

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

BIOACUMULAÇÃO DE ÍONS DE Pb^{+2} NA MACRÓFITA *SALVINIA AURICULATA*

LUCIARA CIANE PORT THOMÉ

TOLEDO - PR

2008

LUCIARA CIANE PORT THOMÉ

BIOACUMULAÇÃO DE ÍONS DE Pb⁺² NA MACRÓFITA *SALVINIA AURICULATA*

Dissertação apresentada ao Programa de Graduação em Engenharia Química em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, área de concentração **Monitoramento e Controle Ambiental.**

Orientador: Prof. Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones

Co-orientador: Prof. Dr. Aparecido Nivaldo Módenes

TOLEDO-PR

2008

OFEREÇO

*À Deus pela luz e proteção, ao meu marido e minhas
filhas pelo apoio irrestrito, amor e compreensão dedicados*

Aos meus pais e a todos que de alguma

forma estiveram ao meu lado

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones, pela orientação, incentivo, oportunidade e acima de tudo a pessoa amiga;

Ao Prof. Dr. Aparecido Nivaldo Módenes pelo apoio, colaboração e enriquecedoras discussões generosamente concedidas;

A Prof. Mestre Soraya Moreno Palácio por compartilhar conhecimento e espaço de trabalho;

Ao Prof. Dr. Edson Antônio da Silva pelo apoio na realização deste trabalho;

Aos companheiros do Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais, Ana Paula, Fernando sem os quais a realização deste trabalho não seria possível;

A todos os professores e funcionários deste programa;

Aos meus amigos do Curso de Pós Graduação que fiz ao longo destes dois anos;

Ao NBQ por todo apoio ao trabalho;

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron de Campinas – SP, pela utilização de seus equipamentos.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, pela oportunidade de realizar o mestrado;

À Deus por ter permitido o alcance de mais esse ideal e por não desistir de mim;

E a todos os que possa estar esquecendo, porque não se chega a lugar nenhum sozinho,

OBRIGADA

EPÍGRAFE

Se o seu coração é capaz de sentir seus sonhos e se você os deseja realmente, não se desespere por nada ; pois quando você olhar para o céu e ver as estrelas brilhando, acredite: esse é o momento em que seus sonhos poderão ser verdadeiros.

Autor desconhecido.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE EQUAÇÕES	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	3
2.1 Contaminação nas Águas e Sedimentos	3
2.2 Efluentes	9
2.3 Biorremediação	15
2.4 Fitorremediação	15
2.5 Técnicas de Fitorremediação	17
2.5.1 Fitovolatilização	17
2.5.2 Fitodegradação	18
2.5.3 Rizosférica	18
2.5.4 Fitotransformação	18
2.5.5 Fitoextração	18
2.5.6 Rizofiltragem	19
2.6 Biossorção e Bioacumulação	19
2.7 Adsorventes	23
2.8 Biossorvente	25
2.9 Macrófitas Aquáticas	27
2.10 <i>Salvinia auriculata</i>	32
2.11 Isotermas de Equilíbrio	34
2.11.1 Tipos de Isotermas	35
2.11.2 Isoterma de Langmuir	35
2.12 Espectrometria de Raios X	36
2.12.1 Análise por XRF	38
2.12.2 Excitação dos elementos	42
2.12.3 Transições radiativas dipolares.....	46
2.12.4 Equação Fundamental da TXRF.....	51

3.	MATERIAIS E MÉTODOS	55
3.1	Reagentes.....	55
3.2	Coleta de Macrófitas Aquáticas.....	55
3.3	Testes Toxicológico	56
3.4	Teste de Crescimento	56
3.5	Montagem do Experimento	57
3.6	Coletas	58
3.7	Preparação de Amostras e Padrões	59
3.8	Medidas de SR-TXRF	60
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	63
4.1	Tolerância ao chumbo.....	63
4.2	Concentração de chumbo	63
4.2.1	Análise de Espectros	63
4.2.2	Curva de sensibilidade elementar Série L	64
4.2.3	Cálculo da Concentração.....	66
4.3	Balanço de massa.....	68
4.4	Modelo Cinético Irreversível de Langmuir.....	69
4.5	Parâmetros de Adsorção	71
4.6	Comparações com outros trabalhos	74
5.	CONCLUSÕES E SUGESTÕES	76
5.1	Conclusões	76
5.2	Sugestões	76
	REFERÊNCIAS	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Rizofiltração de metais em efluentes usando macrófitas aquáticas.	19
Figura 2.2 - Tipos de macrófitas aquáticas.....	28
Figura 2.3 - Estudos realizados no tratamento de águas e efluentes com plantas aquáticas.	29
Figura 2.4 - <i>Salvinia sp</i> no canal de captação da estação de tratamento.	30
Figura 2.5 - Foto ilustrativa da <i>S. auriculata</i>	33
Figura 2.6 - Representação da adsorção conforme o Modelo de Langmuir.....	35
Figura 2.7 - Representação esquemática do ângulo crítico (em minutos) para os raios X Mo-K α de 17,44 keV e Cu-K α de 8,04 keV, incidindo sobre quartzo.	39
Figura 2.8 - Representação esquemática dos ângulos críticos (em minutos) para os raios X Cu-K α de 8,04 keV (e conseqüente refração dos raios X Mo-K α de 17,44 keV - caso A) e para os raios X Mo 17,44 keV (e conseqüente reflexão dos raios X Cu-K α - caso B), incidindo sobre quartzo.	39
Figura 2.9 - Geometria de excitação/deteccção da TXRF, com linhas contínuas representando os raios X incidentes e espalhados, e os tracejados os raios X característicos.	40
Figura 2.10 - Excitação e des-excitação atômica.	42
Figura 2.11 - Radiação síncrotron.	44
Figura 2.12 - Facilidade de luz síncrotron.	45
Figura 2.13 - Linhas espectrais permitidas e proibidas da série K, onde linhas satélites apresentam-se somente em estados ionizados.	47
Figura 2.14 - Linhas de raios X nas séries K e L dos elementos Si, Cr, Cd e Íons de Pb.	49
Figura 2.15 - Diagrama dos níveis energéticos e intensidades relativas de emissão dos raios X característicos emitidos pelo ferro.	50
Figura 2.16 - Representação esquemática do efeito Auger.	51
Figura 2.17 - Rendimento da fluorescência das camadas K, L e M em função do número atômico.	51

Figura 3.1 - Teste de crescimento de <i>S. auriculata</i>	57
Figura 3.2 - Montagem em estufa do experimento de bioacumulação de compostos de chumbo pela <i>S. auriculata</i>	58
Figura 3.3 - Equipamento D09-XRF, utilizado para medição de feixes iônicos do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – LNLS/Campinas-SP.....	61
Figura 3.4 - Posição dos discos de acrílico no suporte do equipamento D09-XRF...	62
Figura 4.1 - Espectros típicos de SR-TXRF de amostras de água de cultivo, folha e raízes digeridas do experimento de bioacumulação de Íons de Pb ⁺²	64
Figura 4.2 - Espectro típico SR-TXRF de padrão multielementar para a série L.....	65
Figura 4.3 - Resposta do instrumental SR-TXRF como função da concentração do Chumbo, relativo ao padrão interno Gálio ($S_{Pb} = 0,3551 S_{Ga}$).....	65
Figura 4.4 - Curva da sensibilidade do instrumental SR-TXRF relativo a padrão interno de Gálio para elementos pesados.....	66
Figura 4.5 - Concentração de metal na fase fluida e na planta em mg L ⁻¹ ao longo do tempo por SR-TXRF.....	69
Figura 4.6 - Comportamento da biomassa úmida da <i>S. auriculata</i> com ajuste polinomial de ordem 2.....	70
Figura 4.7 - Cinética da remoção de chumbo pela <i>S. auriculata</i>	73
Figura 4.8 - Quantidade de íons de Pb ⁺² acumulada na planta por unidade de biomassa úmida simulado pelo modelo de Langmuir.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Emissão mundial de chumbo para ambiente aquático, proveniente de várias fontes.	7
Tabela 2.2 - Concentrações médias de chumbo ($\mu\text{g g}^{-1}$) em partículas suspensas em lagos próximos a fundições em Sudbury, Ontário, Canadá, nos anos de 1978, 1993 e 1994.	9
Tabela 2.3 - Concentração de íons mais freqüentes em mg L^{-1}	10
Tabela 2.4 - Reagentes utilizados em usinas de tratamento de minérios (principalmente flotação) passíveis de emissão.	11
Tabela 2.5 - Concentração média de alguns metais em efluentes de 20 indústrias..	13
Tabela 2.6 - Propriedade da biomassa da <i>S. auriculata</i>	33
Tabela 2.7 - Linhas espectrais de raios X (notações IUPAC e Siegbahn) e suas intensidades relativas à linha principal de cada série.....	48
Tabela 3.1 - Solução hidropônica de Clark.....	56
Tabela 3.2 - Soluções para os testes toxicológicos.....	56
Tabela 3.3 - Valor médio e desvio padrão da biomassa inicial úmida e seca da <i>S. auriculata</i> e o tempo previsto de coleta a uma temperatura média inicial de 23 °C e pH médio inicial de 4,61	58
Tabela 3.4 - Padrões multielementares.....	59
Tabela 3.5 - Especificações técnicas da linha de luz D09-XRF.	60
Tabela 4.1 - Tempo de cultivo, biomassa úmida média e concentração total média de chumbo na fase fluida (mg L^{-1}) e na fase seca ($\mu\text{g g}^{-1}$). Os desvios padrões correspondem às réplicas experimentais ou analíticas.	67
Tabela 4.2 - Quantidade de íons de Pb^{+2} absorvido na <i>S. auriculata</i> viva e a incerteza.....	72
Tabela 4.3 - Parâmetros de adsorção para a <i>S. auriculata</i> correspondente ao Pb^{+2} .72	

