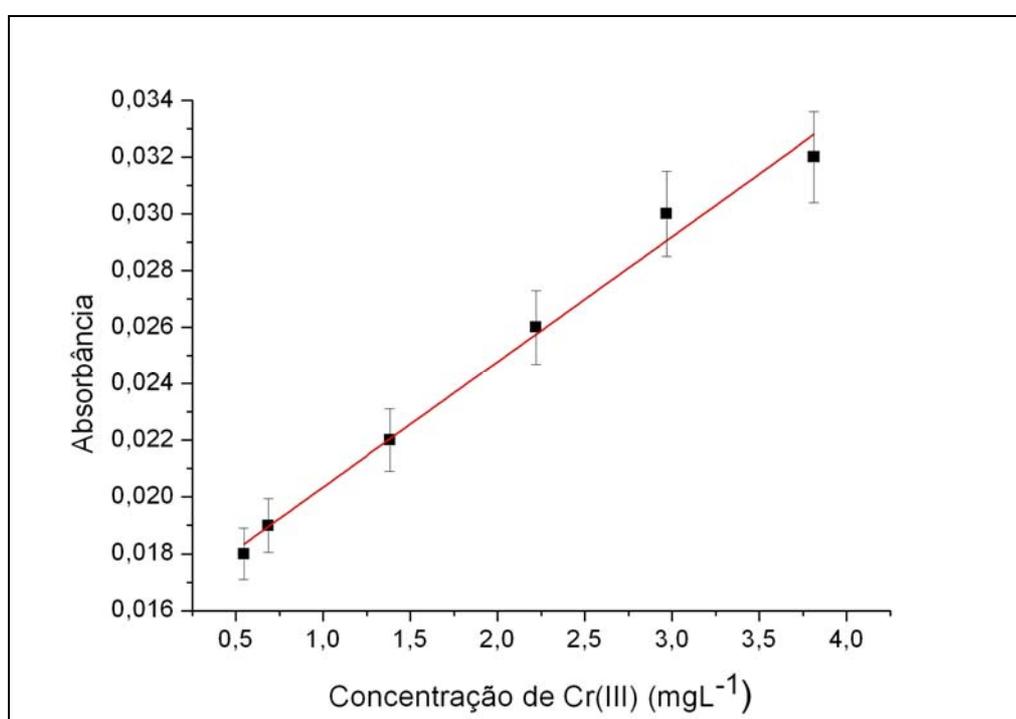


Figura 5.1 - Resposta da absorbância como função da concentração de Cr(III).

Usando a curva de calibração do UV-Vis, determinou-se a concentração de Cr(III) complexado com EDTA presente em cada amostra onde houve a variação do pH, que inicialmente continha somente Cr(VI). Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 5.1, sugerindo que não houve uma redução significativa na concentração inicial do Cr(VI) nas soluções hidropônicas onde variou-se o pH. Por subtração da concentração do Cr(III) daquela de cromo total, foram determinadas as concentrações de Cr(VI), apresentadas na Tabela 5.2. Isto é um indicativo que não houve a redução do estado de oxidação do cromo, devido ao efeito do pH da solução hidropônica.

Tabela 5.1 - Concentração de Cr (III) em soluções com variação de pH.

pH da solução	Absorbância ¹	Concentração de Cr(III) (mgL ⁻¹)
3,03	0,012	< 0,4
3,51	0,012	< 0,4
4,04	0,010	< 0,4
4,57	0,011	< 0,4
5,05	0,011	< 0,4
5,54	0,011	< 0,4
6,11	0,012	< 0,4

¹ Medido por UV-vis

Tabela 5.2 - Cromo total, Cr(III) e Cr(VI), em mgL⁻¹, em diferentes pH.

pH da amostra	Cr total ¹ (mgL ⁻¹)	Cr(III) ² (mgL ⁻¹)	Cr(VI) ³ (mgL ⁻¹)
3,03	3,2 (1)	< 0,4	2,8<
3,51	3,4 (1)	< 0,4	3,0<
4,04	3,3 (1)	< 0,4	2,9<
4,57	3,2 (1)	< 0,4	2,8<
5,05	3,3 (1)	< 0,4	2,9<
5,54	3,2 (1)	< 0,4	2,8<
6,11	3,3 (1)	< 0,4	2,9<

¹ Obtido por AAS

² Obtido por UV-vis

³ Subtração de Cr(III) do Cr total.

Durante o experimento, o pH da solução hidropônica foi monitorado e permaneceu na faixa de 3,0 à 6,0, como apresentado na Tabela 5.3. Nessas condições de pH, não é esperado acontecer a redução do Cr(VI) para Cr(III) durante o experimento de biofixação/bioacumulação pelas três espécies de macrófitas.

Tabela 5.3 - pH da solução de cultivo das macrófitas aquáticas.

Macrófita	Estado de Oxidação do Cromo que foi tratada	pH ¹ na montagem do experimento	pH ¹ no momento da coleta
<i>Pistia stratiotes</i>	III	3,74 (03)	4,33 (09)
	VI	3,79 (07)	6,49 (36)
<i>Salvinia auriculata</i>	III	3,73 (01)	5,05 (67)
	VI	3,78 (07)	4,90 (76)
<i>Eichhornia crassipes</i>	III	3,76 (04)	4,90 (33)
	VI	3,63 (07)	3,76 (04)

¹ Média calculada sobre uma triplicata experimental.

5.2. Redução dos Espectros de Emissão Cr-K β

Na Tabela 5.4 são apresentados: a relação de amostras irradiadas, bem como os parâmetros de aquisição de cada espectro de emissão, indicando o intervalo das posições do analisador e detector dentro do círculo de Rowland, o tempo de irradiação em cada posição, e o número total de posições do sistema analisador-detector para conformar cada espectro de emissão em torno das linhas espectrais K $\beta_{1,3}$ e K $\beta_{2,5}$.

Tabela 5.4 - Condições experimentais de irradiação.

Amostra	Tratamento	Scan	Intervalo	Tempo (s)	Observação
<i>S. auriculata</i>	3 mgL ⁻¹ Cr(III)	1	30	5	K $\beta_{1,3}$
		2	70	50	K $\beta_{2,5}$
<i>P. stratiotes</i>	3 mgL ⁻¹ Cr(III)	3	30	5	K $\beta_{1,3}$
		4	70	50	K $\beta_{2,5}$
<i>E. crassipes</i>	5 mgL ⁻¹ Cr(III)	5	30	5	K $\beta_{1,3}$
		6	70	50	K $\beta_{2,5}$
<i>S. auriculata</i>	3 mgL ⁻¹ Cr(VI)	1	70	100	K $\beta_{2,5}$
		4	100	5	K $\beta_{1,3}$ + K $\beta_{2,5}$
		7	70	100	K $\beta_{2,5}$
<i>P. stratiotes</i>	3 mgL ⁻¹ Cr(VI)	2	70	100	K $\beta_{2,5}$
		5	100	5	K $\beta_{1,3}$ + K $\beta_{2,5}$
<i>E. crassipes</i>	5 mgL ⁻¹ Cr(VI)	8	70	100	K $\beta_{2,5}$
		3	70	100	K $\beta_{2,5}$
		6	100	5	K $\beta_{1,3}$ + K $\beta_{2,5}$
Mistura	90mg matriz + 3mg de Cr ₂ O ₃ + 7mg de CrO ₃	9	70	100	K $\beta_{2,5}$
		4	30	5	K $\beta_{1,3}$
Mistura	90mg matriz + 5mg de Cr ₂ O ₃ + 5mg de CrO ₃	5	70	30	K $\beta_{2,5}$
		6	30	5	K $\beta_{1,3}$
Mistura	90mg matriz + 7mg de Cr ₂ O ₃ + 3mg de CrO ₃	7	70	30	K $\beta_{2,5}$
		8	30	5	K $\beta_{1,3}$
Cr ₂ O ₃	100% Cr ₂ O ₃	9	70	30	K $\beta_{2,5}$
		4	30	2	K $\beta_{1,3}$
Mistura	90% Cr ₂ O ₃ + 10% CrO ₃	5	70	20	K $\beta_{2,5}$
		6	30	2	K $\beta_{1,3}$
Mistura	70% Cr ₂ O ₃ + 30% CrO ₃	7	70	20	K $\beta_{2,5}$
		8	30	2	K $\beta_{1,3}$
Mistura	50% Cr ₂ O ₃ + 50% CrO ₃	9	70	20	K $\beta_{2,5}$
		11	30	2	K $\beta_{1,3}$
Mistura	30% Cr ₂ O ₃ + 70% CrO ₃	12	70	20	K $\beta_{2,5}$
		13	30	2	K $\beta_{1,3}$
Mistura	10% Cr ₂ O ₃ + 90% CrO ₃	14	70	20	K $\beta_{2,5}$
		15	30	2	K $\beta_{1,3}$
CrO ₃	100% CrO ₃	16	70	20	K $\beta_{2,5}$
		17	30	2	K $\beta_{1,3}$
Cr metálico	Cr ⁰	18	70	20	K $\beta_{2,5}$
		17	30	1	K $\beta_{1,3}$
		18	70	10	K $\beta_{2,5}$

É importante ressaltar que o tempo de irradiação das amostras de Cr⁰, Cr₂O₃ e CrO₃, foi relativamente menor se comparado aquele das amostras de raízes de

plantas. Isso porque a concentração de cromo nos óxidos ou no cromo metálico é bem maior do que a concentração na raiz da planta. Então, para obter um bom espectro do cromo nas raízes, foi necessário um tempo de irradiação maior, da ordem de algumas horas. Visto que a intensidade da linha espectral $K\beta_{2,5}$ é bem menor que a da $K\beta_{1,3}$, foi necessário aumentar o tempo de irradiação em um fator de quase 40.

Através do *software* "SpecReader", desenvolvido pela equipe técnica do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (ANEXO I), foram selecionados os parâmetros: Sba, monitor e detector, que fornecem as informações da posição do analisador, do monitoramento da intensidade do feixe inicial e da intensidade dos raios-X vindos do analisador. Usando o *software* Origin[®], versão 8.0, foram manipuladas as informações do analisador (Sba), do monitor e do detector. O conjunto de dados dos detectores (monitor ou detector) como função da posição do analisador (sba) conforma um espectro de emissão de raios X, na região das linhas espectrais $K\beta$ do cromo.

5.2.1. Calibração em Energia

Das informações de geometria do analisador (deslocamento angular a cada passo do motor de passos) e do ângulo de Bragg para quase retro-difração do comprimento de onda da linha espectral principal do cromo ($85,824^\circ$), foi possível converter cada posição do motor de passos do analisador (Sba) no seu correspondente valor em energia (eV), através da equação 5.1.

$$\theta_n = [x_0 - x] \cdot \frac{8,85''}{3600''} + \theta_0$$

$$\theta_n = 2,458 \times 10^{-3} \cdot [x_0 - x] + 85,824^\circ$$

Equação 5.1 – Conversão de passos do analisador em posições angulares.

no qual $\theta_0 = 85,824^\circ$, que é o ângulo de Bragg do analisador para a energia da linha $K\beta_{1,3}$ do cromo metálico; x_0 é a posição do analisador, em passos, para a linha $K\beta_{1,3}$ do cromo metálico; e x são os passos do analisador, ou seja, os valores da coluna Sba.

Cada deslocamento dado pelo motor-a-passo corresponde a girar o analisador em 8,85 segundos de arco. A primeira parte da Equação. 5.1 faz a conversão de passo do analisador em posição angular.

Para obter o valor correto de x_0 , foi necessário ajustar dois picos gaussianos à linha espectral $K\beta_{1,3}$ do cromo metálico, conforme mostrado na Figura 5.2. O valor encontrado foi $x_0 = 1.189,97$, correspondente à energia $E_0 = 5946,71 \cdot eV$.

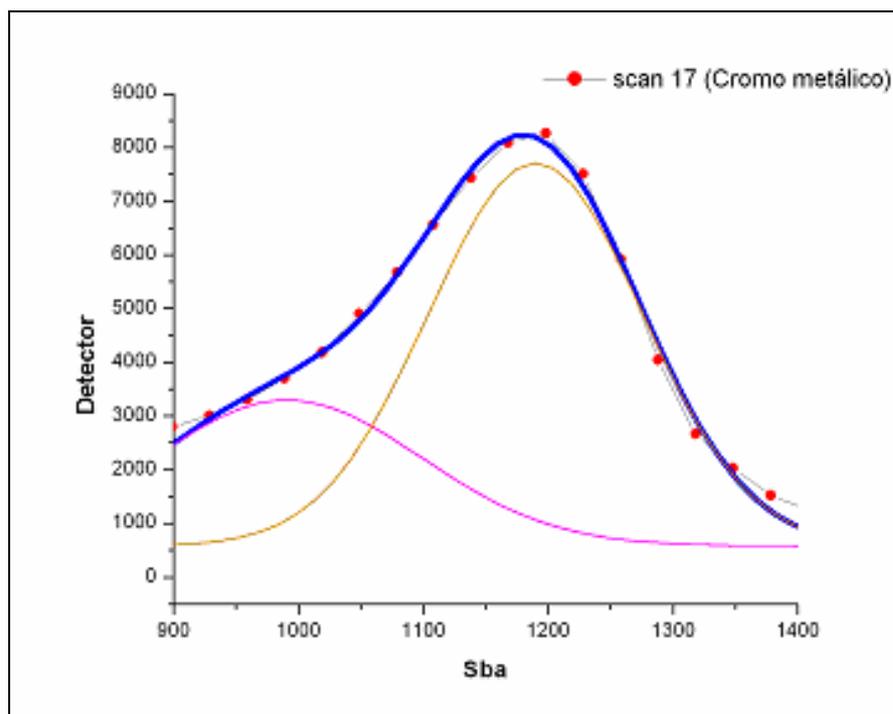


Figura 5.2 - Ajuste de dois picos Gaussianos no entorno da linha $K\beta_{1,3}$ do Cr^0 .

Em seguida, as posições angulares do analisador foram convertidas em energias, usando as Equações 3.4 e 3.5, resumidas na Equação 5.2.

$$E(x) = \frac{E(x_0) \cdot \text{sen}(\theta_0)}{\text{sen}\left((x_0 - x) \cdot \frac{8,85}{3600} + \theta_0\right)} = \frac{5946,71 \cdot eV \cdot \text{sen}(85,824)}{\text{sen}\left((x_0 - x) \cdot \frac{8,85}{3600} + 85,824\right)}$$

Equação 5.2 - Conversão de posição angular do analisador em energias (eV).

sendo, $\theta_0 = 85,824^0$ o ângulo de incidência do feixe espalhado para selecionar, através do analisador, a linha espectral $K\beta_{1,3}$ do cromo metálico ($E_0 = 5946,71 \cdot eV$), e $x_0 = 1.189,97$ a posição da mesma linha espectral no espectro de emissão.

5.2.2. Normalização Relativa à Intensidade de Raios-X Incidente

O fluxo de fótons monoenergéticos da linha de luz não era constante ao longo do tempo de irradiação. Sendo assim, foi posicionado na câmara de espalhamento XRD1 um detector XRT-100, cuja função foi monitorar o fluxo de raios-X monocromático (6,1 keV) incidente na amostra.

Com o auxílio do *software* “Origin® 8.0”, na função “*Smoothing, Adjacent Averaging*”, foi feita a suavização do espectro do monitor, com a média de 6 pontos adjacentes (Figura 5.3), com o intuito de não introduzir nos espectros de emissão as flutuações das contagens do monitor quando se fizer a correção dos espectros de emissão pela intensidade do feixe incidente.

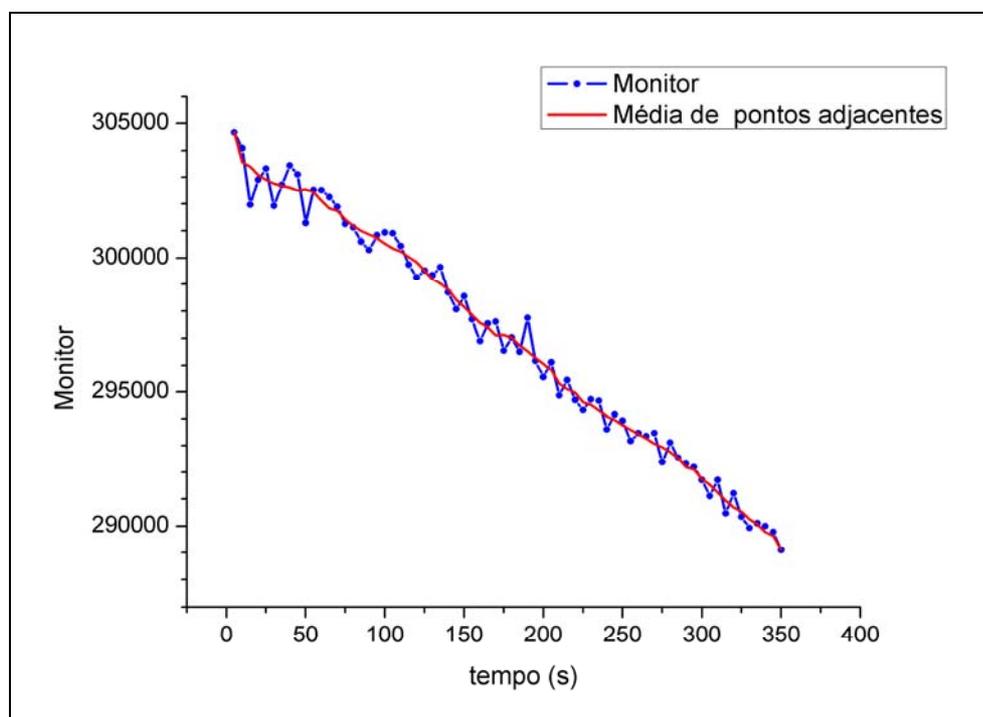


Figura 5.3 - Suavizado do espectro do monitor da intensidade do feixe de raios-X monocromáticos incidente na amostra e seu “suavizado”.

Em cada posição (em passos ou energia) do “sba”, a intensidade dos raios X coletados pelo detector foi normalizada em relação a intensidade suavizada do detector monitor, gerando-se então um novo espectro com o eixo das intensidades normalizadas, portanto, sem unidades como mostrado na Figura 5.4.

Este mesmo procedimento foi feito para cada espectro das três espécies de macrófitas analisadas, tanto aquelas cultivadas com Cr(III) quanto as cultivadas com Cr(VI).