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 2.1 - Energia para os elétrons das camadas K e L.....	45
Equação 2.2 - Energia de ligação em eV	46
Equação 2.3 - Energia do raio X emitido devido a transição eletrônica.	46
Equação 2.4 - Equação básica para análise.	53
Equação 2.5 - Concentração do elemento de interesse.....	53
Equação 4.1 - Resposta do sistema SR-TXRF com a concentração elementar	65
Equação 4.2 - Concentração total de chumbo em mg L^{-1} da fase fluida (FF).	67
Equação 4.3 - Concentração total de chumbo em $\mu\text{g g}^{-1}$ da fase seca.	67
Equação 4.4 - Balanço de massa no experimento de bioacumulação de chumbo nas plantas aquáticas.	68
Equação 4.5 - Taxa de adsorção de metal pelas macrófitas.....	70
Equação 4.6 - Dependência temporal da taxa de remoção de metal com a biomassa viva e a quantidade de sítios disponíveis nela.	70
Equação 4.7 - Balanço de massa de metal entre a fase aquosa e sólida.	71
Equação 4.8 - Dependência da taxa de adsorção de metal com a biomassa e taxa de perda de concentração de metal na fase fluida.....	71
Equação 4.9 - Função objetivo na obtenção dos parâmetros cinéticos de Langmuir.	71

THOMÉ, L. C. P. Bioacumulação de íons de Pb^{+2} na macrófita *Salvinia Auriculata*. 2008. 96 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo.

RESUMO

Neste trabalho foi realizado um estudo do processo de bioacumulação de Pb^{+2} pela macrófita aquática *Salvinia auriculata*. Realizaram-se inicialmente testes toxicológicos e de crescimento para determinar os níveis tóxicos de íons de Pb^{+2} , estipular a massa mínima adequada, duração da experiência e os intervalos de coleta para o experimento da bioacumulação. O experimento da bioacumulação foi conduzido utilizando plantas jovens e sadias da espécie aquática e flutuante *S. auriculata*. Foram cultivadas, durante 29 dias em estufa, aproximadamente 30 gramas em recipiente de 8 L, em várias réplicas, contendo 5 litros de uma solução hidropônica (de Clark) e uma concentração não tóxica de $2 \text{ mg } Pb^{+2} \text{ L}^{-1}$. Foram realizadas 7 coletas, incluindo a coleta 0, a intervalos de 1, 2, 5, 8, 22 e 29 dias, monitorando pH e temperatura e fazendo a reposição de água devido a perdas por evaporação. As concentrações totais de chumbo, tanto na fase fluida como na raiz e na folha, foram determinadas pela técnica SR-TXRF. O fator de remoção de chumbo pela *salvinia* após 29 dias de cultivo, nas condições estudadas, foi de 87 %. Além disso, foi observado que a adsorção de chumbo foi rápida nas primeiras 24 horas, reduzindo em aproximadamente 50 %. A partir do segundo dia, a concentração de chumbo é quase constante, indicando a ocorrência de transporte e acumulação de chumbo na folha. Os dados experimentais de adsorção de íons de Pb^{+2} pela *S. auriculata* foram representados pelo modelo cinético irreversível de Langmuir. No ajuste dos dados experimentais pelo modelo proposto, utilizou-se de uma função objetivo para otimizar os parâmetros de adsorção: a constante da taxa de adsorção e a quantidade máxima de sítios disponíveis na biomassa, cujos valores obtidos foram $k = 0,12 \text{ L d } mg^{-1} \text{ Pb}^{+2}$ e $q_{\text{max}} = 0,15 \text{ mg } Pb^{+2} \text{ g}^{-1}$. A planta *S. auriculata* mostrou-se uma boa opção para tratamento de efluentes através dos mecanismos de adsorção e bioacumulação. O processo de remoção de metal por planta aquática comprovou ser economicamente atrativo, de fácil disponibilidade, baixos custos operacionais e alta eficiência.

Palavras-chave: *Salvinia auriculata*, chumbo, adsorção, bioacumulação, técnica SR-TXRF.

THOMÉ, L. C. P. Lead ions bioaccumulation by the living aquatic macrophytes *Salvinia auriculata*. 2008. 96 p. Master of Science Dissertation (Master of Science of Chemical Engineering) - Paraná West State University. Toledo Campus.

ABSTRACT

In this work was carried out a study of the lead bioaccumulation process by living aquatic macrophytes *Salvinia auriculata*. Initially, they were performed toxicological and growing tests in order to determine the non-toxic lead concentration limits and the minimum amount of biomass for the lead uptake experiment duration. The bioaccumulation experiment was performed using young and healthy floating aquatic plants of species *S. auriculata*. Approximately 30 grams of *S. auriculata* were put in growing at several 8-L recipients containing 5 L hydroponics solution and a non-toxic lead concentration of 2 mg L^{-1} , during 29 days in a greenhouse. For the lead uptake experiment, seven collection times were set up at intervals of 1, 2, 5, 8, 22 and 29 days, including the zero time and was measured the growing solution temperature and pH, and the solution volume was monitored and deionized water was added to compensate the losses by evaporation. In order to measure the total lead concentration accumulated in aqueous solution obtaining from roots and leaves and growing solution, a Synchrotron Radiation Total Reflection X-Ray Fluorescence technique was used. The lead removal factor by *S. auriculata* after 29 days, in experimental conditions, was around 87 %. Moreover, it was observed a strong reduction of 50 % of lead concentration in liquid phase and lead accumulation in roots after the first 24 hours of experiment, while there a constant lead concentration in roots after the second day, indicating the transport and accumulation of lead into the leaves. The lead adsorption experimental data by *S. auriculata* were modeling by the irreversible adsorption kinetic of Langmuir. In the model, the equation system was resolved by DASSL algorithm and the kinetic parameters were obtained and optimized by an objective function using a SIMPLEX algorithm. The adsorption rate constant (k) value was $0.12 \text{ L d mg}^{-1} \text{ Pb}^{+2}$ while the maximum lead contents (q_{max}) value in the biomass was $0.15 \text{ mg Pb}^{+2} \text{ g}^{-1}$. The aquatic plant *S. auriculata* can be a good alternative for effluent treatment through both bioadsorption and bioaccumulation mechanism. The process based on the Phytoremediation technique using aquatic plants have become a attractive economical process due to its easy applicability, low operational costs and high efficiency.

Key-words: *Salvinia auriculata*, lead, adsorption, bioaccumulation, SR-TXRF technique.

1. INTRODUÇÃO

Devido ao crescimento da população mundial nas últimas décadas e sua rápida industrialização, tem-se observado um aumento dos níveis de poluição ambiental. O uso indiscriminado dos recursos naturais tem causado sérios problemas de contaminação do ecossistema, principalmente, devido à poluição química de origem orgânica e inorgânica.

A disposição no ambiente, de resíduos gerados em diversas atividades domésticas, comerciais e industriais tem despertado na população e nas autoridades uma grande preocupação em relação à poluição ambiental e a necessidade de elaboração de medidas efetivas para minimizá-la. Deste modo, a legislação ambiental torna-se cada vez mais restritiva em relação aos limites máximos permitidos para lançamento de poluentes ao meio ambiente. Desta forma, os processos industriais devem ser otimizados reduzindo ao máximo a concentração dos poluentes, para que se atinja uma maior eficiência no processo do tratamento.

Ainda, no âmbito de poluição ambiental provocada por substâncias tóxicas, destacam-se os metais tóxicos como o cádmio, chumbo, zinco, mercúrio, entre outros. Neste trabalho trataremos apenas íons de Pb^{+2} na forma de nitrato.

Diante do caráter tóxico desses metais, fez-se necessário o estabelecimento de normas para o descarte de efluentes. Assim, para alcançar os padrões de emissão de efluentes é necessário efetuar um tratamento do resíduo antes que o mesmo possa ser descartado, porém, convém lembrar que as formas que os metais encontram-se em solução, determinam o tratamento específico a ser escolhido ou a adaptação de um tratamento convencional.

Dentre os métodos mais empregados para a descontaminação de efluentes contendo metais tóxicos, citam-se os processos de troca iônica, adsorção por carvão ativado, separação por membrana, processos biológicos, eletroquímicos e a neutralização/precipitação química.

Diante dos métodos mencionados, constata-se que o desenvolvimento de novas tecnologias visando à redução de custos e eficiência no tratamento se faz necessário. Dentro deste contexto, é dada ênfase à fitorremediação.

Segundo Martins et al. (2005) a fitorremediação é uma técnica de descontaminação em que se utilizam plantas para remover poluentes do

ambiente ou transformá-los em formas menos perigosas para os seres vivos. Segundo Voleski (1990), processos de remoção de metais que envolvem uma biomassa é a biossorção e bioacumulação.

Um dos materiais naturais empregados no processo de bioacumulação de metais pesados são os adsorventes naturais como as macrófitas aquáticas. Assim, o presente estudo visa fornecer informações úteis no uso de macrófitas, em especial a *salvinia auriculata*, para a montagem de sistemas de tratamento de efluentes.

Este projeto de pesquisa tem por objetivo o desenvolvimento de técnicas não-convencionais na remoção de metais pesados e futuro descarte de forma segura, além de estender a capacidade analítica elementar instalada no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron.

Para uma melhor abordagem do assunto, este trabalho foi dividido em capítulos, assim, no Capítulo 2 é apresentada uma revisão da literatura, onde é apresentada uma introdução à contaminação nas água e sedimentos, efluentes, às técnicas de fitorremediação, à biossorção e bioacumulação e às plantas aquáticas. Ainda na Capítulo 2, são apresentados alguns conceitos fundamentais de isotermas de equilíbrios e espectrometria de raios X.

No Capítulo 3 são descritos e detalhados os experimentos de bioacumulação de metais pela macrófita *salvinia auriculata*: montagem dos testes toxicológicos e de crescimento, montagem do experimento, coleta e preparação das amostras, bem como a medida de concentração elementar obtida pela técnica SR-TXRF.

Os resultados experimentais de bioacumulação são interpretados dentro do modelo de Langmuir descritos no Capítulo 4. Por fim, no Capítulo 5 são apresentadas as principais conclusões acerca do trabalho desenvolvido.

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Contaminação nas Águas e Sedimentos

Os processos de industrialização e de urbanização, nas últimas décadas, têm tornado cada vez mais crítica a questão da contaminação do meio ambiente. Estes contaminantes têm contribuído de forma significativa para a poluição do ar, da água e do solo, uma vez que a intervenção humana na sua geração e utilização, como subproduto de atividades industriais, tem criado graves problemas, em escala local e global, levando a um estresse, associado a seus efeitos crônicos a saúde humana.

No Brasil, o crescimento urbano tem sido feito de modo desorganizado, sem que exista infra-estrutura suficiente para atender à população. Isto se traduz em ausência ou precariedade na coleta e tratamento de esgotos e lixo, que acabam sendo lançados no ambiente. Além disso, nas cidades litorâneas, esse problema tende a ser maximizado nos meses de verão, quando um grande contingente de turistas procura estas cidades, saturando os já precários serviços existentes. Mesmo nas cidades que contam com serviços de coleta e disposição de esgotos, o problema ainda não foi totalmente eliminado, pois existem ligações clandestinas nas galerias pluviais e devido à desigualdade social, a população de baixa renda vai sendo expulsa, passando a ocupar áreas inadequadas, como encostas, vales de rios e manguezais. Geralmente essas ocupações não dispõem de sistemas de coleta de esgoto e lançam seus resíduos em valas, canais, fossas simples ou diretamente na água.

Porém, o crescimento da população humana, e a decorrente necessidade de aumento na produção de alimentos e na industrialização, vêm exigindo um crescente consumo de água para os mais variados fins. A água, que através do ciclo hidrológico poderia ser considerado um recurso mineral renovável, não pode ser mais considerado assim. O despejo de dejetos nos cursos d'água tem sido enorme, degradando os ecossistemas aquáticos.

O Brasil é um país privilegiado, pois possui 13% dos recursos hídricos superficiais de água doce. Entretanto, esse sistema é bastante frágil. Vários são os poluentes descartados nos nossos rios, incluindo metais pesados, óleos, pesticidas, corantes, tensoativos, entre outros (BRAILE e CAVALCANTI, 1993). Por exemplo, a drenagem ácida de minas, efluentes de plantas de tratamento de minérios e o setor industrial metal-mecânico lançam grandes cargas de metais pesados nos recursos hídricos (SMITH, 1996). Na Amazônia, onde o mercúrio é empregado em garimpos

de ouro, já se observa a contaminação em peixes e na população humana (YALLOUZ e CALIXTO, 2002). Derrames de óleos também ocorrem freqüentemente no nosso país e vale lembrar que o derrame de poucos gramas de óleo acarreta na inutilização de dezenas, ou até centenas, de metros cúbicos de água para consumo humano (CORSEUIL e MARINS, 1997).

Os agrotóxicos podem alcançar os ambientes aquáticos através da aplicação intencional, deriva e escoamento superficial a partir de áreas onde ocorreram aplicações. A lixiviação dos agrotóxicos através do perfil dos solos pode ocasionar a contaminação de lençóis freáticos (EDWARDS, 1973), portanto, além de afetar os próprios cursos de água superficiais, os agrotóxicos podem alcançar os lençóis freáticos cuja descontaminação apresenta grande dificuldade. Certas práticas agrícolas ligadas ao modelo de produção agrícola predominante, como o uso excessivo e inadequado de agrotóxicos, a destruição da cobertura vegetal dos solos para plantio, a não-preservação das matas ciliares e das vegetações protetoras de nascentes, dentre outros fatores, são responsáveis por grande parte dos problemas com os recursos hídricos (ROSA, 1998).

Em relação à água, embora a agricultura seja apenas uma das inúmeras fontes não-pontuais de poluição, geralmente é apontada como a maior contribuinte de todas as categorias de poluentes (EDWIN, 1996).

Uma vez na água, dependendo das características físico-químicas o resíduo do agrotóxico pode tanto se ligar ao material particulado em suspensão, como se depositar no sedimento do fundo ou ser absorvido por organismos, podendo então ser detoxicados ou acumulados. Eles podem ser transportados através do sistema aquático por difusão nas correntes de água ou nos corpos dos organismos aquáticos. Alguns agrotóxicos e/ou metabólitos podem também retornar à atmosfera por volatilização. Assim, fica evidenciado que há uma interação contínua dos agrotóxicos entre sedimento e água, influenciada pelo movimento da água, turbulência e temperatura (NIMMO, 1985). Desta interação, pode resultar inclusive maior tempo de exposição dos organismos aquáticos aos compostos tóxicos.

Existem diversos estudos na literatura internacional para determinar-se a presença de agrotóxicos em águas superficiais e subterrâneas (MALLET e MALLET, 1989; DURAND e BARCELÓ, 1989; BARCELÓ, 1994; BARCELÓ, et al., 1996) além de estudos nacionais sobre os efeitos de herbicidas sobre organismos aquáticos (TUNDISI, 1990; RODRIGUES, 1993), estes estudos muitas vezes envolvem

compostos que já são apontados como problemas em potencial para o meio ambiente e saúde, porém, ainda não são controlados pela legislação.