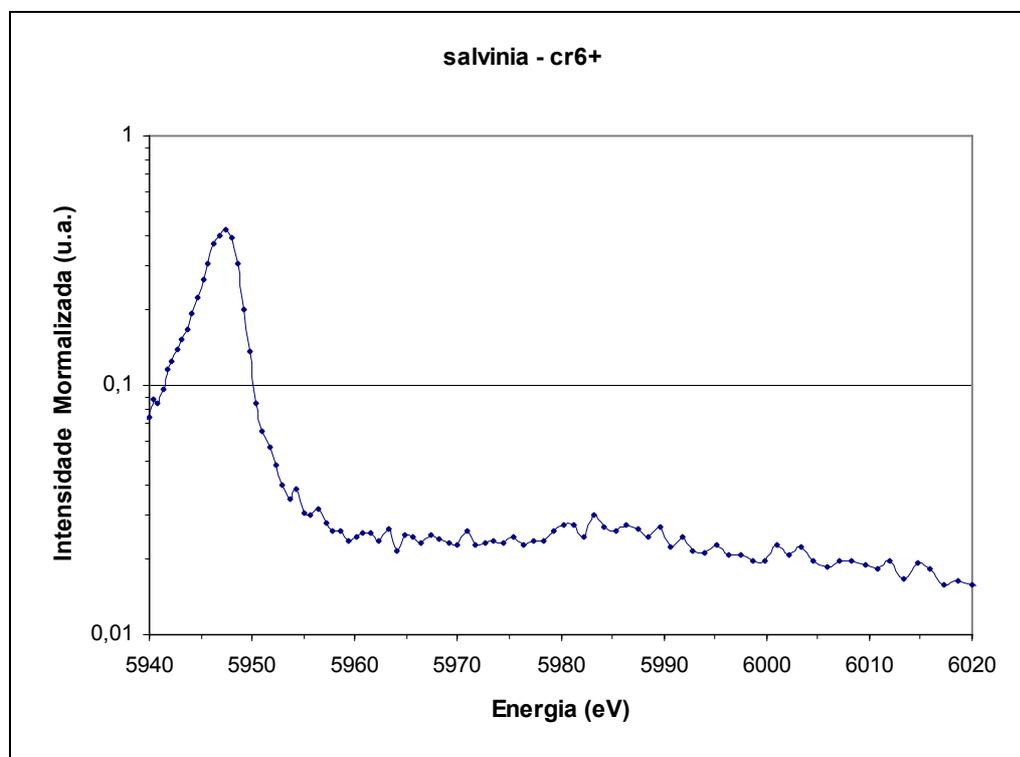


Figura 5.4 – Espectro Cr-K β da *Salvinia auriculata* tratada com Cr(VI).

5.2.3. Subtração do Efeito Matriz

Quando se irradia plantas com raios-X, além do espalhamento do metal adsorvido por ela, ocorre também o espalhamento elástico/inelástico da parte orgânica que a compõe. Para a retirada dessa contribuição da matriz no espectro da planta, e permanecer apenas o espectro do metal, foi necessário fazer a subtração do espectro da matriz em cada um dos espectros.

Ao comparar os espectros dos compostos de cromo ou cromo metálico com aqueles das plantas tratadas [Cr(III) ou Cr(VI)] percebeu-se que havia uma contribuição indesejável da parte orgânica da planta por baixo da linha espectral K $\beta_{2,5}$, que foi chamado como efeito matriz nos espectros das plantas.

Com a irradiação de uma amostra de planta, sem tratamento com cromo, obteve-se um espectro, apresentado na Figura 5.5, que apresenta apenas o espalhamento da parte orgânica da planta, o que se chamou de “efeito matriz”.

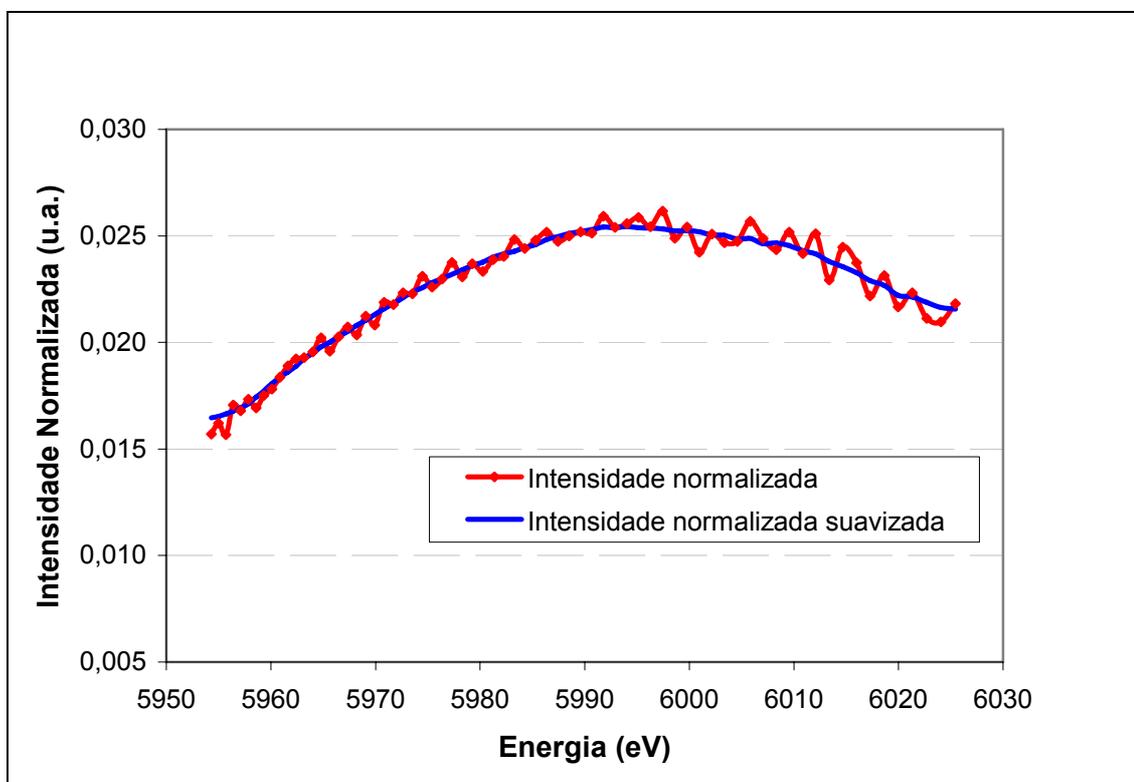


Figura 5.5 - Espectro de espalhamento de raios-X na matriz da planta.

Com o intuito de reduzir os dados experimentais sem contribuição espúria, foi feito um procedimento de subtração da contribuição da matriz que permitir isolar a contribuição somente do metal adsorvido ou acumulado nas raízes de cada planta. Para tanto, a região do espectro pouco acima da linha espectral $K\beta_{2,5}$ foi isolada e sua forma foi suavizada, fazendo um ajuste por uma função gaussiana cujo centróide naturalmente ficava abaixo da linha $K\beta_{2,5}$. Feito isto, a função de ajuste foi subtraída de cada espectro, como mostrada na Figura 5.6, permitindo isolar o espectro de emissão do Cromo.

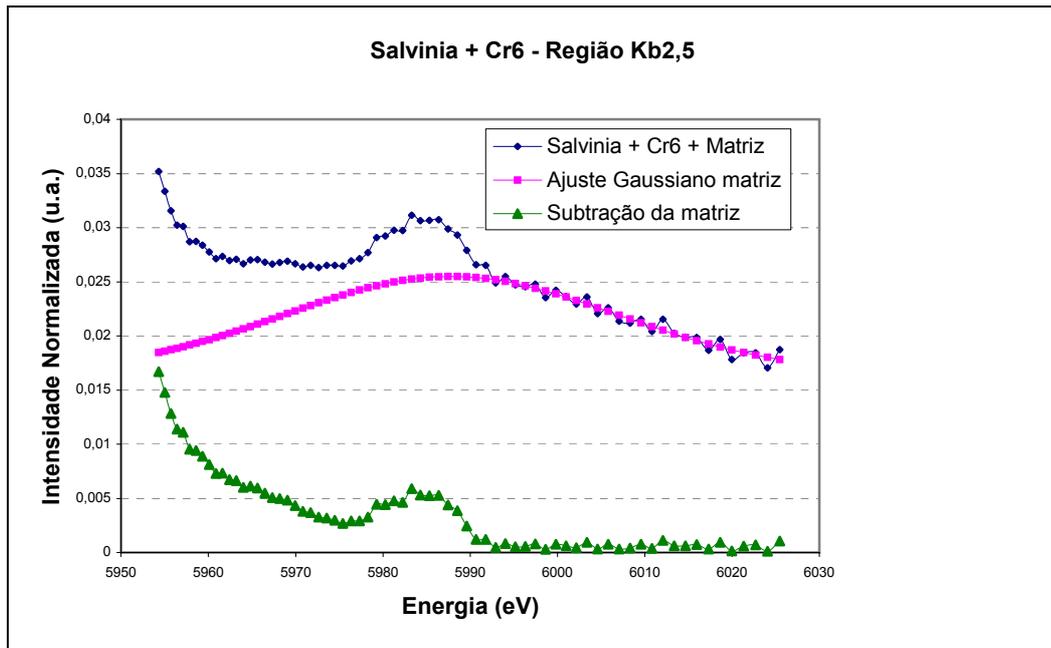


Figura 5.6 - Espectro Cr-K β com e sem efeito matriz.

Pode-se perceber que no espectro de emissão, após a subtração, ainda possui uma contribuição intrínseca ao cromo, devido ao fato que no momento que ocorre a excitação dos átomos de Cr pela radiação monocromática incidente (6.1 keV), há uma contribuição esperada relativo ao comportamento da seção de choque de ionização do átomo a qual possui uma descontinuidade em torno de 6.0 keV (Figura 3.13). Tal contribuição transfere esse deslocamento da linha de base do espectro, levando o espectro abaixo da linha espectral K $\beta_{2,5}$ acima do esperado.

5.2.4. Subtração do Efeito da Borda de Absorção do Cromo

Com o intuito de subtrair a contribuição da borda de absorção de radiação durante a ionização do cromo, foi necessário obter o espectro de absorção do cromo, como mostrado na Figura 5.7, cuja borda de absorção do Cromo é extraída pela derivada do espectro de absorção (Figura 5.8).

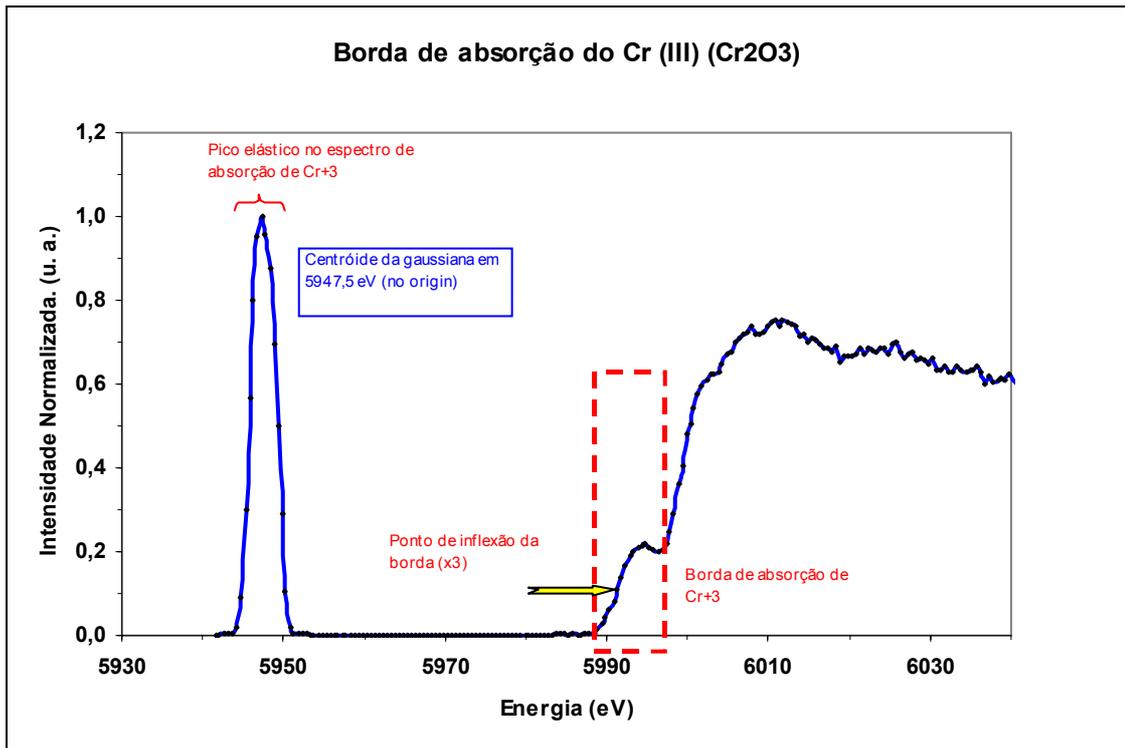


Figura 5.7 – Espectro de absorção do cromo.

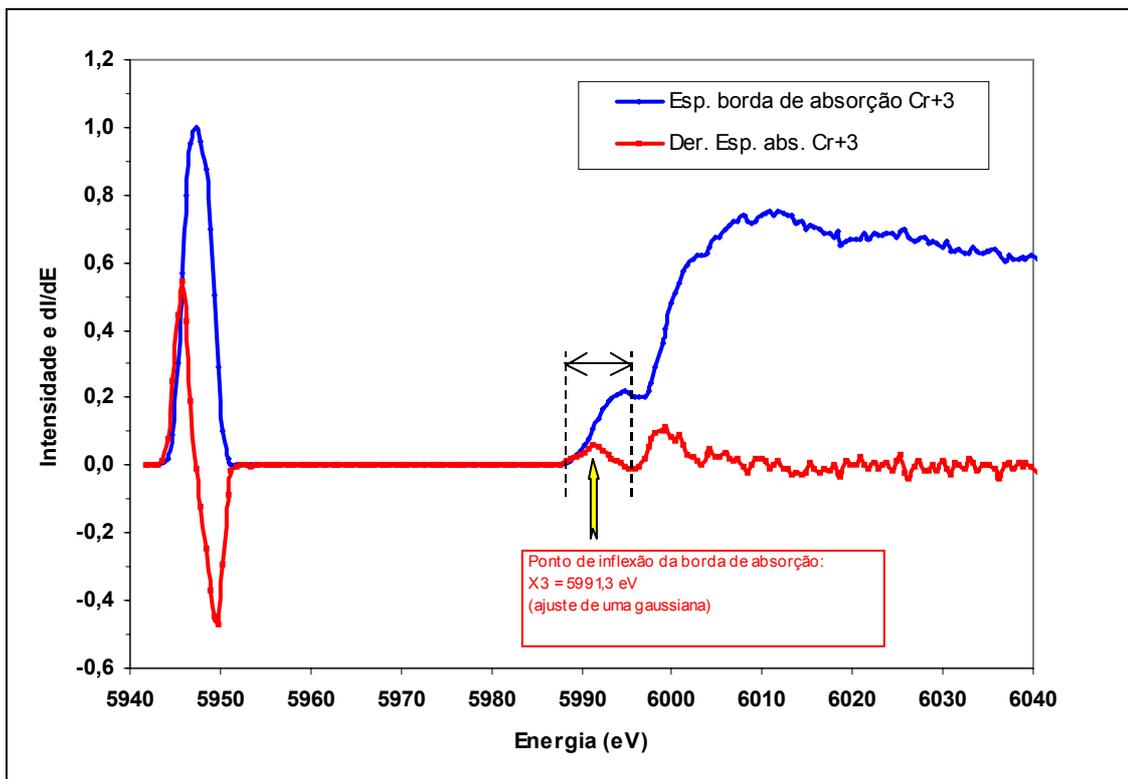


Figura 5.8 – Derivada do espectro de absorção do cromo.

O efeito da borda de absorção do cromo em seu espectro de emissão não é tão acentuado como em seu espectro de absorção (Figura 5.6). Porém, é de forma

mais suave, como observada na Figura 5.6. Por esse motivo, foi modelado tal efeito por uma função suave do tipo escalão, cuja energia do ponto central da região de descontinuidade foi associada à energia da borda de absorção. O degrau do escalão foi descrito de forma suave pela função descrita pela Equação 5.3, cuja largura em torno da borda de absorção corresponde aproximadamente à largura do pico da derivada da borda de absorção.

$$f(E) = h_0 - \frac{h}{1 + \exp\left(\frac{E_{abs} - E}{w}\right)}$$

Equação 5.3 - Função Escalão utilizada para subtração da borda de absorção.

sendo h_0 a linha base mais alta e h é a diferença entre a linha base mais alta e a mais baixa do pico $K\beta_{2,5}$; E_{abs} a energia da borda de absorção; e w a largura estimada da borda de absorção, conforme indicado na Figura 5.9.

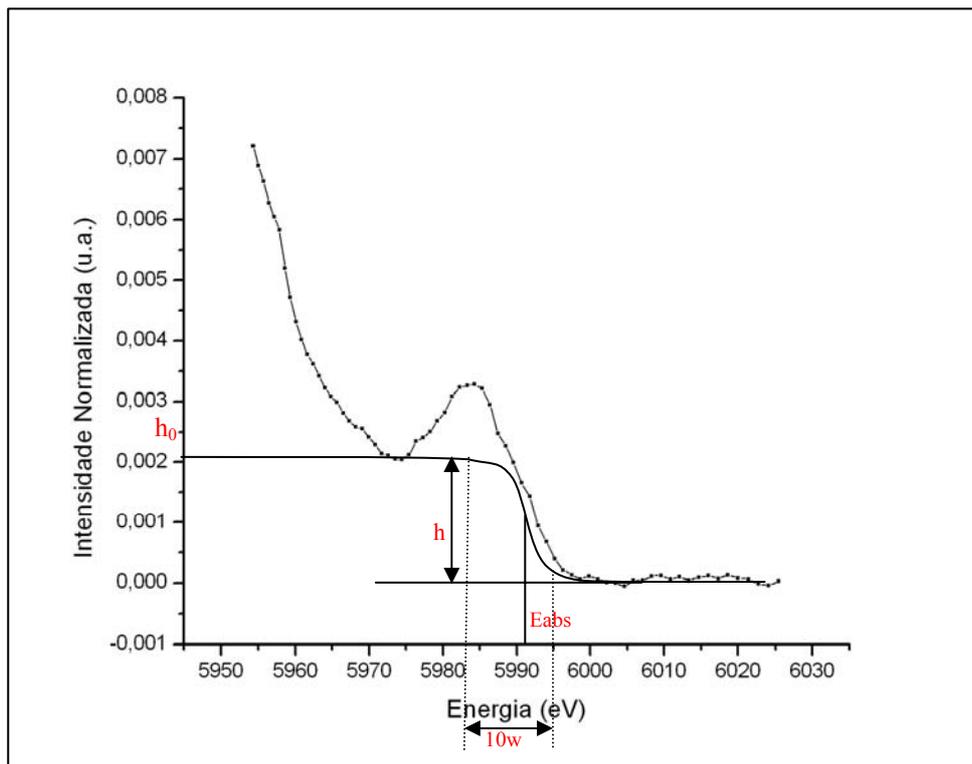


Figura 5.9 – Representação da borda de absorção pela função escalão.