O estudo da acumulação de metais em organismos aquáticos vem do interesse de conhecer o destino e os caminhos traçados pelos metais até o topo das cadeias tróficas. Muitos estudos já publicados (GIESY et al, 1983; RAINBOW e WHITE, 1989; RAINBOW e DALLINGER, 1991; WREN e STEPHENSON, 1991; BORGMANN et al, 1993, BAT et al., 1998, REINFELDER, 1998; RAINBOW, 2002) têm ressaltado a acumulação de metais em organismos aquáticos como consequência da poluição de corpos d'água.

Os metais pesados, que representam o maiores contaminantes industriais de solos, corpos de água, plantas e animais no ecossistemas (GHOSHROY et al., 1998) de tal forma que o estudo da toxicidade de metais pesados em plantas e microrganismos vem atraindo a atenção de muitos ambientalistas (PRASAD, 1995). Eles são elementos químicos com alta densidade ($> 5 \text{ g cm}^{-3}$) (MALAVOLTA, 1994), presentes naturalmente na crosta terrestre, e o aumento as atividades poluidoras do meio ambiente vêm acelerando a liberação destes elementos nos ecossistemas. Tais elementos podem ser extremamente tóxicos (ex. mercúrio, chumbo, cádmio) ou tóxicos quando em concentrações elevadas (zinco e cobre).

Talvez o único levantamento mais sistemático e abrangente de contaminação por metais seja o monitoramento que a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) realiza nas águas superficiais do Estado de São Paulo (CETESB, 2001), mas faltam informações sobre o problema de contaminação de solos. Neste sentido, a CETESB recentemente realizou um estudo para determinar valores orientadores quanto à contaminação de poluentes no solo e declarou a intenção de se realizar levantamentos sistemáticos (CETESB, 2001). De qualquer modo, a preocupação da CETESB com metais pesados é evidente. Neste último estudo, das 37 substâncias estudadas, 18 são metais pesados. Além disso, dos 27 parâmetros químicos usados pela CETESB para avaliar a qualidade de águas superficiais do estado, 11 se referem à análise de metais pesados.

O chumbo merece atenção especial devido ele ser um dos metais pesados de utilização industrial mais variada, presente, sobretudo em baterias. Como todo metal pesado, o chumbo persiste no solo e no fundo de rios, lagoas e represas. É comprovadamente carcinogênico, teratogênico e tóxico para o sistema reprodutivo. A presença de quantidades elevadas de chumbo no sangue ocasiona problemas

neuroológicos, como falta de concentração e dificuldades na fala (LOURENÇO e LANDIM, 2005). Além disso, causa doenças no sistema nervoso, diminuição da produção de espermatozóides, diminuição das habilidades intelectuais. Ainda várias enzimas perdem suas atividades na presença deste elemento, como é o caso das enzimas responsáveis pela biossíntese de substâncias que inibem a incidência anemia.

O chumbo também tem se revelado um inibidor do metabolismo de cálcio, interferindo indiretamente na síntese da vitamina D. Segundo Lourenço e Landim (2005) o chumbo também apresenta padrões de distribuição que, provavelmente, estão associados ao uso de fertilizantes ou adubos utilizados em atividades agrícolas. Não é metabolizado pelos animais e sofre o processo de bioacumulação, afetando mais os animais do topo da cadeia alimentar, entre os quais está o homem (LOURENÇO e LANDIM, 2005).

O chumbo é depositado nos lagos, rios e oceanos, provenientes da atmosfera ou do escoamento superficial do solo, oriundos de fontes naturais ou antropogênicas. O metal que alcança a superfície das águas é adsorvido aos sólidos suspensos e sedimentos. Dentre as fontes antropogênicas mais importantes, destacam-se as operações de produção e processamento do metal, além das indústrias de ferro e aço. O escoamento superficial urbano e a deposição atmosférica são fontes indiretas significativas do chumbo encontrado em ambientes aquático. (ATSDR, 1993). A Tabela 2.1 mostra a emissão mundial de chumbo para ambiente aquático, proveniente de várias fontes de chumbo.

Nos Estado Unidos, nas amostras positivas coletadas em locais de maior risco de aparecimento de resíduos perigosos, que fazem parte do NPL (*National Priorities List*) observou-se a presença de chumbo em 23% das mostras de águas superficiais e em 48% de águas subterrâneas, numa concentração média de $20\mu\text{g d L}^{-1}$ e $21\mu\text{g d L}^{-1}$, respectivamente (ATSDR, 1993).

O rio Ribeira do Iguape, localizado na divisa dos estados de São Paulo e Paraná, Brasil, encontra-se numa região onde durante décadas foram desenvolvidas atividades de mineração e onde funcionou a sua margem uma refinaria de chumbo. Todas essas atividades foram cessadas a cerca de cinco anos. Cunha et al. (2001), num estudo realizado em amostras de águas superficiais no rio Ribeira e no Ribeirão (afluente do rio Ribeira), no período de 1998 a 2000, constataram concentrações de

chumbo maior que 5 a 6 $\mu\text{g L}^{-1}$, bem abaixo dos valores estabelecidos como ideais pelo CONAMA (Conselho Nacional de Meio Ambiente) (limite máximo para o chumbo 0,03 mg L^{-1}). Entretanto, entre 1978 e 1996, a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) encontrou concentrações de chumbo que variam de 0,004 a 0,23 mg L^{-1} , em amostras de águas superficiais do rio Ribeira localizado próximo ao município de Itaoca (CUNHA et al., 2001). Em 1986, os teores de chumbo na amostras desse rio, variam de 0,01 a 2,75 mg L^{-1} (EYSINK et al., 1988, citado por CUNHA et al., 2001). Esses resultados indicam que as fontes antropogênicas foram as grandes responsáveis pelo depósito do metal no rio, e após a paralisação das atividades de mineração e da refinaria, os níveis diminuíram significativamente. Em relação aos sedimentos de corrente, o limite estabelecido para o chumbo é igual a 40 $\mu\text{g g}^{-1}$ (PRATES e ANDERSON, 1997), e as concentrações encontradas nos sedimentos do rio Ribeira em estudos realizados a partir de 1988 mostraram-se bastante elevados, variando de 3,45 a 4000 $\mu\text{g g}^{-1}$ (MORAES et al., 1997, citado por CUNHA et al., 2001). Atualmente esses mesmos autores encontraram níveis que variam de 30,8 a 527,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, indicando que, mesmo após a paralisação das fontes antropogênicas que geraram essas concentrações obtidas, os níveis continuaram altos.

Tabela 2.1 - Emissão mundial de chumbo para ambiente aquático, proveniente de várias fontes.

Categoria da Fonte	Taxa de Emissão (10^3 t)
Resíduo doméstico	
Central	0,9 – 7,2
Não central	0,6 – 4,8
Energia Elétrica	0,24 – 4,2
Mineração	0,25 – 2,5
Refinamento	
Ferro e aço	1,4 – 2,8
Metais não ferrosos	1,0 – 6,0
Processos de Manufaturas	
Metais	2,5 – 22
Agentes químicos	0,4 – 3,0
Papel	0,01 – 0,9
Sedimentação da atmosfera	87 – 115
Depósito de resíduos de esgoto	2,9 – 16
Contribuição total para água	97 – 180
Valor médio	41

Fonte: THORNTON, 1995, modificado

Considerando que o estado de Minas Gerais, no Brasil, se caracteriza pelas grandes jazidas de ferro (5700km²), várias fundições e metalúrgicas estão presentes na região. Jordão et al.(1999), num estudo em águas de rios próximos aos municípios de Conselheiro Lafaiete e Ouro Branco, observou contaminação por chumbo na maior parte dos pontos amostrados. Essas concentrações variam de 1,5 a 153µg L⁻¹, contaminados em outras localidades, como a obtida no rio Rhine (57µg L⁻¹), por Salomons (1984), citado por Jordão et al.,(1999). As concentrações de chumbo em sedimentos obtidas nessas localidades foram relativamente altas, sendo que a mais elevada foi encontrada próximo a um área de mineração (60,3µg g⁻¹ em peso seco).