Na Figura 5.9 pode-se visualizar a contribuição da borda de absorção ao espectro de emissão na linha espectral $K\beta_{2,5}$ que traz informações sobre o estado de oxidação em que se encontra o metal na planta.

Os parâmetros h_0 e h variam para cada espectro. Já E_{abs} e w são fixos para todos os espectros.

Após ter determinado todos os parâmetros da Função Escalão, subtraiu-se a mesma do espectro da planta tratada com metal, já subtraído previamente o efeito matriz. Na Figura 5.10 pode ser visto um espectro onde foi subtraída a borda de absorção.

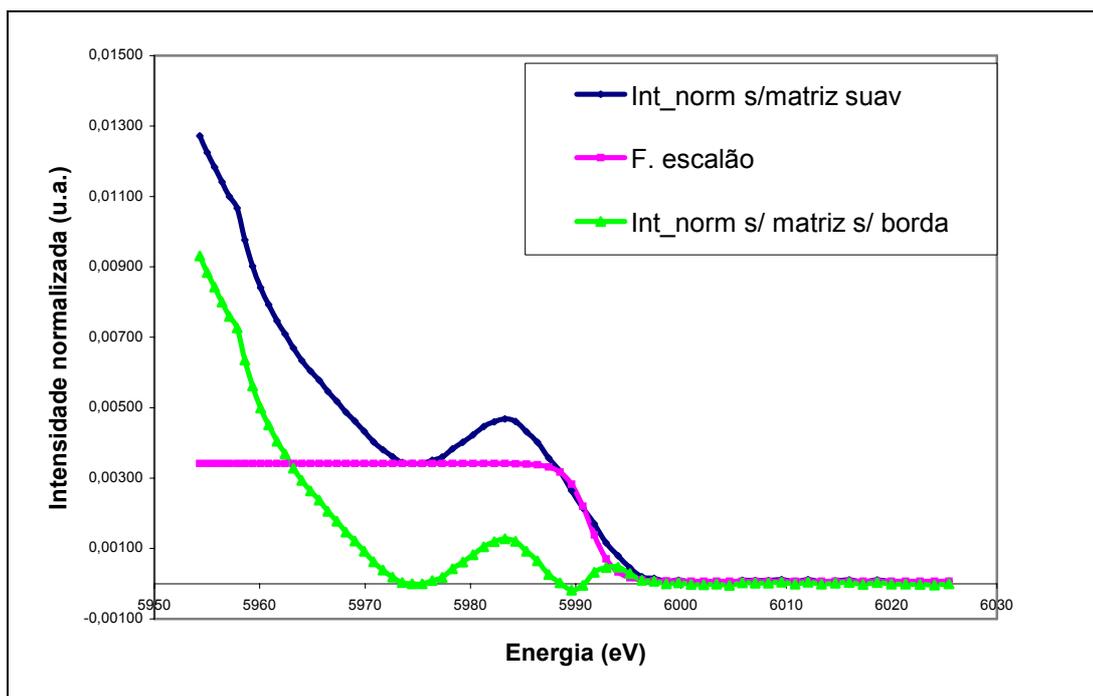


Figura 5.10 – Espectro Cr-K β com e sem efeito da Borda de Absorção.

Dessa maneira, os espectros apresentam-se sem a contribuição da matriz e da borda de absorção, estando na forma adequada para extrair as intensidades das áreas de cada linha espectral, a energia do centróide da linha e sua respectiva largura.

5.3. Linhas Espectrais Cr-K β nos Compostos de Cromo

No LNLS foram feitas as irradiações em pastilhas de cromo metálico (Tabela 5.5), de óxido de cromo (III) (Cr_2O_3) e óxido de cromo (VI) (CrO_3), para serem usadas como referência para as demais análises. Os espectros completos do cromo

metálico e dos outros dois óxidos de cromo analisados, com as linhas espectrais $K\beta_{1,3}$ e $K\beta_{2,5}$, de cujos espectros foi previamente subtraído o efeito da borda de absorção, são apresentados superpostos na Figura 5.11.

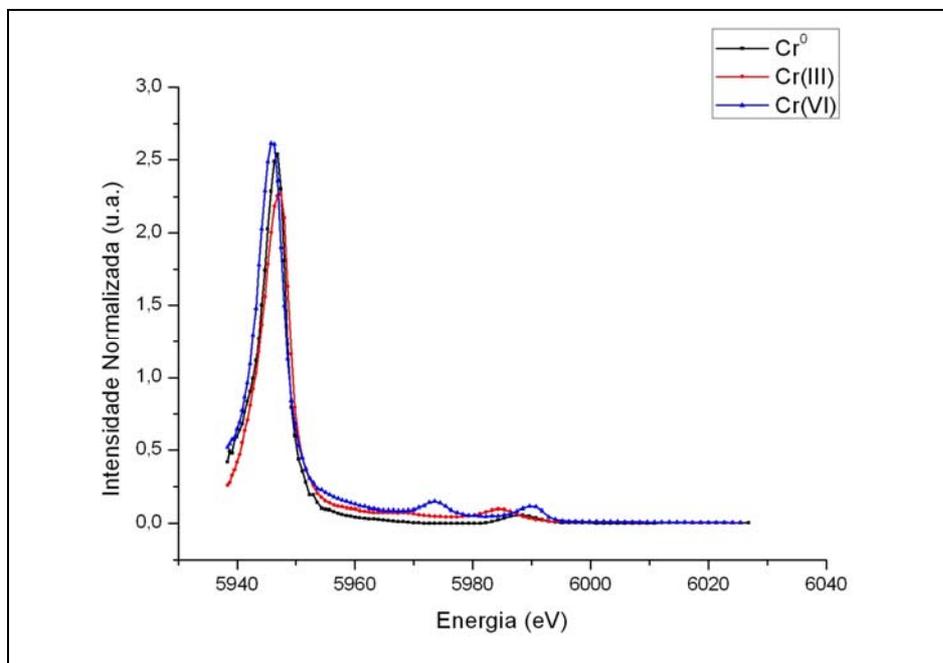


Figura 5.11 – Superposição dos espectros $K\beta$ do Cr^0 , Cr_2O_3 e CrO_3 .

Na Figura 5.11, pode-se observar o deslocamento em energia, tanto em relação às linhas espectrais $K\beta_{1,3}$ quanto às $K\beta_{2,5}$. Fazendo uma ampliação nas regiões das linhas espectrais $K\beta_{1,3}$ e $K\beta_{2,5}$ na Figura 5.10, é possível visualizar com mais clareza o deslocamento em energia dessas linhas espectrais quando há mudança no estado de oxidação do metal. Essa ampliação é mostrada na Figura 5.12.

Como pode ser observado na Figura 5.12 (a) e (b), o centróide das linhas espectrais $K\beta_{1,3}$ e $K\beta_{2,5}$ se desloca relativo àquelas do cromo metálico, quando o cromo se encontra em outro estado de oxidação. Esse deslocamento é pequeno na ordem de poucos eV, o que não seria possível observar com espectrômetros de baixa resolução, como aqueles tradicionais com resolução da ordem de 150 eV. O espectrômetro empregado do tipo High Resolution X-Ray Spectrometer (HR-XRF) tem se tornado uma ferramenta muito útil na especificação de metais de transição como o cromo.

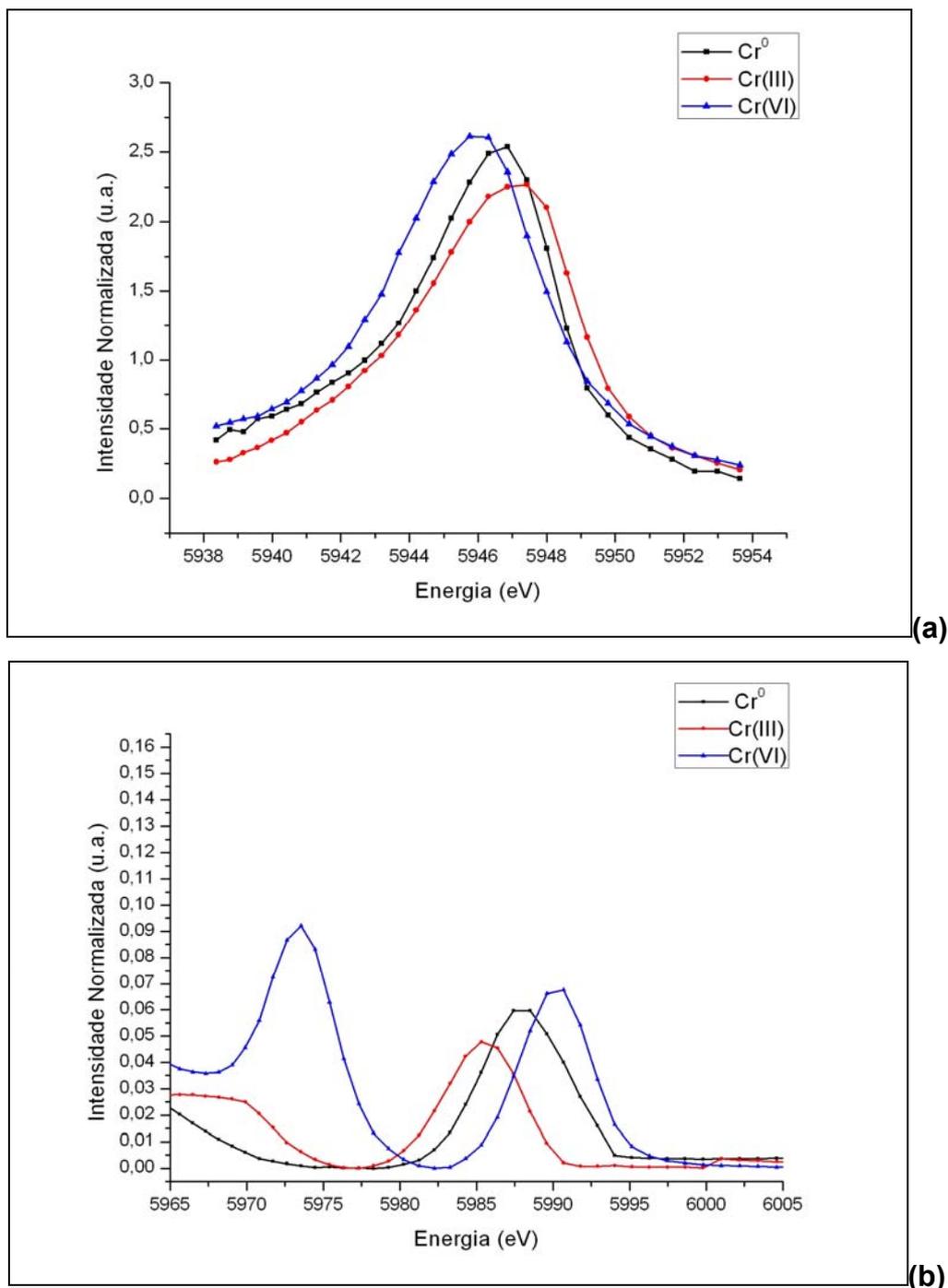


Figura 5.12 – Espectros de emissão do Cr⁰, Cr₂O₃ e CrO₃ na região da linha espectral (a) principal K $\beta_{1,3}$ e (b) satélite K $\beta_{2,5}$.

Para obtenção dos parâmetros dessas linhas espectrais, tais como área, centróide e largura do pico, fez-se um ajuste gaussiano das mesmas. Esses parâmetros são apresentados na Tabela 5.5. Baseado nesses resultados, a variação da energia da linha espectral K $\beta_{2,5}$ em relação à linha K $\beta_{1,3}$ foi calculada através da Equação 5.4. Da mesma forma, a Intensidade Relativa da linha espectral K $\beta_{2,5}$ em relação à linha K $\beta_{1,3}$ do cromo metálico foi calculada pela Equação 5.5.

$$\Delta E = E_{K\beta_{2,5}} - E_{K\beta_{1,3}}$$

Equação 5.4 - Variação da energia da linha espectral $K\beta_{2,5}$ em relação à $K\beta_{1,3}$.

$$I_{relativa} = \frac{I_{K\beta_{2,5}}}{I_{K\beta_{1,3}}}$$

Equação 5.5 - Intensidade Relativa da linha espectral $K\beta_{2,5}$ em relação à $K\beta_{1,3}$.

Tabela 5.5 - Linhas espectrais $K\beta_{1,3}$ e $K\beta_{2,5}$ para o cromo em diferentes estados de oxidação.

	Número de Oxidação	Energia do $K\beta_{1,3}$ (eV)	Energia do $K\beta_{2,5}$ (eV)	ΔE (eV) $E_{K\beta_{2,5}} - E_{K\beta_{1,3}}$	FWHM ¹ no	FWHM ¹ no	Intensidade
					$K\beta_{1,3}$ (eV)	$K\beta_{2,5}$ (eV)	Relativa (%) $\frac{I_{K\beta_{2,5}}}{I_{K\beta_{1,3}}}$
Cr^0	0	5946,18 (10)	5988,12 (4)	41,94 (14)	2,83 (10)	5,30 (9)	4,02
Cr_2O_3	III	5947,06 (08)	5985,40 (4)	38,34 (12)	2,89 (14)	4,83 (9)	2,47
CrO_3	VI	5945,59 (06)	5990,16 (2)	44,57 (08)	3,40 (10)	4,63 (4)	3,50

¹ Full Width at Half Maximum (largura do pico à metade da altura).

5.3.1. Linha Espectral $K\beta_{1,3}$

Para a energia da linha espectral $K\beta_{1,3}$, observou-se o seguinte comportamento: $E(Cr^{III}) > E(Cr^0) > E(Cr^{VI})$.

Esse mesmo comportamento foi observado por Tiraó et al. (2006) e por Iihara et al. (1993). Já para a largura desta mesma linha espectral, observou-se a relação: $FWHM(Cr^{VI}) > FWHM(Cr^{III}) > FWHM(Cr^0)$.

Estas relações podem ser claramente observadas na Tabela 5.5.

A fim de melhor visualização do comportamento da energia e da largura da linha espectral $K\beta_{1,3}$ do cromo, construiu-se o gráfico da energia desta linha em função do número de oxidação, e outro da largura em função do número de oxidação. Estes gráficos são mostrados na Figura 5.13 (a) e (b), respectivamente.

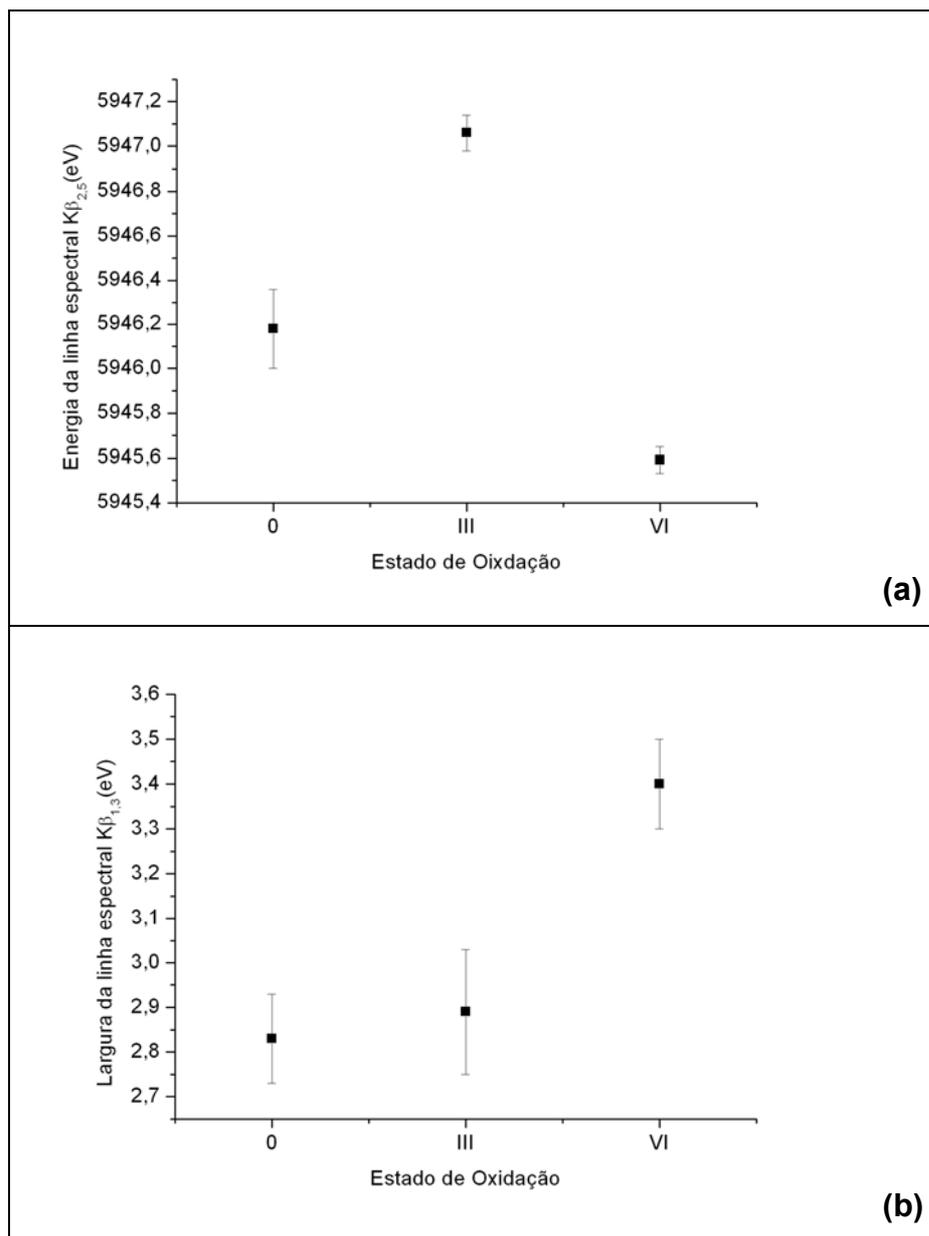


Figura 5.13 – (a) Comportamento da energia e (b) da largura da linha espectral Cr- $K\beta_{1,3}$ em função do estado de oxidação.

Para o Cr^0 , a energia da linha $K\beta_{1,3}$ encontra-se em 5946,16 eV; para o Cr(III), a posição está em 5947,06 eV; e para o Cr(VI), a mesma encontra-se em 5945,59 eV. Esses valores da energia obtidos experimentalmente para a linha espectral $K\beta_{1,3}$ para o cromo em diferentes estados de oxidação estão de acordo com os valores obtidos por Tiraio et al., (2006), onde se encontra relatado que a energia para a linha espectral $K\beta_{1,3}$ para o Cr^0 , Cr(III) e Cr(VI) é de 5946,70 eV; 5947,84 eV; e 5945,97 eV, respectivamente. Comportamento similar foi observado por Iihara et al. (1993).

A largura da linha espectral $K\beta_{1,3}$ sofreu um acréscimo com o aumento do número de oxidação do cromo. Essa é uma evidência de que tal parâmetro depende do estado de oxidação do metal.

5.3.2. Linha Espectral $K\beta_{2,5}$

Para a energia da linha espectral $K\beta_{2,5}$ e variação da mesma, observaram-se os seguintes comportamentos: $E(Cr^{VI}) > E(Cr^0) > E(Cr^{III})$ e $\Delta E(Cr^{VI}) > \Delta E(Cr^0) > \Delta E(Cr^{III})$.

Estas relações estão de acordo com aquelas apresentadas por Tiraio et al. (2006). Segundo os mesmos, é mais conveniente usar a variação da energia da linha espectral $K\beta_{2,5}$ para a caracterização do estado de oxidação de compostos desconhecidos, pois está é mais sensível do que aquela que relaciona apenas a energia da linha espectral $K\beta_{1,3}$.

Já para a largura desta mesma linha espectral, observou-se a relação: $FWHM(Cr^0) > FWHM(Cr^{III}) > FWHM(Cr^{VI})$.

Os gráficos da energia da linha espectral $K\beta_{2,5}$ em função do estado de oxidação do cromo, da largura da linha espectral $K\beta_{2,5}$ em função do estado de oxidação do cromo, e da intensidade relativa da linha $K\beta_{2,5}$ em função do estado de oxidação são mostrados na Figura 5.14 (a.), (b) e (c), respectivamente.

A energia da linha espectral $K\beta_{2,5}$ para o Cr^0 encontra-se em 5988,12 eV. Já para o $Cr(III)$, a posição desta linha encontra-se deslocada para a esquerda, em relação ao cromo metálico, estando em 5985,40 eV. E para o $Cr(VI)$, a linha espectral $K\beta_{2,5}$ encontra-se deslocada para a direita, se comparada à mesma linha do cromo metálico, estando esta na posição 5990,59 eV. Esses valores medidos encontram-se próximos aos observados por Tiraio et al. (2006), onde para o Cr^0 , $Cr(III)$ e $Cr(VI)$, são respectivamente, 5987,72 eV; 5983,08 eV; e 5990,99 eV.

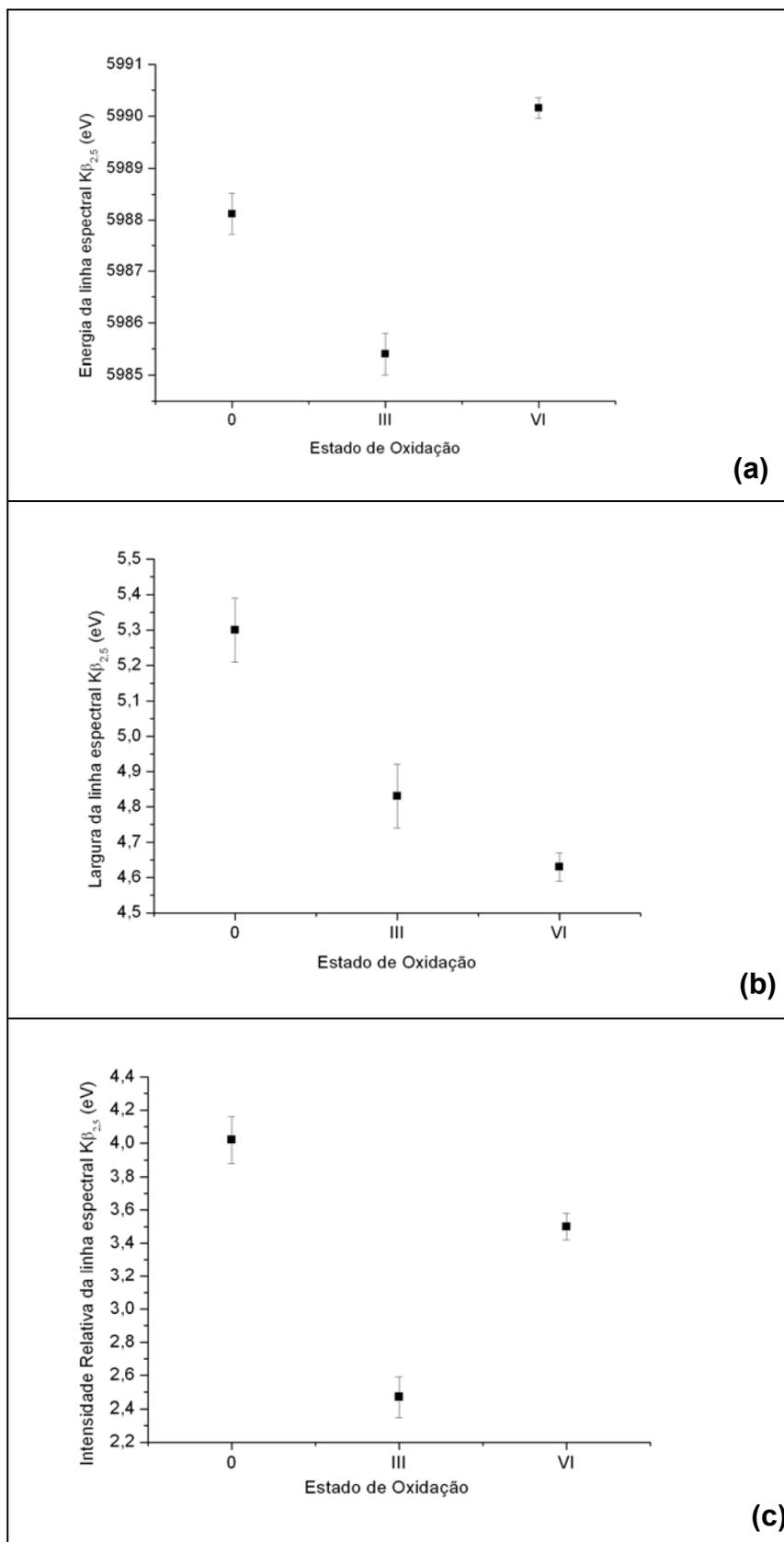


Figura 5.14 – (a) Comportamento da energia, (b) da largura e (c) da intensidade da linha espectral Cr- $K\beta_{2,5}$ em função do estado de oxidação.

5.4. Misturas de Óxidos de Cromo (III) e (VI)

Foram feitas algumas misturas dos óxidos de cromo (III) e (VI) (Cr_2O_3 CrO_3) em diferentes proporções para verificação dos parâmetros relativos à linha espectral $\text{K}\beta_{2,5}$ tanto do Cr(III) quanto do Cr(VI).

Para obtenção dos parâmetros: área, largura da linha espectral e posição do centróide, foi feito um ajuste gaussiano para cada mistura contendo diferentes proporções de Cr(III) e Cr(VI). Esse ajuste gaussiano para as linhas espectrais $\text{K}\beta_{2,5}$ para cada mistura é mostrado na Figura 5.15.

Após o ajuste gaussiano da linha espectral $\text{K}\beta_{2,5}$, obtiveram-se os parâmetros relativos à mesma, considerando a contribuição do Cr(III) e Cr(VI) em cada mistura. Estes parâmetros são: o centróide, a largura do pico à metade da altura, (FWHM), e a área, e são apresentados na Tabela 5.6.

Tabela 5.6 - Parâmetros dos picos $\text{K}\beta_{2,5}$ para as misturas de óxidos de cromo.

Contribuição (%)		Ajuste Gaussiano ($\text{K}\beta_{2,5}$)				Área ($\text{K}\beta_{2,5}$)	
Cr_2O_3	CrO_3	Cr(III)		Cr(VI)		Cr(III)	Cr(VI)
		Centróide (eV)	FWHM (eV)	Centróide (eV)	FWHM (eV)		
100	0	5985,40 (4)	4,82 (9)	-	-	0,290 (6)	-
90	10	5985,34 (5)	4,86 (11)	5991,72 (5)	1,24 (8)	0,275 (7)	0,004 (3)
70	30	5985,55 (3)	4,70 (3)	5990,41 (6)	4,16 (7)	0,206 (2)	0,067 (21)
50	50	5985,74 (3)	4,37 (5)	5990,45 (3)	3,68 (4)	0,143 (2)	0,125 (23)
30	70	5987,52 (6)	5,68 (14)	5990,70 (18)	3,46 (6)	0,165 (9)	0,128 (8)
10	90	5987,60 (4)	3,47 (12)	5990,72 (14)	3,35 (3)	0,080 (7)	0,251 (7)
0	100	-	-	5990,16 (2)	4,58 (6)	-	0,387 (5)

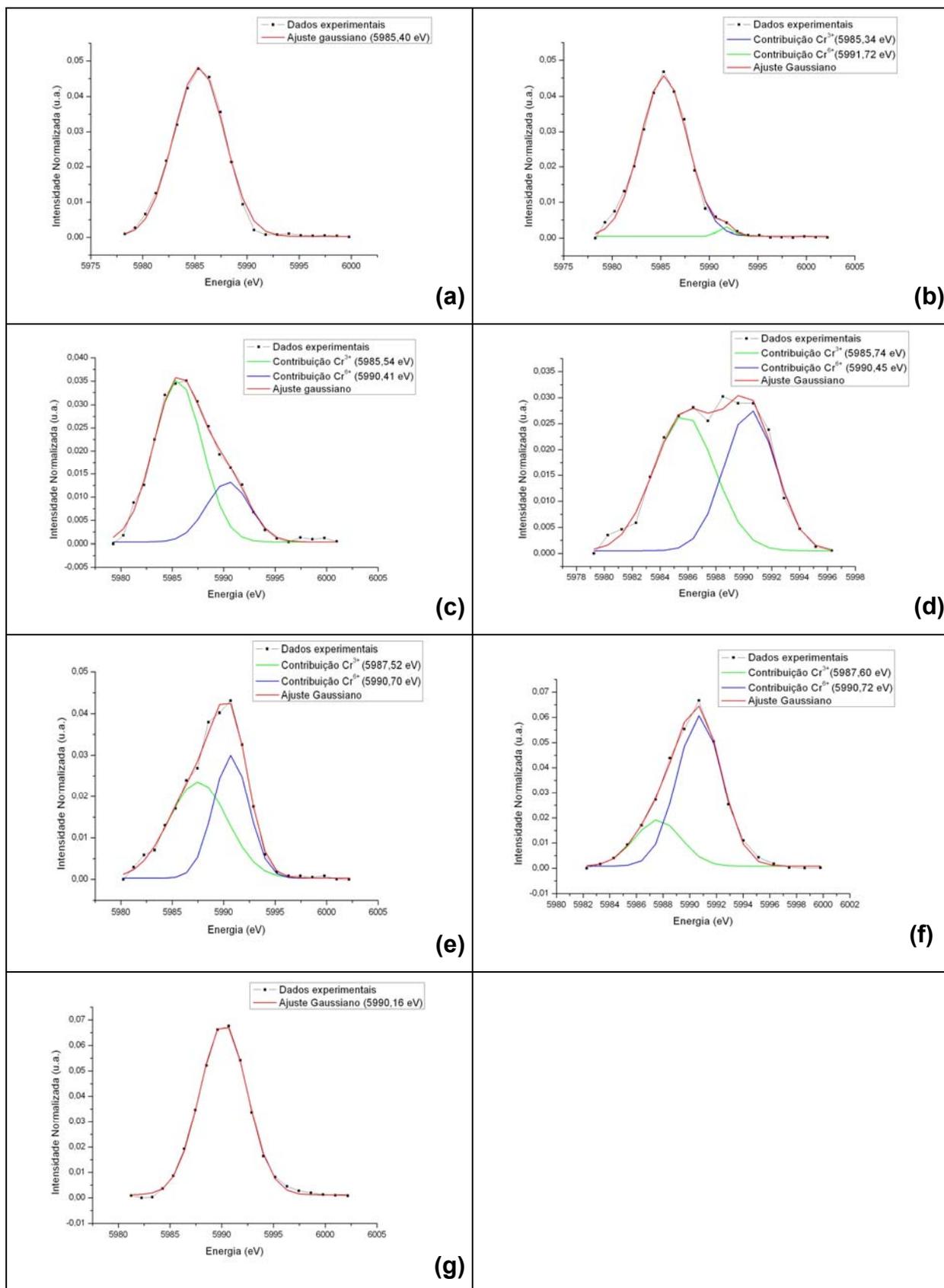


Figura 5.15 – Linha espectral Cr-K $\beta_{2,5}$ para misturas contendo diferentes proporções de Cr $_2$ O $_3$ e CrO $_3$. (a) 100% Cr $_2$ O $_3$; (b) 90% Cr $_2$ O $_3$ e 10% CrO $_3$; (c) 70% Cr $_2$ O $_3$ e 30% CrO $_3$; (d) 50% Cr $_2$ O $_3$ e 50% CrO $_3$; (e) 30% Cr $_2$ O $_3$ e 70% CrO $_3$; (f) 10% Cr $_2$ O $_3$ e 90% CrO $_3$; (g) 100% CrO $_3$.

5.5. Linhas Espectrais Cr-K β nas Raízes

Após a subtração dos efeitos da matriz orgânica e da borda de absorção do cromo dos espectros de emissão deste nas raízes, foram obtidas as características das linhas espectrais do cromo adsorvido/bioacumulado e seus possíveis estados de oxidação ou contribuições à linha espectral Cr-K $\beta_{2,5}$.

5.5.1. *Salvinia auriculata*

O espectro da *Salvinia auriculata*, cultivada com Cr(VI), foi sobreposto aos espectros do cromo metálico, óxido de cromo (III) e óxido de cromo (VI) para uma comparação das linhas espectrais K $\beta_{2,5}$. Esses espectros superpostos podem ser vistos na Figura 5.16.

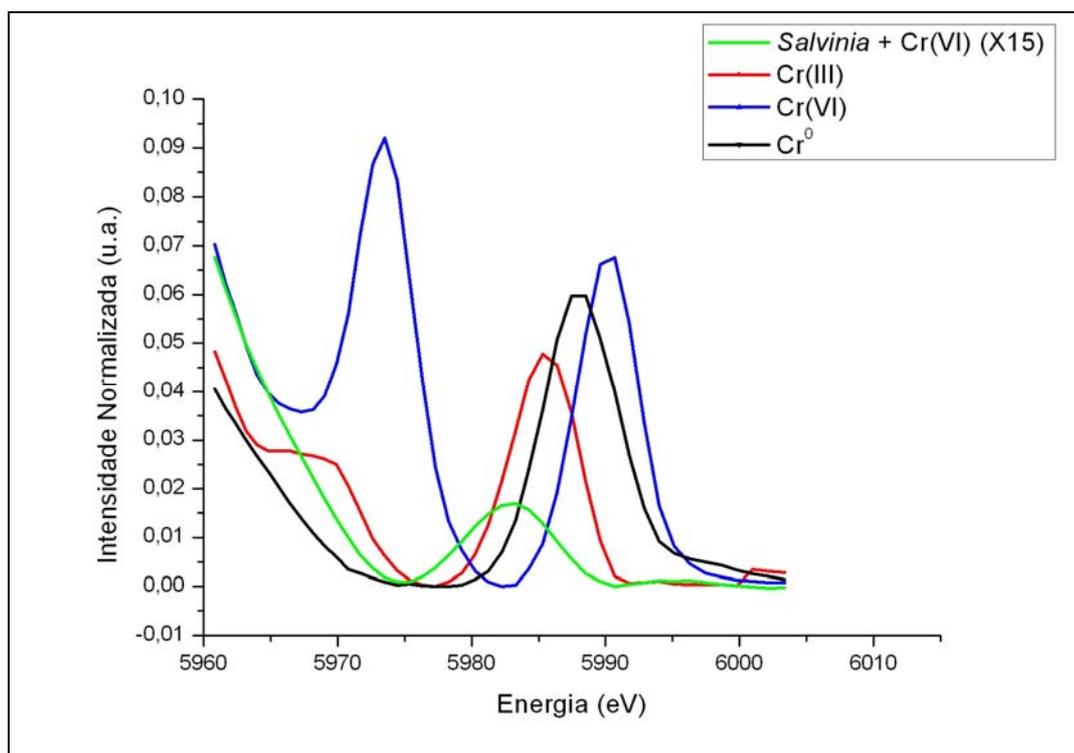


Figura 5.16 – Linhas espectrais K $\beta_{2,5}$ do Cr⁰, Cr(III), Cr(VI) comparadas com a da *Salvinia auriculata* tratada com Cr(VI).

O espectro da *Salvinia auriculata* tratada com Cr(III) também foi superposto aos espectros do Cr⁰, Cr(III) e Cr(VI). O mesmo é apresentado na Figura 5.17.

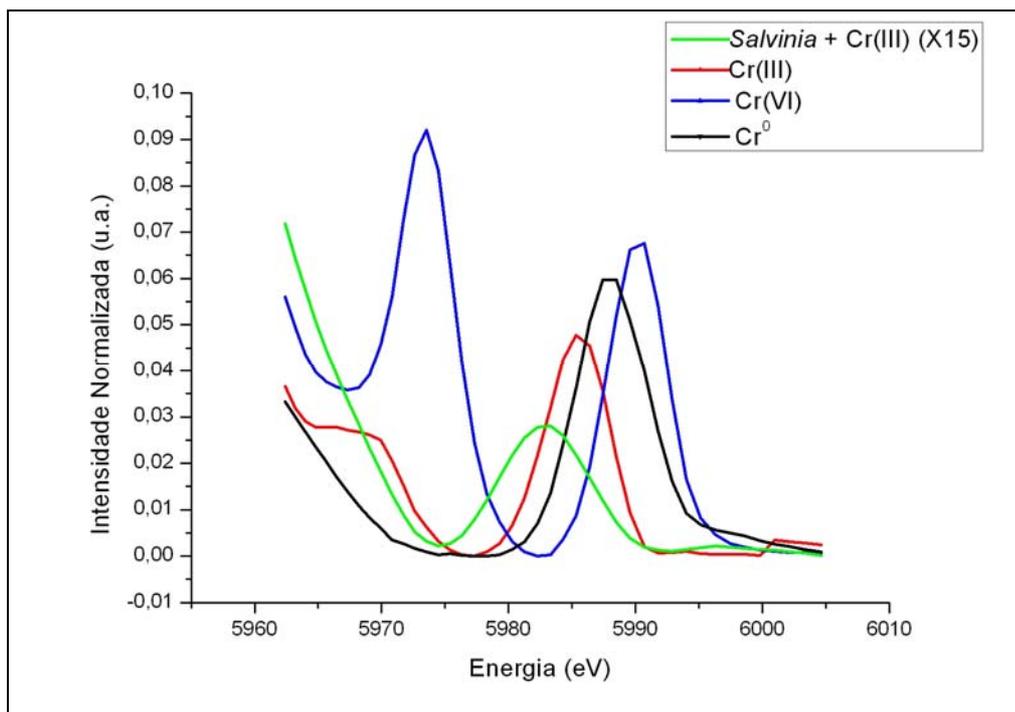


Figura 5.17 – Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ do Cr^0 , $Cr(III)$, $Cr(VI)$ e da *Salvinia auriculata* tratada com $Cr(III)$.