Baptista Neto et al. (2000), observaram que dentre os vários metais estudados em sedimentos no estreito Jurubatuba, Rio de Janeiro, Brasil, o chumbo, o zinco e o cobre apresentaram os fatores de enriquecimento mais alto. As concentrações obtidas para o chumbo variam de 5 a 123mg L⁻¹.

Com o objetivo de caracterizar a bacia do Ribeirão Cambe, no município de Londrina, Paraná, Brasil, Oliveira (1998), num estudo sazonal, analisaram vários metais pesados em águas superficiais. As estações de coleta compreendiam os seguintes pontos: manancial da bacia, próximo a um curtume, a montante de uma fábrica de baterias, no local de despejo dessa fábrica, a jusante da fábrica de baterias e o lago Igapó, que apresentaram concentrações médias de chumbo iguais a 60,12; 69,01; 288,04; 4504; 509,9 e 84,69 µg L⁻¹, respectivamente. Ao longo do ano, as concentrações de chumbo extrapolaram em grande proporção os níveis máximos permitidos. Na região próxima a fábrica de baterias ocorreu variações bruscas de pH, o que ocasionou um aumento significativo nas concentrações de metais estudados. Durante todo percurso amostrado do Ribeirão houve a presença sistemática dos elementos chumbo, níquel, cádmio, cromo e cobre, introduzidos por fontes cuja origem está na urbanização e industrialização, além de ferro, alumínio, manganês e mercúrio como produto, principalmente, do carreamento de partículas através das águas de escoamento.

Ereal et al.(2001), estudando a extensão da poluição no sedimento do lago Kinneret (Mar da Galileia), em Israel, encontraram concentrações de chumbo que variam entre 3 a 11,4 µg g⁻¹ nas estações de coletas. Os autores concluíram que a maior fonte contribuinte de chumbo nas águas do lago ainda continua sendo o

petróleo, embora os níveis de chumbo na gasolina tenham decaído significativamente nos anos 90. O metal acumulado ao longo das rodovias é lentamente transportado para o lago, num processo que pode levar séculos.

Em Ontário, no Canadá, Nriagu et al.(1998) obtiveram concentrações média de chumbo em lagos próximos a fundições nos anos 1978, 1993 e 1994. Essas concentrações forma comparadas, mostrando acentuadas mudanças nos níveis médios de chumbo obtidos em 1978 em relação aos anos de 1993 e 1994. Esse declínio acentuado, observado em todos os lagos, é comparável a mudanças nas concentrações de chumbo atmosférico, atribuídos à retiradas do metal da gasolina. Esses dados estão descritos na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 - Concentrações médias de chumbo ($\mu\text{g g}^{-1}$) em partículas suspensas em lagos próximos a fundições em Sudbury, Ontário, Canadá, nos anos de 1978, 1993 e 1994.

Lago	Verão de 1978 ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Verão de 1993 ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Inverno de 1994 ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ramsay	235	0,57	2,1
Nelson	562	2,1	
MacFarbane	357	0,55	0,47
Richard			2,3
Siler			0,74
Cleanwater			1,8

Fonte: NRIAGU et al., 1998, modificado

2.2 Efluentes

Os efluentes líquidos ou águas efluentes contêm, na maioria dos casos, sólidos em suspensão e uma variada gama de reagentes utilizados fundamentalmente nos processos de tratamento de minérios e posteriormente no processamento metalúrgico dos concentrados. No caso do carvão, o efluente líquido é conhecido como água preta e também contém sólidos finos/ultrafinos, óleos e vários íons.

Como exemplo de efluente, cita-se aqui o caso de efluentes da flotação de minérios, descrevem-se as características das águas de processo (Tabela 2.3) os reagentes utilizados (Tabela 2.4). Esses reagentes que permanecem nas águas recirculadas, podem ser emitidos para o meio ambiente com os efluentes ou com os rejeitos sólidos.

Tabela 2.3 - Concentração de íons mais freqüentes em mg L⁻¹

Íons	Sulfetos metálicos	Não metálicos	Óxidos/silicates
Ag ⁺¹	0,02 - 0,1	0,04	0,04
As ⁺³	0,02 - 3,5	< 0,01 - 0,15	-
Be ⁺²	< 0,002	-	20 - 36
Cd ⁺²	0,05 - 17	-	<0,02 - 0,01
Co ⁺²	1 - 1,7	-	-
Cr ⁺³	0,03 - 40	-	0,02 - 0,35
Hg ⁺²	0,0006 - 28	-	-
ÍPb ⁺²	0,01 - 560	0,02 - 0,01	0,05 - 5,0
Mn ⁺²	0,007 - 570	0,2 - 49	0,007 - 330
Mo ⁺⁴	0,05 - 5	-	< 0,2 - 0,5
Ni ⁺²	0,01 - 3	-	0,15 - 1,5
Sb ⁺³	0,2 - 65	-	-
Se ⁺²	< 0,003-0,155	-	0,06 - 0,14
Te ⁺²	< 0,08 - 0,3	-	<0,2
Ti ⁺²	-	-	<0,5 - 2
Zn ⁺²	0,02 - 3000	-	0,02 - 20
PO ₄ ⁻³	20	2 - 200	0,8
SO ₄ ⁻²	5 - 2500	9 - 10000	5 - 5000
CN ⁻	0,01 - 0,45	-	<0,02

Fonte: RUBIO e TESSELE (1997)

A toxicidade dos reagentes e dos íons é variada, desde muito tóxicos, como os coletores tiólicicos, sulfonatos e aminas, moderados, como os espumantes a base de álcool e não tóxicos, como o polipropileno glicol. A toxicidade pelos metais pesados dissolvidos é bem documentada e sua remoção constitui um vasto campo de pesquisa, ainda em desenvolvimento.

Alguns metais pesados são substâncias altamente tóxicas e não são compatíveis com a maioria dos tratamentos biológicos de efluentes existentes. Dessa forma, efluentes contendo esses metais não devem ser descartados na rede pública, para tratamento em conjunto com o esgoto doméstico. As principais fontes de poluição por metais pesados são provenientes dos efluentes industriais, de mineração e das lavouras.

Os efluentes líquidos podem ser classificados, conforme a seguir, em função da vazão, natureza ou índice de periculosidade.

1. Efluentes de pequeno porte < m³ d⁻¹;
2. Efluentes de médio porte > m³ h⁻¹;
3. Efluentes de grande porte > m³ s⁻¹;
4. Inorgânicos, orgânicos (contendo haletos ou não), biodegradáveis e inflamáveis,

5. Corrosivos e emulsões;
6. Reativos, tóxicos ou voláteis.

Tabela 2.4 - Reagentes utilizados em usinas de tratamento de minérios (principalmente flotação) passíveis de emissão.

Coletores (1)	Espumante (2)	Modificadores (3)	Floculantes, Coagulantes, Dispersantes (4)
Mercaptanos	Óleo de pinho	Sulfato de cobre e zinco	Poliacrilamidas
Tioureas	Metilisobutil carbonil	Cromatos, dicromatos, hipocloritos	Polióxidos de etileno
Carboxilatos Tio-carbamatos, carbonatos e fosfatos	Ácido cresílico Polipropileno glicólis	Permanganatos Sulfeto de sódio e pentasulfeto (Nokes)	Poliaminas Policarboxilatos
Óleos não iônicos, alcatrão	Parafinas alcoxi substituídas	Cianetos e ferrocianetos	Aluminatos sódicos
Ácidos graxos	Álcoois (diversos)	Fluoretos e sulfito de sódio	Sulfatos de ferro e alumínio
Dixantógenos		Quebracho, (polifenóis) lignosulfonatos	Silicatos solúveis
Aminas		Sais de chumbo	Polissacarídeos
Alquil-sulfatos, carbonatos, sulfonatos e fosfatos		Ácidos cítricos e tânicos	Polifosfatos

(1) = em concentrações que variam entre 0,006-2,5 kg t⁻¹; (2) = 0,06-0,5 kg t⁻¹; (3) = ativadores-depressores-reguladores de pH, 0,006-6 kg t⁻¹; (4) = 0,005-1 kg t⁻¹.
 Fonte: RUBIO e TESSELE (1997)

De acordo com a Organização dos Estados Americanos (OEA), as indústrias que mais contaminam o meio ambiente são as dos setores mineiro e metalúrgico. Estas lançam diariamente grandes volumes de gases, resíduos aquosos e/ou sólidos, contendo elementos de toxicidade variada. Portanto, esses setores devem assumir a responsabilidade social e ambiental, trabalhando dentro dos mais rigorosos padrões de qualidade internacionais, visando à preservação da saúde humana e de seu ambiente. Assim, as atividades mineira e metalúrgica precisam ser integradas à sociedade dentro de um conceito de desenvolvimento sustentável, o

que implica em acordos em base mútua, conveniente a ambas. A política ambiental dos setores deveria ser constantemente revisada, atualizada e comprometida com uma legislação moderna, dinâmica e efetiva (SINGHAL et al., 1992, VILLAS BÔAS e BARRETO, 1996).