A semelhança entre as Figuras 5.16 e 5.17 é bem clara. Analisando-as, juntamente com os parâmetros apresentados na Tabela 5.9, observa-se que a posição da linha espectral $K\beta_{2,5}$ encontra-se mais próxima àquela do $Cr(III)$ (5985,40 eV). Essa evidência indica que a maior parte do cromo presente na planta encontra-se no estado de oxidação $Cr(III)$. Por meio dessa observação, pode-se dizer que uma grande parte do cromo adsorvido/bioacumulado pela *Salvinia auriculata*, que recebeu $Cr(VI)$, foi reduzido à $Cr(III)$. Essa observação torna-se mais evidente quando se superpõe as linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ do Cr^0 , $Cr(III)$, $Cr(VI)$ e da *Salvinia auriculata* tratada com $Cr(VI)$.

Um ajuste gaussiano na linha espectral $K\beta_{2,5}$ forneceu as informações sobre os parâmetros desta linha espectral, tornando possível a comparação entre a planta que recebeu $Cr(III)$ durante o cultivo e aquela que recebeu $Cr(VI)$. Comparando-se os parâmetros obtidos para a *Salvinia auriculata* tratada com $Cr(III)$ com os obtidos para o cultivo com $Cr(VI)$, percebe-se que ambos se assemelham. A posição do centróide é, praticamente, a mesma, bem como a largura e a área da linha espectral $K\beta_{2,5}$.

Para comparação entre os espectros *Salvinia auriculata* cultivada com Cr(III) e com Cr(VI), ambos são apresentados em uma mesma figura, conforme a Figura 5.18.

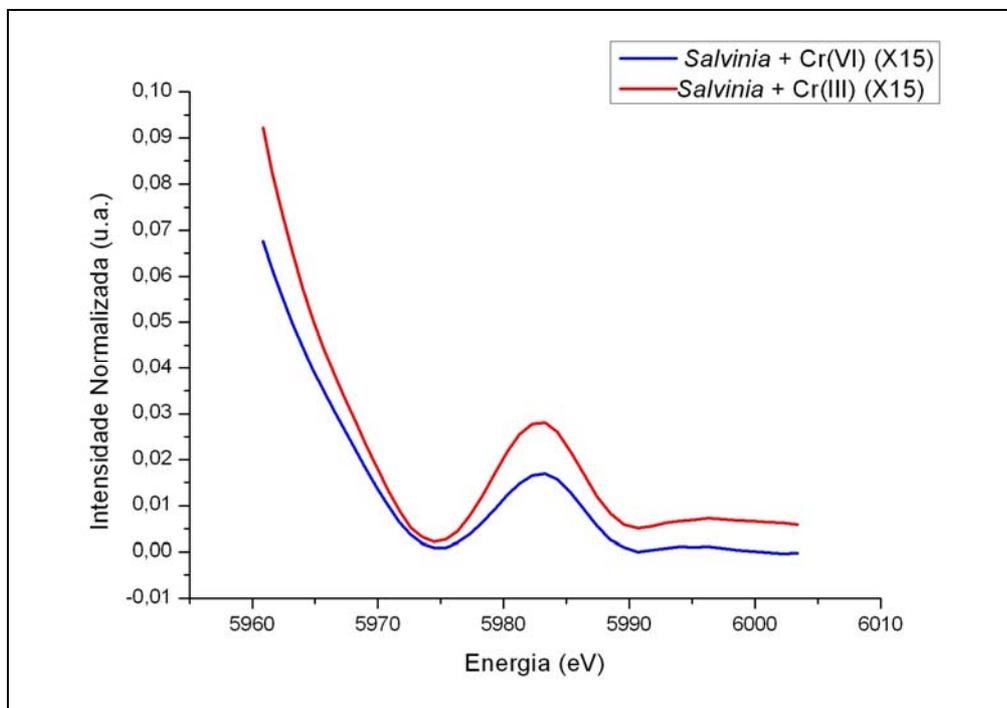


Figura 5.18 – Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ da *Salvinia auriculata* cultivada com Cr(III) e Cr(VI).

Na Figura 5.18 é possível perceber que as linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ da *Salvinia auriculata*, tanto aquela que recebeu Cr(III) durante o cultivo, como aquela que recebeu Cr(VI), estão localizadas na mesma região. Pode-se dizer então que, nos dois casos, o cromo possivelmente encontra-se no mesmo estado de oxidação na raiz da planta.

5.5.2. *Pistia stratiotes*

A superposição dos espectros da *Pistia stratiotes* cultivada com Cr(VI) e os espectros do Cr^0 , Cr(III) e Cr(VI) é mostrada na Figura 5.19.

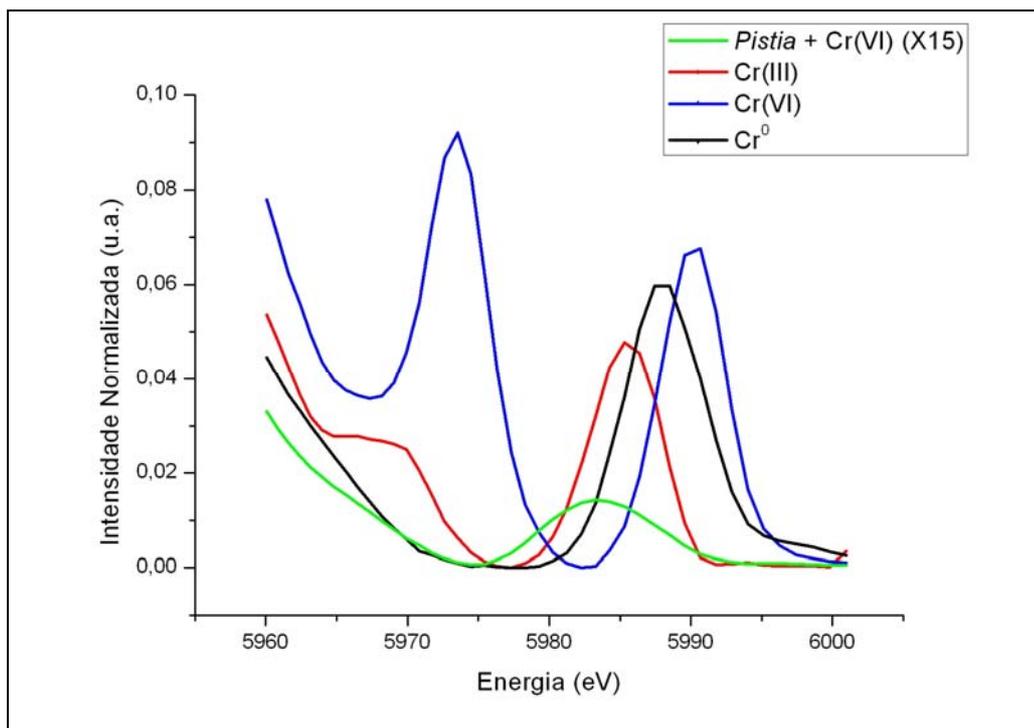


Figura 5.19 – Linhas espectrais K $\beta_{2,5}$ do Cr⁰, Cr(III), Cr(VI) e da *Pistia stratiotes* tratada com Cr(VI).

O espectro da *Pistia stratiotes* tratada com Cr(III) também foi superposto aos espectros do Cr⁰, Cr(III) e Cr(VI), para comparação, e é apresentado na Figura 5.20.

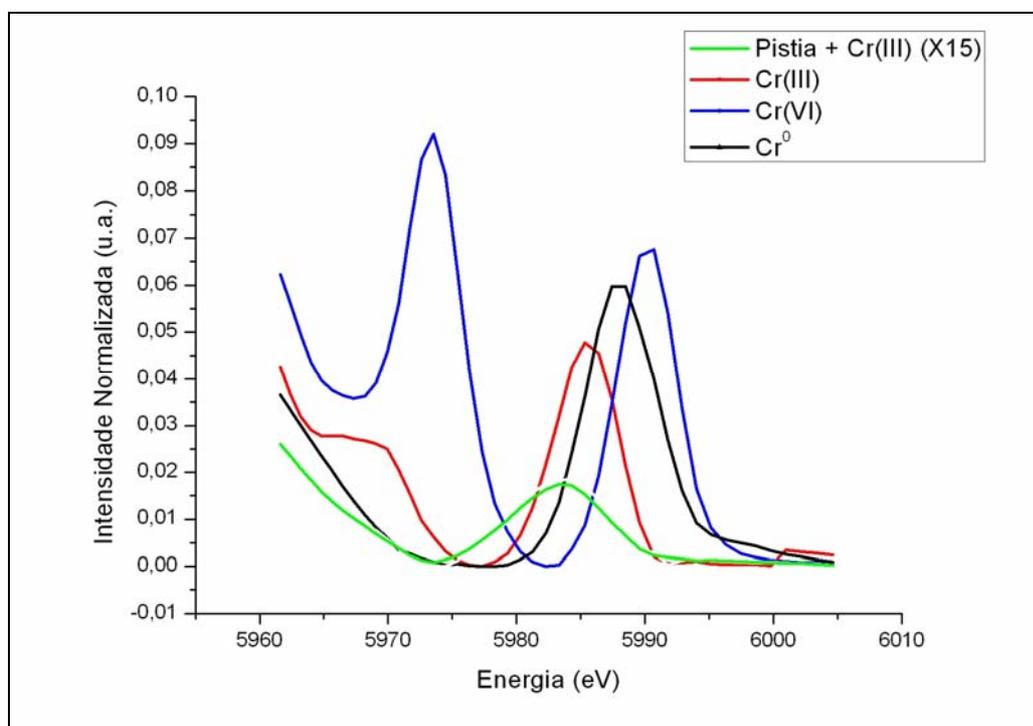


Figura 5.20 – Linhas espectrais K $\beta_{2,5}$ do Cr⁰, Cr(III), Cr(VI) e da *Pistia stratiotes* tratada com Cr(III).

A Figura 5.20 mostra a linha espectral $K\beta_{2,5}$ da *Pistia stratiotes* cultivada com Cr(VI) (linha na cor verde). É visível que o centróide dessa linha espectral (5983,64 eV) encontra-se próximo ao centróide da linha espectral $K\beta_{2,5}$ do Cr(III).

Comparando-se as Figuras 5.19 e 5.20, percebe-se nitidamente uma grande semelhança entre as linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ da *Pistia stratiotes* que recebeu Cr(III) e daquela que recebeu Cr(VI) durante o cultivo. E para melhor visualização dos espectros da *Pistia stratiotes* tratada com Cr(III) e Cr(VI), juntou-se ambos na Figura 5.21.

Um ajuste gaussiano das linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ forneceu os parâmetros apresentados na Tabela 5.9. Pela comparação entre os parâmetros das linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ para a *Pistia stratiotes* cultivada com Cr(III) e Cr(VI), percebe-se grande semelhança entre ambos, principalmente em relação à posição do centróide e a largura do pico.

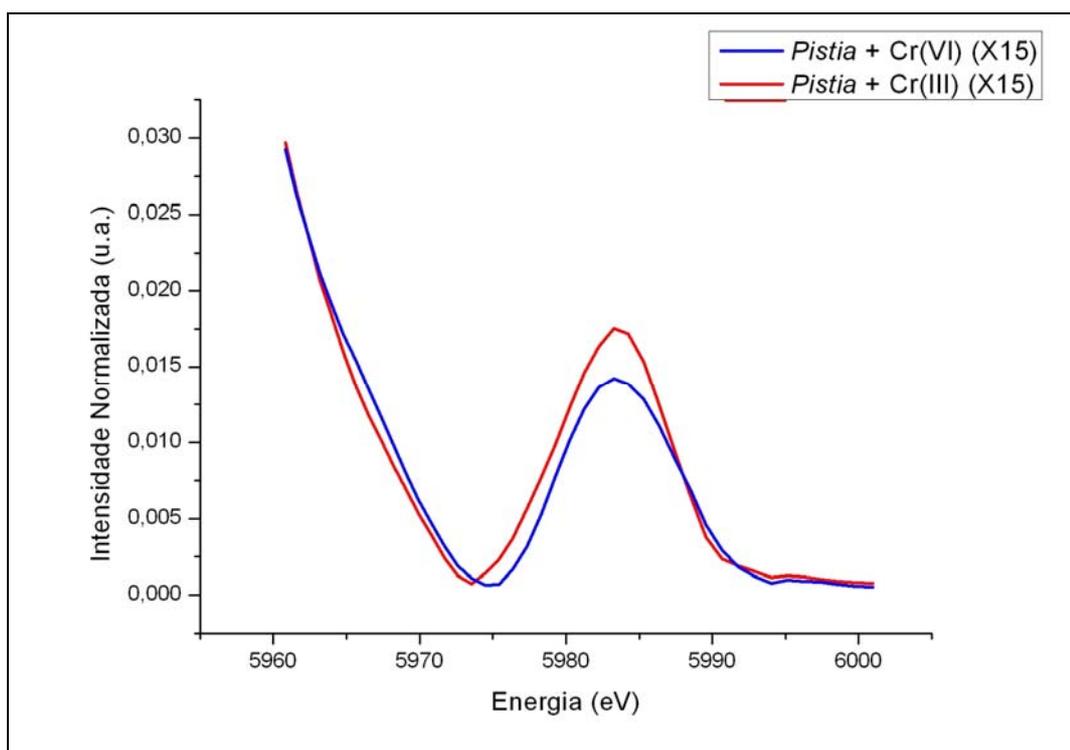


Figura 5.21 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ da *Pistia stratiotes* cultivada com Cr(III) e Cr(VI).

Por meio da Figura 5.21, observa-se que as linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ da *Pistia stratiotes* que foi cultivada com Cr(VI) ou com Cr(III) são semelhantes. Por meio dessas observações é possível dizer que a *Pistia stratiotes* fez a redução, se não

totalmente, da maior parte do Cr(VI) que recebeu durante o processo de bioacumulação.

5.5.3. *Eichhornia crassipes*

A superposição dos espectros da *Eichhornia crassipes* cultivada com Cr(VI) e os espectros do Cr⁰, Cr(III) e Cr(VI) é mostrada na Figura 5.22.

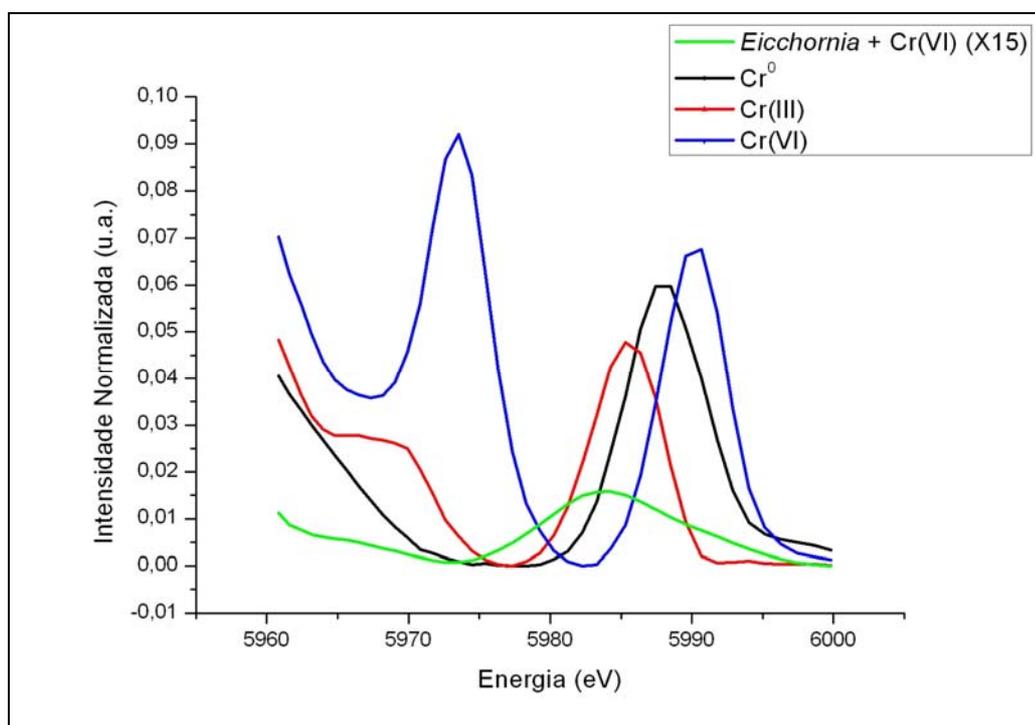


Figura 5.22 – Linhas espectrais K $\beta_{2,5}$ do Cr⁰, Cr(III), Cr(VI) e da *Eichhornia crassipes* tratada com Cr(VI).

Foi feita também a superposição dos espectros da *Eichhornia crassipes* cultivada com Cr(III) e os espectros do Cr⁰, Cr(III) e Cr(VI), que é mostrada na Figura 5.23.

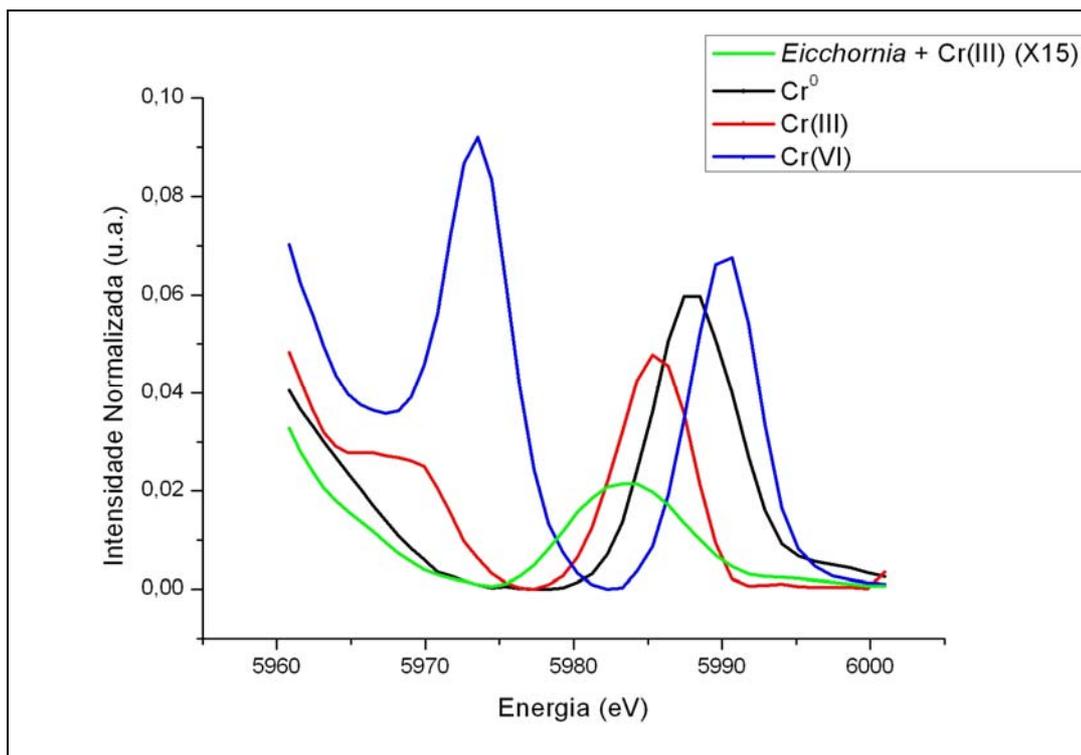


Figura 5.23 – Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ do Cr^0 , $Cr(III)$, $Cr(VI)$ e a *Eicchornia crassipes* tratada com $Cr(III)$.