As operações mineiras e metalúrgicas manuseiam volumes enormes de água, sólidos, óleos (emulsionados ou não), gases, elementos com propriedades radioativas, entre outros. A contaminação acontece inevitavelmente por poeiras, efluentes contendo colóides, reagentes químicos, metais pesados dissolvidos, poluentes na forma de aerossóis (óxidos de arsênico) dentre outros.

Na metalurgia os impactos ambientais são provenientes de efluentes líquidos contendo metais pesados, ânions, compostos orgânicos e metálicos, complexos e quelatos tóxicos, óleos (solventes orgânicos) emulsificados ou não, sólidos finos ou coloidais (lodos). Também são provocados por gases (SO_2 , NO_x) e aerossóis (óxidos de arsênico) e deposição de rejeitos sólidos (piritosos).

As pesquisas e as tecnologias existentes e as emergentes no campo do tratamento de efluentes líquidos (incluindo as suspensões) estão orientadas para as seguintes áreas:

1. Remoção de íons, metais pesados, ânions, sólidos suspensos, complexos e quelatos, amônia, tio-composto e nitratos;
2. Tratamento de grandes volumes de águas subterrâneas e águas de minas contaminadas com baixas concentrações de metais pesados dissolvidos;
3. Controle de emissões radioativas e as que contenham cianetos, derivados de arsênio, mercúrio e substâncias orgânicas;
4. Controle de produtos de corrosão e recirculação de águas;
5. Separação de óleos emulsificados ou não, recuperação de solventes orgânicos (extração por solventes);
6. Remoção e tratamento de lodos, colóides e ultrafinos depositados em bacias ou na forma de suspensão.

Os efluentes líquidos ou águas efluentes contêm, na maioria dos casos, sólidos em suspensão e uma variada gama de reagentes utilizados fundamentalmente nos processos de tratamento de minérios e posteriormente no processamento metalúrgico dos concentrados. No caso do carvão, o efluente líquido

é conhecido como água preta e também contém sólidos finos/ultrafinos, óleos e vários íons.

Quanto à toxicidade pelos metais pesados em efluentes é bem documentada e sua remoção constitui um vasto campo de pesquisa.

A contaminação por metais pesados está relacionada com a atividade extrativista mineral, referente às extrações de calcáreo, fosfato, argila, dolomita, chumbo, calcita, prata, ouro, etc. Inúmeros problemas foram causados pela introdução de rejeitos minerais nos rios, particularmente metais pesados, destacando-se as suas repercussões negativas na fauna aquática (MACHADO et al., 2002).

Outras fontes de poluição com metais pesados são as atividades de metalurgia, incluindo a fundição e galvanoplastia (CHAQUI et al., 1997a), curtumes (JORDÃO et al., 1999), gases liberados pela queima de combustíveis fósseis, pesticidas (GIMENO-GARCÍA et al., 1996; LAGRIFFOUL et al., 1998), utilização de lodo de esgoto para fertilização na agricultura (CHAQUI et al., 1997a), aplicação de fertilizantes com impurezas (CHEN e KAO, 1995; GALLI et al., 1996; SCHIKLER e CASPI, 1999) e a fabricação e descarte de baterias (PRASAD, 1995; KEFALA et al., 1999).

A Tabela 2.5 mostra a concentração média de alguns metais em efluentes de 20 indústrias que processam metais na Região do ABC paulista e valores padrão de emissão nos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul.

Tabela 2.5 - Concentração média de alguns metais em efluentes de 20 indústrias.

Parâmetros	Valores encontrados	Valores encontrados	Padrões de emissão ⁽¹⁾	Padrões de emissão ⁽²⁾
	Média (mg L ⁻¹)	Máximo (mg L ⁻¹)	Corpo d'água (mg L ⁻¹)	Corpo d'água (mg L ⁻¹)
Cromo total	11,7	47,5	5,0	0,5
Cádmio	0,18	0,31	0,2	0,1
Níquel	19,5	46,2	2,0	1,0
Chumbo	4,4	14,0	0,5	0,5
Zinco	394,4	3500	5,0	1,0
Cobre	13,0	43,0	1,0	0,5

Fonte: (1) CETESB/SP e (2) SSMA/RS

Ante aos potenciais danos ao meio ambiente causados por estas emissões, diversos estudos (incluindo a pesquisa) e os projetos ambientais encontram-se

atualmente inseridos no contexto de minimização do volume e/ou concentração de resíduos poluentes (tecnologias limpas). Assim, as principais medidas adotadas na atualidade destacam o gerenciamento de elementos poluentes para minimização de impacto, redução de custos, multas, manuseio e transporte de resíduos. As principais atividades e ações neste sentido são:

1. recuperação e reciclo (recirculação) de matérias-primas, resíduos sólidos e águas de processo (interna e externa);
2. redução na fonte mediante a otimização de processos, diminuição de desperdícios,
3. controle da matéria-prima, manutenção preventiva, treinamento e capacitação de funcionários etc.;
4. tratamento e emprego de técnicas adequadas, aos padrões das normas internacionais de qualidade e ambiente;
5. disposição de resíduos sólidos de maneira segura, usando técnicas de monitoramento e controle de possíveis vazamentos e infiltrações.

Os processos de tratamento de águas devem ser economicamente viáveis, simples e eficientes, considerando o fato de que seu custo é sempre tido como extra na produção.

Ainda, estes precisam ser específicos devido a enorme variação do fluxo nas diferentes indústrias, tipo, associação e concentração do elemento contaminador e devido aos padrões de emissão, que variam inclusive dentro do mesmo país.

Por último, esses processos são diferenciados em relação ao seu objetivo final. Os efluentes às vezes são depositados (ou despejados) sem qualquer tipo de tratamento, ou podem ser tratados visando, além da redução dos possíveis impactos ambientais, à extração de elementos de valor.

Existem técnicas disponíveis utilizadas para a remoção de metais pesados dos efluentes das indústrias e são compostas pelo emprego de técnicas de precipitação química, troca iônica, processos eletroquímicos e/ou processos de membrana (KEFALA et al., 1999; KAPOOR et al., 1999), processos de osmose reversa (KAPOOR et al., 1999), oxidação e redução química, filtração, tratamento eletroquímico, evaporação ou extração por solventes (WAIHUNG et al., 1999), no entanto, o custo destes processos é muito elevado (VEGLIO e BEOLCHINI, 1997).

A necessidade de métodos econômicos e eficientes para a remoção dos metais pesados tem resultado no desenvolvimento de novas tecnologias de

separação (KEFALA et al., 1999). Como exemplo, pode-se citar as técnicas biológicas para a remoção de chumbo dos efluentes as quais podem oferecer uma alternativa mais eficiente do que os processos físico-químicos convencionais (WAIHUNG et al, 1999).

2.3 Biorremediação

A biorremediação de metais pesados tem recebido uma grande atenção recentemente, não apenas como novidade científica, mas também como uma aplicação de potencial na indústria. Os microrganismos incluindo bactérias, algas, fungos filamentosos e leveduras são biorremediadores eficientes, removendo metais via mecanismos ativos e passivos (DONMEZ e AKSU, 1999) e podem acumular eficientemente os metais pesados do ambiente (GADD, 1990).

Um método ainda em desenvolvimento é a fitorremediação, onde plantas superiores são utilizadas para neutralizar poluentes orgânicos, inorgânicos ou nucleotídeos (TAN, 2000). Este método é apropriado quando soluções com baixos custos são essenciais ou quando o lento processo de remediação de efluentes com relativa baixa concentração de metais é aceitável (NEDELKOSKA e DORAN, 2000).

2.4 Fitorremediação

A fitorremediação foi definida como sendo o uso de plantas e seus microrganismos associados em condições otimizadas para remover, conter, transferir, estabilizar e/ou degradar, ou tornar inofensivos os contaminantes, incluindo compostos orgânicos e metais tóxicos (RASKIN e ENSLEY, 2000).