A Figura 5.23 mostra que a linha espectral $K\beta_{2,5}$ da *Eicchornia crassipes* cultivada com $Cr(VI)$ apresenta um centróide na posição 5984,48 eV, que é bem próximo àquela do $Cr(III)$.

Novamente, comparando-se as Figuras 5.21 e 5.22, nota-se grande semelhança entre elas, principalmente quanto à posição do centróide. Para melhor comparação, a Tabela 5.8 apresenta os parâmetros obtidos por meio de um ajuste gaussiano das linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ para aquela que foi cultivada com $Cr(VI)$ e aquela que recebeu $Cr(III)$ durante o cultivo.

Pela comparação entre os parâmetros das linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ da *Eicchornia crassipes* cultivada com $Cr(III)$ e $Cr(VI)$, percebe-se grande semelhança entre eles. A largura do pico para a *Eicchornia crassipes* que recebeu $Cr(VI)$ durante o tratamento é maior. Na posição característica da linha espectral $K\beta_{2,5}$ do $Cr(VI)$ há um alargamento na referida linha da *Eicchornia crassipes*. Isso indica que ainda há $Cr(VI)$ presente na amostra. Porém, a maior quantidade é de $Cr(III)$, pela posição da linha espectral $K\beta_{2,5}$.

A Figura 5.24 mostra a superposição dos espectros da *Eicchornia crassipes* cultivada com $Cr(III)$ e $Cr(VI)$.

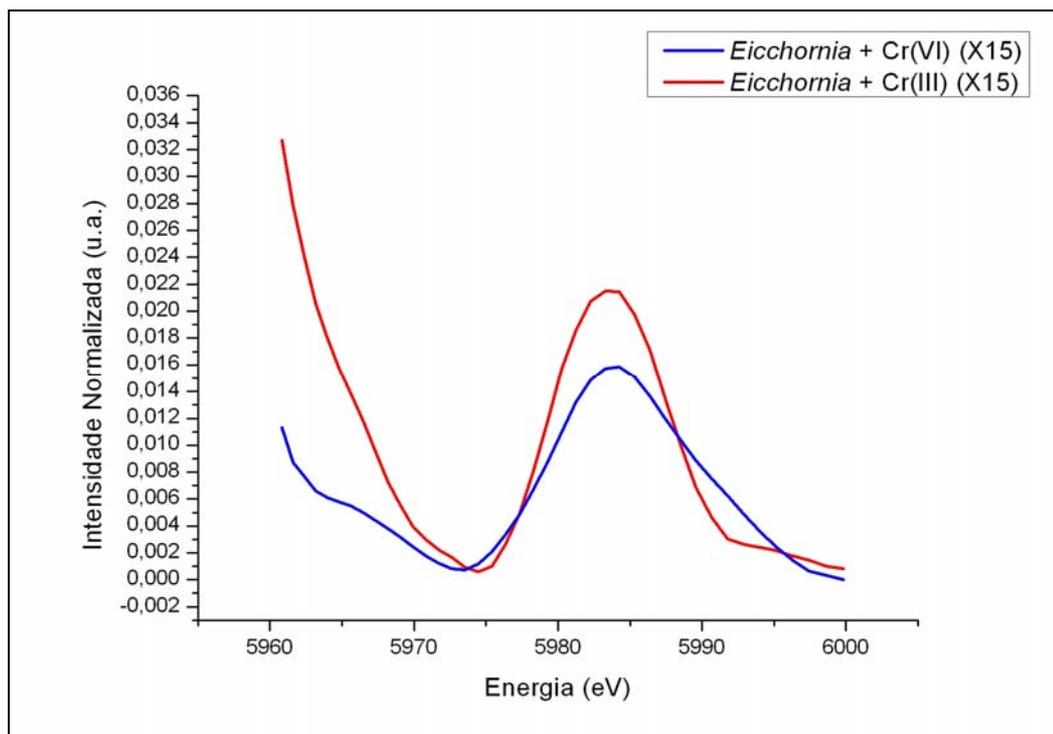


Figura 5.24 - Linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ da *Eicchornia crassipes* cultivada com Cr(III) e Cr(VI).

A Figura 5.24 mostra que os centróides da linha espectral $K\beta_{2,5}$ coincidem, evidenciando que o Cr(VI) foi reduzido à Cr(III) pela planta, encontrando-se no menor estado de oxidação.

5.5.4. Comparação das Intensidades Relativas das Linhas Cr-K β

Com o objetivo de comparar a eficiência das macrófitas aquáticas em estudo, fez-se um gráfico da Intensidade Relativa da linha espectral $K\beta_{2,5}$, obtida pela Equação 5.5, para cada espécie de planta, onde a $IK\beta_{2,5}$ refere-se a planta, enquanto que a $IK\beta_{1,3}$ refere-se ao Cr^0 , conforme apresentado na Figura 5.25.

Na Figura 5.25, verifica-se que a intensidade relativa da linha espectral $K\beta_{2,5}$ é independente do tipo de planta, pois essa grandeza é um parâmetro intrínseco do cromo que pode ser associado à probabilidade de transição eletrônica relativa entre as linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ e $K\beta_{1,3}$. A Tabela 5.7 apresenta os parâmetros da linha espectral $K\beta_{2,5}$ das macrófitas que foram tratadas com cromo (III) e (VI).

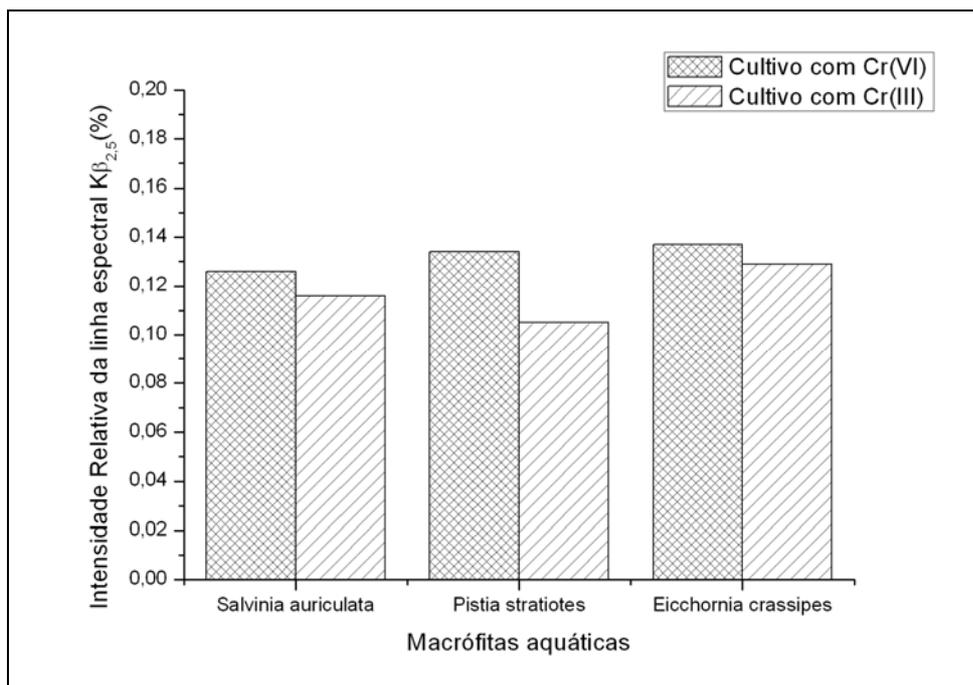


Figura 5.25 – Intensidade relativa da linha espectral $K\beta_{2,5}$ em função das macrófitas aquáticas cultivadas com Cr(III) e Cr(VI).

Tabela 5.7 - Parâmetros da linha espectral $K\beta_{2,5}$ do cromo nas macrófitas tratadas com cromo (III) e (VI).

Espécie	Tipo de tratamento	Área do pico	Centróide do pico (eV)	FWHM do pico (eV)
<i>S. auriculata</i>	Cr-III	0,0121 (5)	5982,84 (11)	5,30 (02)
	Cr-VI	0,0111 (3)	5982,86 (08)	5,50 (02)
<i>P. stratiotes</i>	Cr-III	0,0128 (2)	5983,64 (08)	6,87 (02)
	Cr-VI	0,0101 (2)	5983,30 (08)	6,61 (02)
<i>E. crassipes</i>	Cr-III	0,0131 (3)	5983,62 (08)	6,87 (02)
	Cr-VI	0,0124 (3)	5984,48 (12)	9,25 (15)

É importante ressaltar que, aparentemente, para todas as plantas, há um pequeno deslocamento em energia para a esquerda da linha espectral $K\beta_{2,5}$ em relação àquela do Cr(III) do óxido. Isso se deve ao fato de que, para obtenção do espectro do Cr(III) utilizou-se óxido de cromo (III) (Cr_2O_3), que tem o oxigênio como ligante. Segundo SAFONOV (2006), dependendo de qual elemento esteja ligado ao cromo, há um deslocamento em energia bastante evidente, principalmente da linha espectral $K\beta$, e um pouco menos evidente da linha $K\beta_{2,5}$. Dessa forma, é bem provável que, no interior da planta, os íons cromo não estejam se ligando apenas ao oxigênio, e sim a outros elementos, tais como enxofre existente na fitoquelatina, ou

outros elementos que seriam ligantes na planta. Para confirmação de tal hipótese, seria necessária uma investigação sobre os mecanismos que envolvem a adsorção/bioacumulação do metal nas plantas e os ligantes que existem na planta.

Para todas as plantas a largura da linha espectral $K\beta_{2,5}$ mostrou-se maior se comparada às dos óxidos. É pouco provável que esse aumento na largura da linha se deva à possibilidade de haver cromo em estados de oxidação intermediários (IV e V) no interior da planta no momento da coleta. Isso porque esses estados de oxidação não são estáveis. Uma possível explicação para esse alargamento da linha espectral $K\beta_{2,5}$ é que, como dito anteriormente, a linha espectral $K\beta_{2,5}$ pode sofrer um pequeno deslocamento em energia, dependendo de qual elemento esteja ligado ao metal. Na célula da planta, devem existir vários tipos de radicais que servem de ligante para o cromo. Se os íons metálicos do cromo se ligarem em radicais diferentes, o resultado será mais de uma linha espectral $K\beta_{2,5}$ (uma para cada tipo de ligante), e com pequenos deslocamentos em energia para cada uma delas. Como a resolução do analisador não permite fazer a distinção entre elas, pois esse deslocamento é bastante pequeno, o que se percebe é um pico alargado. No caso da *Eichhornia crassipes* que foi tratada com Cr(VI), o alargamento da linha espectral $K\beta_{2,5}$ na região de 5990 eV pode ser uma contribuição do Cr(VI) que ainda não foi reduzido.

Estas observações indicam que as macrófitas aquáticas estudadas foram capazes de reduzir o estado de oxidação do cromo, da sua forma mais tóxica (hexavalente) para uma menos tóxica (trivalente). É bem provável que o mecanismo envolvido no processo de absorção/adsorção do metal pela raiz e transporte do mesmo para as outras partes da planta seja semelhante para as três espécies de macrófitas estudadas. Ou seja, a redução ocorre nas raízes, e então o metal é translocado para as demais partes da planta já na sua forma reduzida.

5.6. Misturas Contendo Matriz e Óxidos de Cromo (III) e (VI)

A fim de determinar, de forma qualitativa a concentração de cromo depois de bioacumulado pela planta, em nível de comparação, fez-se a mistura de 90mg de matriz orgânica com os óxidos Cr_2O_3 e CrO_3 em diferentes proporções. A Tabela 5.8

apresenta as proporções de cada mistura, e a porcentagem de Cr(III) e Cr(VI) presente em cada amostra.

Para essas misturas foi feito também um ajuste gaussiano da linha espectral $K\beta_{2,5}$. O ajuste para cada mistura pode ser visto na Figura 5.26 e os parâmetros obtidos por este são apresentados na Tabela 5.9.

Tabela 5.8 - Proporções das misturas de 90mg de matriz e Cr(III) e Cr(VI).

Mistura	Matriz (mg)	Cr ₂ O ₃ (mg)	Conc. de Cr(III) (%)	CrO ₃ (mg)	Conc. de Cr(VI) (%)
1	90	3	2,05	7	3,64
2	90	5	3,42	5	2,60
3	90	7	4,79	3	1,56

Tabela 5.9 - Parâmetros dos picos $K\beta_{2,5}$ para as misturas de 90mg de planta e óxidos de Cr(III) e Cr(VI).

Contribuição(%)		Ajuste Gaussiano ($K\beta_{2,5}$)				Área ($K\beta_{2,5}$)	
		Cr(III)		Cr(VI)			
Cr(III)	Cr(VI)	Centróide (eV)	FWHM (eV)	Centróide (eV)	FWHM (eV)	Cr(III)	Cr(VI)
2,05	3,64	5984,81 (02)	2,82 (5)	5989,08 (03)	4,91 (04)	0,022 (15)	0,056 (1)
3,42	2,60	5985,78 (04)	4,38 (7)	5990,42 (07)	3,24 (11)	0,055 (10)	0,018 (9)
4,79	1,56	5985,56 (10)	4,47 (2)	5989,11 (15)	0,57 (07)	0,081 (04)	0,005 (1)

Com a área da linha espectral $K\beta_{2,5}$ e a concentração de cromo presente em cada amostra, construiu-se o gráfico da área da referida linha em função da concentração de Cr(III), que é apresentado na Figura 5.27.

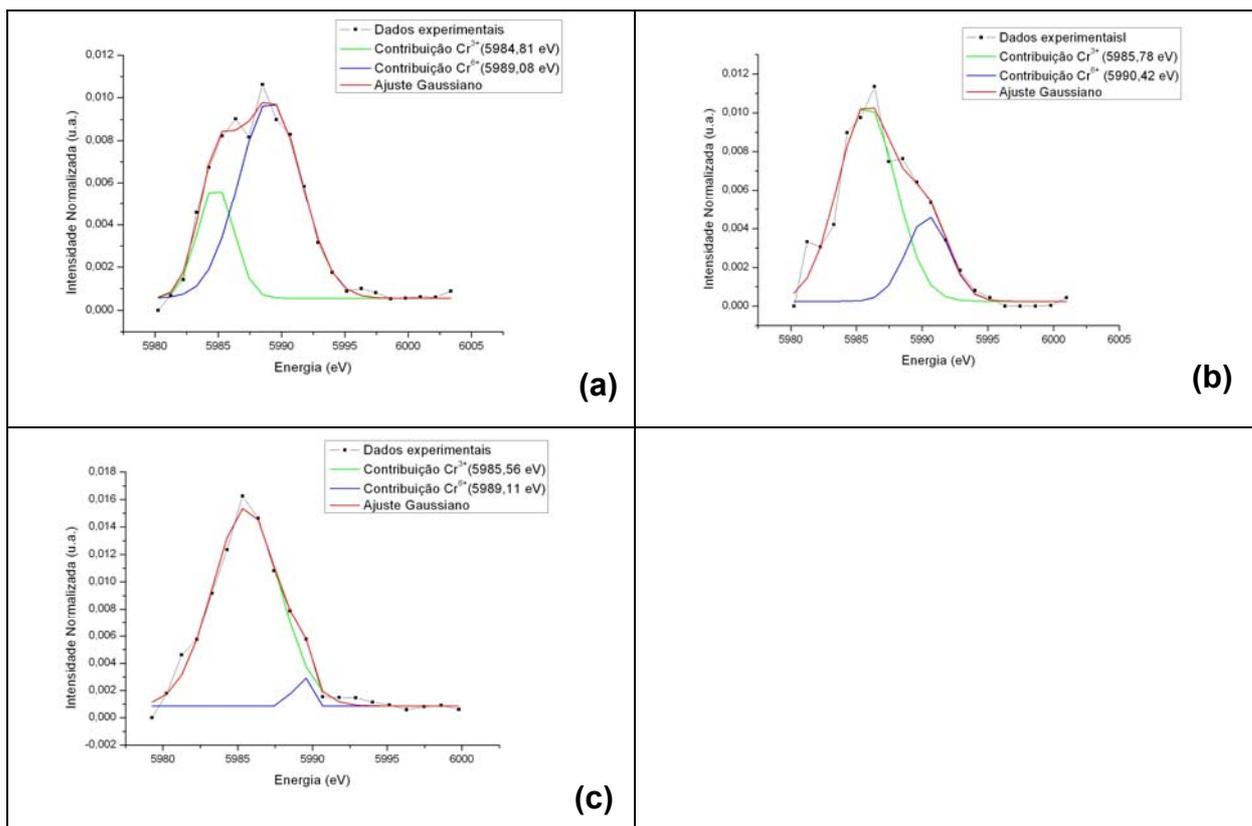


Figura 5.26 - Linha espectral Cr-K $\beta_{2,5}$ para misturas contendo 90mg da macrófita *Salvinia auriculata* e diferentes proporções de Cr(III) e Cr(VI). (a) 2,05 mg de Cr(III) e 3,64 mg de Cr(VI); (b) 3,42 mg de Cr(III) e 2,60 mg de Cr(VI); (c) 4,79 mg de Cr(III) e 1,56mg de Cr(VI).

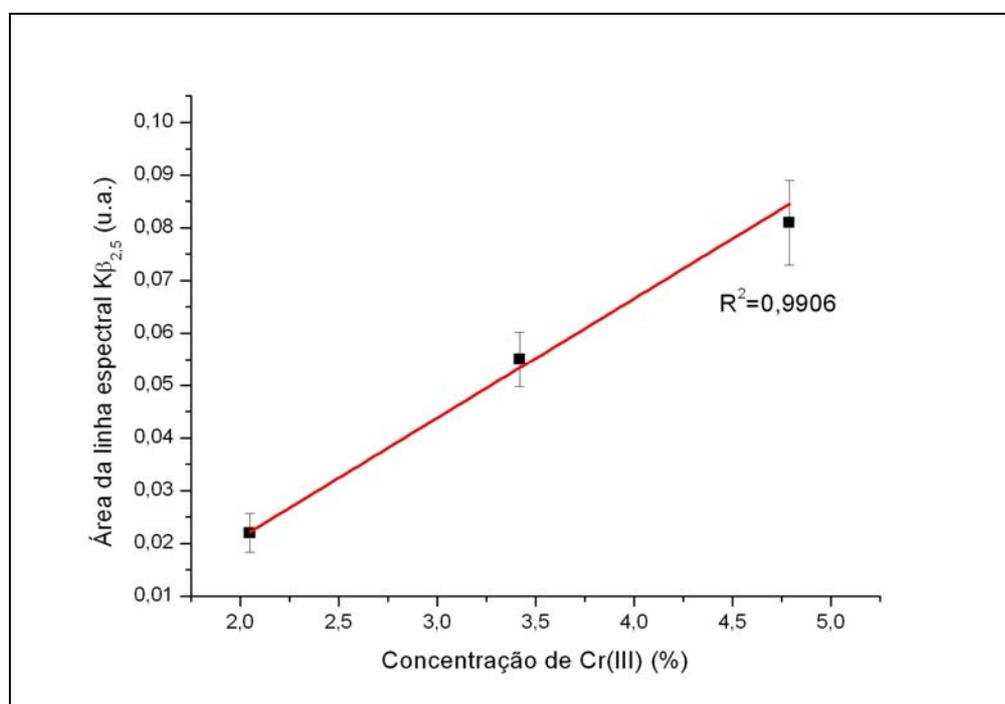


Figura 5.27 – Comportamento da área líquida da linha espectral Cr-K $\beta_{2,5}$ em função da concentração de Cr(III) nas misturas contendo diferentes proporções de Cr $_2$ O $_3$ e planta.

Por apresentar um melhor coeficiente de correlação linear, utilizou-se o gráfico da área da linha espectral $K\beta_{2,5}$ em função da concentração de Cr(III) para a determinação da concentração do cromo nas amostras das plantas cultivadas com o metal nos estados de oxidação (III) e (VI). As concentrações determinadas são apresentadas na Tabela 5.10.

Tabela 5.10 - Concentração de cromo acumulado nas macrófitas aquáticas.

Espécie	Tipo de tratamento	Área	Cr acumulado (%)
<i>Salvinia auriculata</i>	Cr-III	0,0121	1,12
	Cr-VI	0,0111	1,02
<i>Pistia stratiotes</i>	Cr-III	0,0128	1,20
	Cr-VI	0,0101	0,94
<i>Eichhornia crassipes</i>	Cr-III	0,0131	1,22
	Cr-VI	0,0124	1,15

Os dados apresentados na Tabela 5.10 mostram que as plantas acumularam cerca de 1,0% (equivalente a $10^4 \mu\text{g g}^{-1}$ de biomassa seca) de cromo durante 27 dias de experimento. Levando em conta que a quantidade de umidade removida na secagem das raízes foi da ordem de 94%, pode-se dizer que a concentração de cromo na biomassa úmida (raízes) foi de 0,06 %; ou seja, $600 \mu\text{g g}^{-1}$ de raiz úmida. Os dados apresentados na Tabela 5.11, mostram a concentração inicial de íons de cromo que cada espécie recebeu durante o processo de bioacumulação. Apresenta também a massa das raízes de cada planta depois da coleta das mesmas, e a massa de cromo acumulada por cada uma delas durante o experimento. Depois de alguns cálculos, utilizando a Equação 5.6, foi possível determinar a concentração aproximada de cromo nas raízes das plantas estudadas, e conhecer a porcentagem de remoção de cromo da solução inicial realizada por cada uma delas.

$$\text{remoção}(\%) = \left(\frac{m_m(\text{mg}) \cdot 6 \cdot 10^{-3}(\text{mg})}{5(\text{L}) \cdot C_0(\text{mg/L})} \right) \cdot 100$$

Equação 5.6 – Cálculo da porcentagem de cromo removido pelas macrófitas.

no qual m_m é a massa da raiz da macrófita, C_0 é a concentração inicial de cromo na solução de cultivo, 5 litros é o volume da solução de cultivo em cada recipiente, e 6.10^{-3} é a concentração de cromo na raiz úmida.

Tabela 5.11 – Remoção de cromo pelas macrófitas aquáticas estudadas.

Espécie	Concentração Inicial de Cromo (mgL^{-1})	Massa da raiz (g)	Massa de cromo na raiz (mg)	Concentração de cromo na raiz (mgL^{-1})	Remoção (%)
<i>E. crassipes</i>	5,0	36-40	21-24	4,3-4,8	86-98
<i>S. auriculata</i>	3,0	16	9,5	1,9	64
<i>P. stratiotes</i>	3,0	22	13,2	2,6	88

Os valores apresentados na Tabela 5.11 indicam que as macrófitas aquáticas possuem um enorme potencial de remoção de cromo, e o bioacumula nas suas raízes. Este fato mostra que as três espécies de macrófitas podem ser utilizadas como fitorremediadoras de efluentes contaminados por cromo, pois convertem o cromo de uma forma tóxica (hexavalente) para outra menos tóxica (trivalente), e apresentam grande eficiência na remoção do mesmo.

6. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

6.1. Conclusões

O estudo da influência do pH no estado de oxidação do cromo na solução de cultivo das plantas mostrou que independente do pH ácido, o Cr(VI) não sofre redução na solução nutritiva onde as macrófitas foram cultivadas, indicando que a redução do Cr(VI) ocorre no interior da planta.

A Espectroscopia de Raios-X de Alta Resolução em Energia (HR-XRF) mostrou-se uma poderosa ferramenta na análise do estado de oxidação do cromo nas macrófitas aquáticas *Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* e *Eicchornia crassipes*. A posição em energia das linhas espectrais $K\beta''$ e $K\beta_{2,5}$ trouxe informações do estado de oxidação do metal. Por meio da técnica HR-XRF, com resolução do analisador de 1,6 eV, foi possível observar a separação dessas linhas, e identificá-las.

Para comparação das linhas espectrais do cromo adsorvido/bioacumulado pelas plantas, fez-se a irradiação dos óxidos de cromo (III) e (VI) (Cr_2O_3 e CrO_3) e cromo metálico, para serem usados como padrões. Os resultados das análises de tais linhas espectrais estão de acordo com os apresentados na literatura.

Através da superposição dos espectros das plantas cultivadas com Cr(III) e Cr(VI), e também dos padrões de cromo, verificou-se que as linhas espectrais das macrófitas cultivadas com Cr(VI) foram semelhantes às daquelas cultivadas com Cr(III).

A posição em energia para ambas as estruturas espectrais era a mesma, bem como a área e a largura da linha espectral quando comparadas na mesma espécie de planta. Quando comparadas aos padrões de cromo, também se mostraram semelhantes àquela do Cr(III), e bastante distintas daquela de Cr(VI). A *Salvinia auriculata* e a *Pistia stratiotes* apresentam a largura da linha espectral $K\beta_{2,5}$ semelhante. Já a *Eicchornia crassipes* apresentou a linha espectral $K\beta_{2,5}$ bem mais alargada.

O aumento na largura das linhas espectrais $K\beta_{2,5}$ do cromo nas raízes das plantas em relação a mesma linha dos óxidos de cromo se deve ao fato de que o cromo deva estar se ligando a outros elementos na planta, que não seja o oxigênio,

resultando em vários picos com pequenos deslocamentos em energia, e que pela superposição de linhas espectrais vindas de estruturas moleculares ligadas ao Cromo, deve-se esperar um pico bem alargado.

Através das amostras das misturas de matriz orgânica e óxidos de cromo (III) e (VI) em diferentes proporções, foi possível determinar, a concentração de cromo adsorvido pela macrófita. Os valores encontrados são condizentes com os reportados na literatura, mostrando que as macrófitas aquáticas *Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* e *Eicchornia crassipes* são bioacumuladoras de cromo. Sendo assim, essas macrófitas podem ser utilizadas, como um método alternativo, para o tratamento de efluentes contaminados por Cr(III) ou principalmente, por Cr(VI), uma vez que as mesmas são capazes de bioacumular cromo em suas raízes e folhas e reduzir o estado de oxidação do metal, de uma forma altamente tóxica para outra menos tóxica.

6.2. Sugestões

Analisando os resultados obtidos no presente trabalho, observou-se a necessidade de estudos complementares. Como trabalho futuro, é sugerida uma simulação em laboratório, dos possíveis ligantes da planta com o cromo. Para essa simulação, seria necessário identificar e, se possível, isolar cada sítio ativo ao qual o metal se liga quando em contato com a planta. Depois, em separado, ligar o metal a esse radical e fazer a análise das linhas espectrais $K\beta$ e $K\beta_{2,5}$, como a posição em energia e a largura da linha. Na seqüência, fazer a comparação dos espectros obtidos com os das plantas que passaram pelo processo de bioacumulação.

Outro possível trabalho seria identificar se o processo de redução do cromo ocorre por um mecanismo biológico ou puramente físico. Para tal, seria necessário fazer a adsorção de Cr(VI) e Cr(III) pela biomassa da macrófita morta, nas concentrações de Cromo detectadas nas plantas vivas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSU, Z.; AÇIKEL, U.; KUTSAL, T. Investigation of Simultaneous Biosorption of Copper (II) and Chromium (VI) on Dried *Chlorella vulgaris* from Binary Metal Mixtures: Application of Multicomponent Adsorption Isotherms. **Separation Science and Technology**, 34. p.501-524, 1999.

ALDRICH, M. V.; GARDEA-TORRESDEY, J. L.; PERALTA-VIDEA, J. R.; PARSONS, J. G. Uptake and Reduction of Cr(VI) to Cr(III) by Mesquite (*Prosopis* spp.): Chromate-Plant Interaction in Hydroponics and Solid Media Studied Using XAS. **Environ. Sci. Technol**, 37. p.1859-1864, 2003.

ALLEN, H. E.; HANSEN, D. J. The importance of trace metal speciation to water quality criteria. **Water Environment Research**, 68. p.42-54, 1996.

ANDREW, R. W.; BIESINGER, K. E.; GLASS, G. E. Effects of inorganic complexing on the toxicity of copper to *Daphnia magna*. **Water Research**, 11. p.309-315, 1977.

BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Respuesta de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo Planta**, n.2. p.345, 1992.

BARCELOUX, D. G. Chromium. **Clinical Toxicology**, 37, p.173-194, 1999.

BAVARESCO, A. S. L. **Lagoas de Agupés no Tratamento Terciário de Dejetos de Suínos**. Florianópolis, 1998. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção da UFSC.

BAYER, V. **Estudo da Extração de Cromo Hexavalente, Pela Técnica de Membranas Líquidas Surfatantes, Visando o Tratamento de Efluentes Líquidos de Cortumes**. Belo Horizonte, 2005. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFMG.

BERGMANN, U., HORNE, C. R., COLLINS, T. J., WORKMAN, J. M., CRAMER, S. P. Chemical dependence of interatomic X-ray transition energies and intensities – a study of Mn K β '' and K β _{2,5} spectra. **Chemical Physics Letters**, 302. p.119-124, 1999.

BEYRUTH, Z. Macrófitas aquáticas de um lago marginal ao rio Embumirim, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 26. n. 4, p.272-282, 1992.

BORGES, D. L. G.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B. W.; HEITMANN, U. Fundamentos da Espectrometria de Fonte Contínua. **Revista Analytica**, 2005.

BORGMANN, U.; NORWOOD, W. P.; CLARK, C. Accumulation, regulation and toxicity of copper, zinc, lead and mercury in *Hyalella azteca*. **Hydrobiologia**, 259. p.79-89, 1993.

BOUDOU, A.; RIBEIRE, F. **Aquatic ecotoxicology**: fundamental concepts and methodologies. Vol. II. Boca Raton, FL: CRC Press, 1989.

BRADY, J.E.; HUMILSTON, G.E. **Química Geral**. Rio de Janeiro: LTC, 1981.

BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. A. **Manual de Tratamento de Águas Residuárias**. São Paulo: CETESB, 1993.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA. **Resolução nº 357/2005**. Data da legislação: 17/03/2005 - Publicação DOU 18/03/2005.

_____. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA. **Resolução nº 20/1986**. Data da legislação: 18/06/1986. Publicação DOU 30/07/1986.

BRIGDEN, K.; STRINGER, R.; LABUNSKA, I. **Poluição por organoclorados e metais pesados associada ao fundidor de ferro da Gerdau em Sapucaia do Sul, Brasil**. Laboratórios de Pesquisa do Greenpeace, Departamento de Ciências Biológicas. Universidade de Exeter, Exeter, Reino Unido, 2000.

BRIX, H.; SCHIERUP, H.H. The use of macrophytes in water-pollution control. **Ambio**, 18. p.100-107, 1989.

BULUT, V.N.; DURAN, C.; TUFEKCI, M.; ELCI, L.; SOYLAK, M. Speciation of Cr(III) and Cr(VI) after column solid phase extraction on Amberlite XAD-2010. **Journal of Hazardous Materials**, 117. p.112-117, 2007.

CHAVES, L. H. G. The role of green rust in the environment: a review. **Revista Brasileira de Eng. Agrícola e Ambiental**, 9, n.2, 2005.

CHOO, T.P.; LEE, C.K.LOW, K.S.; HISHAMUDDIN, O. Accumulation of chromium (VI) from aqueous solutions using water lilies (*Nymphaea spontanea*). **Chemosphere**, 62, p.961-967, 2006.

CHOUERI, R. B. **Consumo e influência de exopolissacarídeos de *Anabaena spiroides* (Cyanophyceae) sobre a toxicidade e captura do cobre em *Ceriodaphnia cornuta* (Cladocera, Daphnidae)**. São Carlos, 2004. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos.

CLARK, R. B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 23. p.458-460, 1975.

CLEMENS, S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. **Planta**, 212. p.475-486, 2001.

COSSICH, E. S. **Biossorção de cromo (III) por biomassa da alga marinha *Sargassum sp.*** Campinas, 2000. Tese de Doutorado – Universidade de Campinas.

CUNNINGHAM, S. D., Anderson, T. A., Schwab, P. and Hsu, F. C. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. **Adv. Agron.** 56. p.55, 1996.

DALBA, G. **La Fisica dei Raggi X**. Dipartimento di Fisica, Università di Trento, 1999-2000.

DUSHENKOV, V.; KUMMAR, P.B. A. N.; MOTTO, H.; RASKIN, I. Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. **Environ. Sci. Technol.** 29. p.1239, 1995.

EPSTEIN, E. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, p.341, 1975.

ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; PALÁCIO, S. M.; SZYMANSKI, N.; PAVAN, G. L.; DOTTO, J.; CASTRO, J. K. D.; ROSSI, F. L.; WELTER, R. A.; SILVA, E. A.; MÓDENES, A. N.; RIZZUTTO, M. A. Removal potential of chromium ions by the aquatics Macrophytes *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* and *Salvinia sp* from test water. **Int. Nucleus-Nucleus**, 2006.

ESPINOZA-QUIÑONES, F. R. **Estudo da Bioacumulação de Cromo pelas Macrófitas Aquáticas *Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes*, Usando Técnicas Espectrométricas de Raios x**. Projeto de Pesquisa - Unioeste - Professor Ajunto, 2007.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos de limnologia**. 2^a ed. - Rio de Janeiro: Interciência. p.298-299, 1998.

FERREIRA, A. D. Q. O Impacto do Cromo em Sistemas Biológicos. **Química Nova**, 25 n.4, 2002.

FLATHMAN, P. E.; LANZA, G. R. Phytoremediation: current views on an emerging green technology. **J. Soil Contam.**, 7, p. 415–432, 1998.

FORNO, I. W.; HARLEY, K. L. S. The occurrence of *Salvinia molesta* in Brazil. **Aquatic Botany**, 6. p.185-187, 1979.

GADD, G. M. Biosorption. **Chemistry & Industry**, 2. p.421-426, 1990.

GAMBLIN, S. D.; URCH, D. S. Metal K β X-ray emission spectra of first row transition metal compounds **Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena**, 113. p.179-192, 2001.

GARDNER, J. L.; AL-HAMDANI, S.H. Interactive effects of aluminum and humic substances on salvinia. **Journal of Aquatic Plant Management**, 35. p.30-34, 1997.

GONÇALVES-JUNIOR, A. C.; LINDINO, C. A.; ROSA, M. F.; BARICCATTI, R.; GOMES, G. D. Remoção de metais pesados tóxicos cádmio, chumbo e cromo em biofertilizante suíno utilizando macrófita aquática (*Eichhornia crassipes*) como bioindicador. **Acta Sci. Technol.**, 30. n. 1, p.9-14, 2008.

- GORBI, G.; CORRADI, M. G.; INVIDIA, M.; RIVARA, L.; BASSI, M. Is Cr (VI) toxicity to *Daphnia magna* modified by food availability or algal exudates? The hypothesis of a specific chromium/algae/exudates interaction. **Water Research**, 36. p.1917-1926, 2002.
- GRAEFF, W.; MATERLIK, G. Millielectronvolt energy resolution in Bragg backscattering. **Nucl. Instrum. Methods**, 195. p.97-103, 1982.
- GRILL, E., WINNACKER, E. L., ZENK, M. Phytochelatins: the principal heavy-metal complexing peptides of higher plants, **Science**, 230. p.674-676, 1985.
- HAIDER, S. Z.; MALIK, K. M. A.; RAHMAN, M. M. Laboratory model experiments for the synthesis of some bio-inorganic complexes presumably involved in the metal uptake by *water hyacinth*, **Conference on Water Hyacinth**. p.351-360, 1983.
- HELSEN, J. A.; KUCZUMOW, A. In: R.E. Van Grieken, A.A. Markowicz (Eds.), **Handbook of X-ray Spectrometry**, Marcel Dekker Inc., New York, 1992.
- HUBBELL, J. H.; SELTZER, S. M. Tables of X-Ray Mass Attenuation Coefficients and Mass Energy-Absorption Coefficients. **Physics Laboratory**, 1996.
- IHARA, J.; OMORI, T.; YOSHIHARA, K.; ISHII, K. Chemical effects in chromium L X-rays. **Nucl. Instrum. Meth. B.**, 75. p.32, 1993.
- IRGANG, B. E.; GASTAL Jr., C. V. S. **Macrófitas aquáticas da planície costeira do RS**. Porto Alegre: Botânica/UFRGS, p.290, 1996.
- JENKINS, R.; SNYDER, R. L. Introduction to X-Ray Powder Diffractometry. **Chemical Analysis**, 138. p.403, 1996.
- KAWAI, H.; GRIECO, V. M. Utilização do aguapé para tratamentos de esgoto doméstico. Estabelecimento de critérios de dimensionamento de lagoa de aguapé e abordagem de alguns problemas operacionais. **Revista DAE**, n.135, p.79-90, 1983
- KLUMPP, A.; BAUER, K.; FRANZ-GERSTEIN, C.; MENEZES, M. Variation of nutrient and metal concentrations in aquatic macrophytes along the Rio Cachoeira in Bahia (Brazil). **Environment International**, 28. p.165-171, 2002.
- KOIVISTO, S.; KETOLA, M.; WALLS, M. Comparison of five cladoceran species in short- and long term copper exposure. **Hydrobiologia**, 248, p.125-136, 1992.
- KORTRIGHT, J. B.; THOMPSON, A. C. In: A. C. Thompson, D. Vaughan (Eds.), X-Ray Data Booklet, second ed., **Lawrence Berkeley National Laboratory**, Berkeley, 2001.
- KRISHNAN, A. A.; KRISHNAKUMAR, P.K.; RAJAGOPALAN, M. *Trichodesmium erythraeum* (Ehrenberg) bloom along the southwest coast of India (Arabian Sea) and its impact on trace metal concentrations in seawater. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 17, p.641-646, 2007.