Segundo Martins et al. (2005) a fitorremediação é uma técnica de descontaminação em que se utilizam plantas para remover poluentes do ambiente ou transformá-los em formas menos perigosas para os seres vivos.

O conceito de se utilizar plantas para se limpar ambientes contaminados não é novo. Há 300 anos, plantas foram utilizadas para o tratamento de águas residuárias na Alemanha (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000). No fim do século 19, *Thlaspi caerulescens* e *Viola calaminaria* foram as primeiras espécies vegetais documentadas por acumular altos níveis de metais nas folhas. Em 1935, plantas do gênero *Astragalus* foram capazes de acumular mais de 0,6% de selênio na biomassa seca da parte aérea. Uma década depois, foram identificadas culturas capazes de acumular mais de 1% de níquel na parte aérea (LASAT, 2000).

Recentemente, a idéia de se utilizar plantas que hiperacumulem metais para remover e reciclar seletivamente metais em excesso em efluentes, surgiu com a descoberta de diferentes plantas, que acumulavam altas concentrações de metais em sua folhagem (GARBISU e ALKORTA, 2001), sendo introduzida em 1983, tornando-se pública em 1990, e sendo estudada como uma tecnologia prática e com maior custo benefício do que as técnicas de precipitação química, troca iônica, processos eletroquímicos e/ou processos de membrana entre outros (CHANEY, 1997).

O impacto ambiental e os custos de implementação são inferiores àqueles dos métodos físicos e químicos (SALT et al., 1998). A utilização da fitorremediação está difundida principalmente nos Estados Unidos e na Europa. De acordo com Accioly e Siqueira (2000), projeções anuais para os Estados Unidos apontavam, para 2005, gastos com fitorremediação na ordem de 100 - 200 milhões de dólares. Quando comparada com técnicas tradicionais, como bombeamento e tratamento, ou remoção física da camada contaminada, a fitorremediação é vantajosa, principalmente por sua eficiência (PIRES et al., 2005) e baixo custo (SUSARLA et al., 2002).

A maior parte das tecnologias de remediação físico-químicas é utilizada para o tratamento de efluentes altamente poluídos, não sendo adequadas para efluentes com poluição vasta e difusa, aonde os poluentes ocorrem em baixas concentrações e superficialmente (GARBISU e ALKORTA, 2001). Neste caso, pode-se empregar a fitorremediação (KHAN et al., 2000), pois os efluentes com alta contaminação não suportam o crescimento de plantas. Os poluentes que podem ser removidos, são os metais pesados, 2,4,6-trinitro tolueno, tricloroetileno, benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (GARBISU e ALKORTA, 2001).

Mas, para que a fitorremediação ocorra, os contaminantes devem estar ao alcance da zona de raízes das plantas, estarem biodisponível, e serem biologicamente absorvidos (KHAN et al., 2000).

Suas vantagens comparadas com métodos existentes de remediação incluem a mínima destruição e desestabilização do efluente, baixo impacto ambiental e estética favorável (NEDELKOSKA e DORAN, 2000). Além disso, é uma alternativa limpa, de baixo custo e fornece contenção dos lixiviados, manutenção e melhora da estrutura, fertilidade e biodiversidade (KHAN et al., 2000), possuindo natureza não

intrusiva, e absorvendo metais quando em baixa concentração no solo, cuja extração é difícil utilizando-se outra tecnologia (BAIRD, 2001).

Além do baixo custo em comparação com os outros métodos de remediação, é uma solução permanente, aplicado *in situ*, utiliza energia solar, é aplicável a uma grande variedade de contaminantes e possui grande aceitação pública (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000). Outra vantagem é que ela se torna melhor ao longo do tempo, com o crescimento mais profundo e mais denso das raízes, maior transpiração de água e crescimento mais viçoso da parte aérea (SCHNOOR, 2002).

Quanto aos limites da fitorremediação, pouco se sabe sobre os processos moleculares, bioquímicos e fisiológicos que caracterizam a hiperacumulação, e um longo tempo é necessário para que ocorra uma remediação em um nível aceitável (KHAN et al., 2000; BAIRD, 2001), pois até mesmo o melhor acumulador de metais exige um período relativamente longo de cultivos contínuos para descontaminar uma área (GARBUSU e ALKORTA, 2001). A maior parte das plantas hiperacumuladoras possui baixa penetração radicular, pouca produção de biomassa e lento desenvolvimento. Outras limitações são a contaminações potenciais da cadeia alimentar e a disposição da biomassa (KHAN et al., 2000). O processo depende da sazonalidade para o crescimento vegetal, pode não atingir 100% de remediação, e pode ser ineficiente para contaminantes fortemente adsorvidos (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000).

A fitorremediação de efluentes com alta contaminação não é possível, pois é difícil obter concentrações maiores que 2 g kg^{-1} de massa seca. Se o efluente for levemente mais contaminado que o nível de ação, a rizofiltração pode ser uma opção (SCHNOOR, 2002).

2.5 Técnicas de Fitorremediação

A fitorremediação pode se subdividir em fitovolatilização, fitodegradação, biorremediação rizo esférica, fitotransformação, fitoextração e rizofiltração.

2.5.1 Fitovolatilização

A fitovolatilização utiliza as plantas para reduzir a biodisponibilidade de poluentes no ambiente, imobilizando e estabilizando-os (GARBUSU e ALKORTA, 2001; SCHNOOR, 2002). Utiliza plantas para volatilizar poluentes (como o mercúrio e o selênio) pela folhagem (GARBUSU e ALKORTA, 2001; SCHNOOR, 2002).

2.5.2 Fitodegradação

A fitodegradação utiliza as raízes das plantas e seus microrganismos associados, para degradar poluentes orgânicos (GARBUSU e ALKORTA, 2001).

2.5.3 Rizosférica

A biorremediação rizosférica é utilizada para uma grande variedade de contaminantes orgânicos, hidrocarbonetos do petróleo, e metais pesados, onde as raízes das plantas estimulam a degradação aeróbia dos contaminantes (SCHNOOR, 2002).

2.5.4 Fitotransformação

Na fitotransformação: os contaminantes são absorvidos pelas plantas e transformados por atividade enzimática (SCHNOOR, 2002).

2.5.5 Fitoextração

A fitoextração utiliza plantas acumuladoras de poluentes para transportar e concentrar contaminantes para a parte aérea, e raízes (GARBUSU e ALKORTA, 2001). Na fitoextração a planta absorve o contaminante, translocando-o e acumulando-o na parte aérea. Devendo este estar numa forma acessível para a absorção pelas raízes. Sua translocação da raiz para a parte aérea facilita a retirada do contaminante, quando a parte aérea é colhida. A taxa de remoção é dependente da biomassa coletada no final do ciclo, do número de cortes no ano e sua concentração na porção colhida (ACCIOLY e SIQUEIRA, 2000).

A fitoextração envolve a absorção dos contaminantes do solo pela raiz, onde são armazenados ou transportados e acumulados em suas partes aéreas. É aplicada principalmente para metais (Cd, Ni, Cu, Zn, Íons de Pb) podendo ser usada também para outros compostos inorgânicos (Se) e compostos orgânicos (McGRATH, 1998). Esta técnica utiliza plantas chamadas hiperacumuladoras, que tem a capacidade de armazenar altas concentrações de metais específicos (0,1% a 1% do peso seco, dependendo do metal).

2.5.6 Rizofiltração

A rizofiltração é a adsorção ou precipitação próxima às raízes, ou absorção pelas raízes, de contaminantes presentes em solução ao redor da zona radicular (SCHNOOR, 2002).

Na Figura 2.1 apresenta o mecanismo da rizofiltração de metais em efluentes usando macrófitas aquáticas.