KÜPPER, K. **Electronic and magnetic properties of transition metal compounds: An x-ray spectroscopic study**. Osnabrück, 2005. Tese de doutorado - Department of Physics - Universität Osnabrück.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Paulo: Rima Artes e Textos, 2000.

LEE, T. A.; HARDY, J. K. Copper uptake by the water hyacinth. **Journal of Environmental Science and Health**, 22. n.2, p.141-160, 1987.

LEWIS, M. A. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. **Environmental Pollution**, 87, p.319-336, 1995.

LIU, K. J.; JIANG, J.; SHI, X.; GABRYS, H.; WALCZAK, T.; SWARTZ, H. M. Low frequency EPR study of chromium (V) formation from chromium (VI) in living plants. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 206. p. 829-834, 1995.

LOBINSKI, R.; MARCZENKO, Z. Recent Advances in Ultraviolet-Visible Spectrophotometry. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**. 23. p.55-111, 1992.

LOMBARDI, A. T.; VIEIRA, A. A. H.; SARTORI, L. A. Mucilaginous capsule adsorption and intracellular uptake of copper by *Kirchneriella aperta* (Chlorococcales), **Journal of Phycology**, 38. p. 332-337, 2002.

LUOMA, S. N. Bioavailability of trace metals to aquatic organisms: a review. **Science of the Total Environment**, 28. p.1-22, 1983.

LYON, G. L.; PETERSON, P. J.; BROOKS, R. R. Chromium-51 distribution in tissues and extracts of *Leptospermum scoparium*. *Planta*, 88, p.282, 1969.

LYTLE, C. M.; SMITH, B. N. seasonal nutrient cycling in *Potamogeton pectinatus* of the lower provo river. **Great Basin Nature**, 55. p. 164, 1995.

LYTLE, C. M.; LYTLE, F. W.; SMITH, B. N. Use of XAS to Determine the Chemical Speciation of Bioaccumulated Manganese in *Potamogeton pectinatus*. **J. Environ. Qual**, 25. p.311, 1996.

LYTLE, C. M.; LYTLE, F. W.; YANG, N.; QIAN, J-H.; HANSEN, D.; ZAYED, A.; TERRY, N. Reduction of Cr(VI) to Cr(III) by Wetland Plants: Potential for In Situ Heavy Metal Detoxification. **Environ. Sci. Technol**, 32. p. 3078-3093, 1998.

MA, M.; ZHU, W.; WANG, Z.; WITKAMP, G. J. Accumulation, assimilation and growth inhibition of copper on freshwater alga (*Scenedesmus subspicatus* 86.81 SAG) in the presence of EDTA and fulvic acid, **Aquatic Toxicology**, 63. p.221-228, 2003.

MAITANI, T.; KUBOTA, H.; SATO, K.; YAMADA, T. The composition of metals bound to Class III Metallothionein (Phytochelatin and its Desglycyl Peptide) *Rubia tinctorum*, **Plant Physiol.**, 110. p.1145-1150, 1996.

MATOS, W. O. **Estudos de procedimentos analíticos para determinação de compostos de Cr(III) e Cr(VI) em amostras sólidas**. São Carlos, 2006. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos.

MEADOR, J. P. The interaction of pH, dissolved organic carbon, and total copper in the determination of ionic copper and toxicity. **Aquatic Toxicology**, 19. p.13-32, 1991.

MESQUITA, L. M. S. **RT0020/95, CETEM/CNPq**, Rio de Janeiro, p.38, 1995.

MICERA, G.; DESSI, A. Chromium adsorption by plant roots and formation of long-lived Cr(V) species: an ecological hazard? **J. Inorg. Bioch.** 34, p.157, 1988.

MIKALSEN, A.; ALEXANDER, J.; WALLIN, J.; INGELMAN-SUNDBERG, M.; ANDERSEN, R. A. Reductive metabolism and protein binding of chromium (VI) by P-450. **Carcinogenesis**, 12. p. 825, 1991.

MUKHERJEE, A. B. Chromium in the environment of Finland. **The Science of the Total Environment**, 217. p. 9-19, 1998.

PARK, D.; YON, Y-S.; PARK, J. M. Reduction of hexavalent chromium with the brown sea weed *Ecklonia* biomass. **Environ. Sci. Technol**, 38, p.4860-4864, 2004.

PARK, D.; YON, Y-S.; PARK, J. M. Studies on hexavalent chromium biosorption by chemically-treated biomass of *Ecklonia* sp. **Chemosphere**, 60, p.1356-1364, 2005.

PAULINO, W. R. **Educação Ambiental**. São Paulo: Ática, 1993.

PEDRALLI, G.; MEYER, S. T. Levantamento de vegetação aquática (“macrófitas”) e das florestas de galeira na área da Usina Hidrelétrica de Nova Ponte, Minas Gerais. **Bios**, 4. n.4, p.49-60, 1996.

PEIXOTO P. H. P.; PIMENTA D. S.; ANTUNES F. Efeitos do flúor em folhas de plantas aquáticas de *Salvinia auriculata*. **Pesq. agropec. bras.**, 40. n.8, p.727-734, 2005.

PERÄNIEMI, S.; AHLGRÉN, M. Separation of microgram quantities of Cr(III) and Cr(VI) in aqueous solutions and determination by energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 315. p.365-370, 1995.

PEREIRA, E. S. **Emprego da fluorescência de raios x por dispersão de energia na determinação de cromo (III) e cromo (VI) em águas naturais e residuais**. Campinas, 1998. Dissertação de mestrado. Faculdade de Engenharia Civil da Unicamp.

PERKAMPUS, H. H. **UV-VIS Spectroscopy and its Applications**. Springer-Verlag: Berlin, 1992.

PINTO, C. L. R.; CAÇONIA A.; SOUZA, M. M. Utilization of water hyacinth for removal and recovery of silver from industrial wastewater. **Water Science Technology**, 19. n.10, p.89, 1987.

RAINBOW, P. S.; WHITE, S. L. Comparative strategies of heavy metal accumulation by crustaceans: Zn, Cu and Cd in a decapod, an amphipod and a barnacle. **Hydrobiologia**, 174. p.245-262, 1989.

REDDY, G. N., PRASAD, M. N. V. Heavy metal-binding proteins/peptides: occurrence, structure, synthesis and functions. A review, **Environmental and Experimental Botany**, 30. n.3, p.251-264, 1990.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para Aumento de Sensibilidade em Espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, 27. n.5, 2004.

RÖMHELD, V.; MARSHNER, H. Mechanism of Iron Uptake by Peanut Plants : I. Fe^{III} Reduction, Chelate Splitting, and Release of Phenolics. **Plant Physiol.** 71, p.949, 1983.

RODRIGUES, R. F.; TREVENZOLI, R. L.; SANTOS, L. R.G.; LEÃO, V. A.; BOTARO, V. R. Adsorção de metais pesados em serragem de madeira tratada com ácido cítrico. **Eng. Sanit. Ambient.**, 11, n.1, p.21-26, 2006.

SALT, D. E.; PICKERING, I. J.; PRINCE, R. C.; GLEBA, D.; DUSHENKOV, S.; SMITH, R. D.; RASKIN, I. Metal accumulation by aquacultured seedlings of Indian mustard **Environ. Sci. Technol.**, 31. p.1636, 1997.

SAFONOV; V. A.; VYKHODTSEVA, L. N.; POLUKAROV, Y. M.; SAFONOVA, O. V.; SMOLENTSEV, G.; SIKORA, M.; EECKHOUT, S. G.; AND GLATZEL, P. Valence-to-Core X-ray Emission Spectroscopy Identification of Carbide Compounds in Nanocrystalline Cr Coatings Deposited from Cr(III) Electrolytes Containing Organic Substances. **J. Phys. Chem. B**, 110. n. 46, p.23192 -23196, 2006.

SCHNEIDER, I. A. H. **Biossorção de Metais Pesados com a Biomassa de Macrófitos Aquáticos**. Porto Alegre, 1995. Tese de Doutorado – Escola de Engenharia, programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SCHNEIDER, I.A.H.; RUBIO, J.; SMITH, R.W. Biosorption of metals on to plant biomass. Exchange Adsorption or Surface Precipitation? **International Journal of Mineral Processing**, 62. p.111-120, 2001.

SCHNEIDER, I.A.H.; RUBIO, J. **Plantas Aquáticas: Adsorventes Naturais para a Melhoria da Qualidade das Águas**. XIX Prêmio Jovem Cientista - Água: Fonte de Vida, 2003.

SILVA, C. S.; PEDROZO, M. F. M. Etoxicologia do Cromo e Seus Compostos. **Cadernos de Referência Ambiental**, 5, 2001.

SOLTAN, M. E.; RASHED, M. N., Laboratory study on the survival of *water hyacinth* under several conditions of heavy metal concentrations, **Advances in Environmental Research**, 7. p.321-334, 2003.

SUÑE, N.; SANCHES, G.; CAFFARATTI, S.; MAINE, M.A. Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. **Environmental Pollution**, 145. p.467-473, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Publishers, 2^a edition, Massachusetts, 1998.

TASCH, P.; DAMIANI, F. **XRF – X-Rays Fluorescence Spectroscopy**, 2000.

TIRAO, G.; STUTZ, G.; CUSATIS, C. An inelastic X-ray scattering spectrometer at LNLS. **J. Synchrotron Rad.**, 11. p.335–342, 2004.

TIRAO, G.; DELUIGI, M. T.; STUTZ, G.; CUSATIS, C. Análisis del espectro de emisión K β del cromo en compuestos con diferentes estados de oxidación. In: **IX Seminario Latino Americano de Análisis por Técnicas de Rayos X – Livro de Resumos**, 2004.

TIRAO, G.; DELUIGI, M. T.; STUTZ, G.; CUSATIS, C.; RIVEROS, J.A. Dependence with the oxidation state of X-ray transition energies, intensities and natural line widths of CrK β spectra. **Chemical Physics**, 325. p. 477–484, 2006.

URŠIČ, M.; KAVČIČ, M.; BUDNAR, M. Second order radiative contributions in the K $\beta_{1,3}$ X-ray spectra of 3d transition metals and their dependence on the chemical state of the element. **Nucl. Instrum. Meth. B**, 211. p.7, 2003.

VAJPAYEE, P.; SHARMA, S. C.; TRIPATHI, R. D.; RAI, U. N.; YUNUS, M. Bioaccumulation of chromium and toxicity to photosynthetic pigments, nitrate reductase activity and protein content of *Nelumbo nucifera* Gaertn. **Chemosphere**, 39. p. 2159, 1999.

VAJPAYEE, P.; TRIPATHI, R. D.; RAI, U. N.; ALI, M. B.; SINGH, S. N. Chromium (VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content in *Nymphaea alba* L. **Chemosphere**, 41, p.1075, 2000.

VALITUTTO, R. S. **Acumulação de poluentes inorgânicos por macrófitas aquáticas nos reservatórios de Santana e de Vigário, Barra do Pirai – RJ**. Niterói, 2004. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal Fluminense.

VIDOTTI, E.C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Algas: da economia dos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. **Química Nova**, 27. n. 1, São Paulo, 2004.

VERMA, V. K.; SAUMYATA, T.; RAI, J. P. N. Ion exchange during heavy metal bio-sorption from aqueous solution by dried biomass of macrophytes. **Bioresource Technology**, 99. p.1932-1938, 2008.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R. Biosorption of heavy metals. **American Chemical Society and American Institute of Chemical Engineers**, p.235-251, 1995.

WANG, W. Factors affecting metal toxicity to (and bioaccumulation by) aquatic organisms – overview. **Environment International**, 13. p. 437-457, 1987.

WELSH, R. P. H.; DENNY, P. The uptake of lead and copper by submerged aquatic macrophytes in two English lakes, **Journal of Ecology**, 68. p. 443-455, 1980.

WELTZ, B. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3^a ed., Wiley-VCH, Weinheim, Germany , 1998.

WOLVERTON, B. C.; McDONALD, R. C. Water hyacinths and alligator weeds for removal of lead and mercury from polluted waters. **Nasa Technical Memorandum TM-X-72723**, 1975.

ZAYED, A.; LYTLE, C. M.; QIAN, J-H. Chromium accumulation translocation and chemical speciation in vegetable crops. **Planta**. 206, p.293, 1998.

ZARANYIKA, M. F., MUTOKO, F.; MURAHWA, H. Uptake of Zn, Co, Fe and Cr by *water hyacinth (Eichhornia crassipes)* in Lake Chivero, Zimbabwe, **The Science of the Total Environment**, 153. p.117-121, 1994.

SÍTIOS CONSULTADOS

www.inls.br. Acesso em 03/03/2008.

<http://physics.nist.gov/PhysRefData/XrayMassCoef/tab3.html>. Acesso em 15/04/2008.

ANEXO

Anexo I

O “*SpecReader*” é um *software* que foi elaborado pela equipe técnica do LNLS, para a leitura e exportação dos dados obtidos na irradiação das amostras. A Figura 1 mostra a tela do “*SpecReader*”.

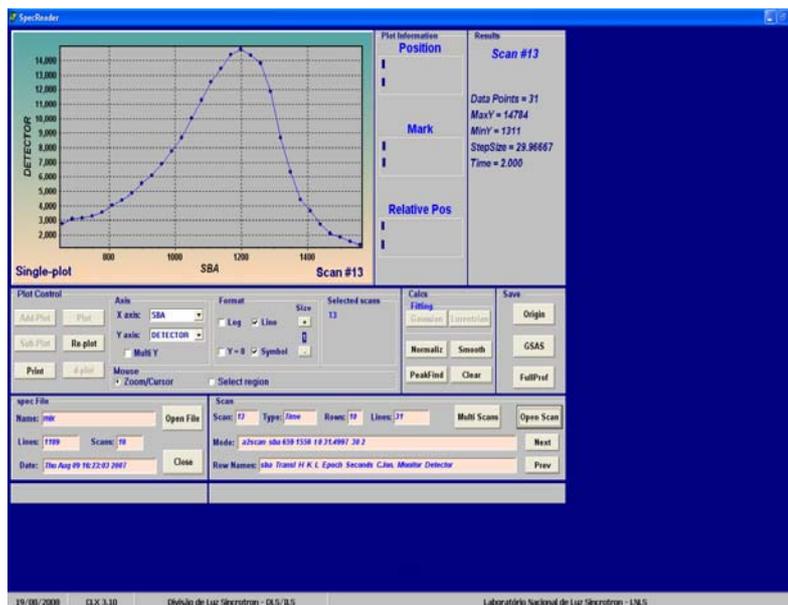


Figura 1 – Janela do *software* “*SpecReader*”.

A Tabela 1 apresenta como é o formato do arquivo de saída dos dados armazenados para cada scan.

Tabela 1 - Formato do arquivo de saída de dados armazenados em cada “scan” da amostra.

```

#S 2 ascan t 38.9502 42.9502 20 1
#D Thu Aug 09 11:48:30 2007
#T 1 (Seconds)
#G0 0 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 50 0 0.1 0 68 68 50 -1 1 1 3.13542 3.13542 0 463.6 838.8
#G1 5.4307 5.4307 5.4307 90 90 90 1.156975216 1.156975216 1.156975216 90 90 90 1 1 0 0 -1 0 30.3232 15.1616
89.99999982 1.7 0 0 10.87447001 5.437235006 0 0 0 0 1.540572334 1.190725521
#G2 0
#Q 2.06241 1.6638 2.23119
#P0 80.9639 0 90.000072 7.2 -1.5644e-09 2.217917e-10 0 0
#P1 -16.75 11.719997 89.999999 45 3.5001596 0 18.941578 0.008
#P2 0.94337697 -0.060163488 -0.00089614657 -0.24516753 40.9502 1168 0
#N 9
#L Transl H K L Epoch Seconds C.Ion. Monitor Detector
38.9502 2.06241 1.6638 2.23119 678 1 577623 3110 679
39.1502 2.06241 1.6638 2.23119 680 1 577943 3083 706
39.3502 2.06241 1.6638 2.23119 681 1 577805 3150 683
39.5502 2.06241 1.6638 2.23119 683 1 577636 3190 718
39.7502 2.06241 1.6638 2.23119 684 1 577634 3150 727
39.9502 2.06241 1.6638 2.23119 685 1 577603 3064 696
40.1502 2.06241 1.6638 2.23119 687 1 577981 2989 706
40.3502 2.06241 1.6638 2.23119 688 1 577102 3125 703
40.5502 2.06241 1.6638 2.23119 690 1 577709 3101 718
40.7502 2.06241 1.6638 2.23119 691 1 577460 3063 716
40.9502 2.06241 1.6638 2.23119 693 1 577333 3068 655
41.1502 2.06241 1.6638 2.23119 694 1 577526 3154 688
41.3502 2.06241 1.6638 2.23119 696 1 577481 3239 735
41.5502 2.06241 1.6638 2.23119 697 1 577414 3048 670
41.7502 2.06241 1.6638 2.23119 699 1 577428 3190 623
41.9502 2.06241 1.6638 2.23119 700 1 577056 3156 705
42.1502 2.06241 1.6638 2.23119 702 1 577329 3093 710
42.3502 2.06241 1.6638 2.23119 703 1 576758 3150 670
42.5502 2.06241 1.6638 2.23119 705 1 576986 3065 733
42.7502 2.06241 1.6638 2.23119 706 1 577532 3127 681
42.9502 2.06241 1.6638 2.23119 707 1 577207 3123 684

```