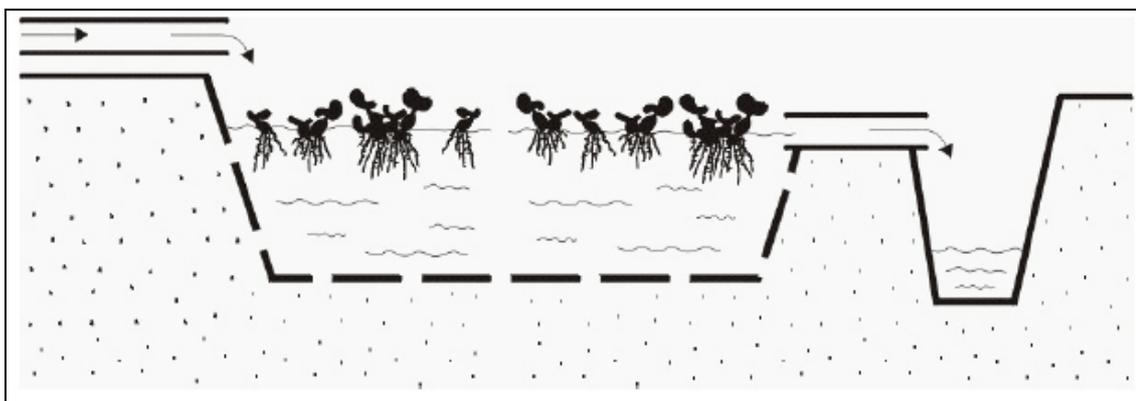


Figura 2.1 - Rizofiltração de metais em efluentes usando macrófitas aquáticas.

Embora muitos mecanismos diferentes atuem simultaneamente durante a bioacumulação e a bioissorção, apenas alguns foram claramente identificados (GADD e WHITE, 1983), os quais envolvem a remoção dos metais via mecanismos ativos ou passivos, respectivamente (DONMEZ e AKSU, 1999). Segundo VOLESKI (1990), esses processos de remoção de metais que envolvem uma biomassa microbiana são bioissorção e bioacumulação.

2.6 Bioissorção e Bioacumulação

A bioissorção é baseada na capacidade dos metais de se ligarem a vários materiais biológicos (VEGLIO e BEOLCHINI, 1997) e apresenta interesse para a indústria devido à capacidade de remoção de metais pesados dos efluentes pelos microrganismos (KEFALA et al., 1999), por exemplo, a remoção de chumbo por fungos filamentosos (WAIHUNG et al., 1999). Este método é independente do ciclo metabólico do microrganismo e é conhecido também por captação passiva (KAPOOR et al., 1999; DONMEZ e AKSU, 1999).

A bioissorção envolve o contato de uma fase fluida livre (líquida ou gasosa) com uma fase rígida permanente, granulada, que tem a propriedade de reter e de guardar seletivamente uma, ou mais de uma, entre as espécies contidas inicialmente no fluido (PERRY, 1980).

O estudo da bio sorção tem sido realizado principalmente para a captação de metais pesados devido à sua conhecida toxicidade, ao contrário dos poluentes de natureza orgânica, que na maioria das vezes são biodegradáveis. Os poluentes de natureza metálica quando liberados no ambiente tendem a persistir indefinidamente, acumulando-se por toda a cadeia alimentar.

Vários fatores podem influenciar na bio sorção de íons metálicos tais como: pH, tipo de cátion metálico, a natureza e a concentração do material adsorvente, a salinidade, a ação catalítica dos microrganismos, o carbono orgânico dissolvido, a alcalinidade, a competição entre cátions, etc (BRUNO, 1999).

A bio sorção de metais não é baseada num único mecanismo. Ela consiste de vários mecanismos que quantitativa e qualitativamente diferem de acordo com as espécies utilizadas, a origem da biomassa e seu processamento. A bio sorção de metais segue mecanismos complexos, principalmente: troca iônica, quelação, adsorção por forças físicas e o aprisionamento de íons em capilares inter e intrafibrilares e espaços da rede de polissacarídeos estruturais, como resultado do gradiente de concentração e difusão através da parede celular e membranas.

A troca iônica é identificada como o principal mecanismo da bio sorção de metais. Esta hipótese foi formulada a partir de estudos que revelaram uma diminuição da bio sorção de cátions metálicos à medida que o pH diminui. Como muitos metais precipitam em pH maior que 5,5, inicialmente considerou-se que em altos valores de pH, os metais poderiam se acumular dentro das células e em capilaridades da parede celular por mecanismo combinado de sorção - microprecipitação. Entretanto, experimentos realizados em batelada, sem ajuste de pH, revelaram que a sorção de metais pesados por biomassa tratada com ácido causa decréscimo do pH da solução. A partir desses resultados confirma-se a hipóteses de troca-iônica entre prótons e metais pesados (COSSICH, 2000).

Existem vários grupos químicos que podem atrair e reter metais na biomassa: grupos cetamido da quitina, polissacarídeos estruturais de fungos, grupo amino e fosfato em ácidos nucléicos, grupo amino, amido, sulfidril e carboxil em proteínas, grupo hidroxil em polissacarídeos. Entretanto, a presença de alguns grupos funcionais não garante sua acessibilidade para a sorção (VOLESKY e HOLAN, 1993).

Células de microrganismos vivos têm capacidade efetiva de retenção de metais, mas requer condições especiais como suplemento nutricional para

manutenção e crescimento das células (SEKHAR et al., 2003). Além disso, as condições ótimas requeridas para a captação dos metais podem ser tóxicas para as células ativas (CHURCHIL et al. 1995; SHENG et al., 2004).

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).

Células mortas podem melhorar a biossorção, proporcionando uma captação rápida e eficiente de elementos metálicos e fazendo com que o biossorvente comporte-se como uma resina de troca-iônica, desta forma os metais podem ser desorvidos rapidamente e recuperados (SHENG et al., 2004).

A biossorção constitui em uma alternativa técnica e economicamente atrativa, de fácil disponibilidade, baixos custos operacionais, minimização do volume de lodos químicos e/ou biológicos a serem dispostos e alta eficiência e, desintoxicação de efluentes muito diluídos e não requer utilização de nutrientes adicionais durante o processo (CRIST et al., 1990; KRATOCHVIL e VOLESKY, 1990).

Entretanto, a biossorção não necessariamente substitui metodologias existentes, mas pode atuar como um “sistema de polimento” a processos que não são completamente eficientes.

A biossorção tem sido aplicada principalmente para tratar soluções sintéticas contendo um único íon metálico.

Segundo Terry e Stone (2002) sistemas multicomponentes fornecem dados do efeito que pode ocorrer entre as espécies de íons metálicos, pois muitos efluentes industriais contêm misturas de metais pesados e poderá haver interação e competição entre os mesmos, dependendo do número de metais e natureza da biomassa. Neste sentido a biossorção multicomponente é uma área que necessita de estudos detalhados.

Seolatto (2005), avaliou o potencial de biossorção dos metais pesados Ni^{+2} e Cr^{+3} , à 30°C e pH 3, com a alga marinha *Sargassum filipendula* sem tratamento e com tratamento com $CaCl_2$. Os resultados obtidos pelo autor demonstraram que o pré-tratamento da biomassa com $CaCl_2$ não influenciou de maneira significativa a cinética nem a capacidade de biossorção da alga *Sargassum filipendula* para o cromo e níquel.

É importante quando avaliamos a probabilidade de retirada e distribuição de um produto dentro da biota. Um alto coeficiente já é indicado pela solubilidade e é

uma presunção evidente que um composto poderá se acumular em organismos vivos.

Na biossorção os microrganismos seqüestram o metal através da ligações de superfície, entretanto, no processo da bioacumulação, os metais são concentrados através de uma combinação de reações de superfície como precipitações e formação de complexos intra e extracelular (GUELF, 2001). Porém, existem limitações práticas significativas para sistemas que empregam a bioacumulação, como a inibição de crescimento celular quando a concentração dos íons dos metais torna-se muito elevada, ou a elevada toxicidade dos resíduos hídricos como, extremos pH e altas concentrações de sais (GUELF, 2001). O processo ativo de biorremocão também requer fornecimento de nutrientes adequados, aeração e temperatura para o crescimento dos microrganismos (GUELF, 2001).

Segundo Zouboulis et al (2004) as interações entre materiais biológicos e os íons das espécies metálicas podem ser divididas em duas principais categorias:

1. Bioacumulação: processo que envolve o metabolismo, portanto, depende de energia da biomassa, que deve estar ativa.
2. Biossorção: processo passivo, onde a captura é realizada mesmo estando a biomassa inativa, é independentemente da energia.

Uma das características dos seres vivos é a presença de atividade metabólica. O metabolismo nada mais é do que o conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células. No caso das células vegetais, o metabolismo costuma ser dividido em primário e secundário. Entende-se por metabolismo primário o conjunto de processos metabólicos que desempenham uma função essencial no vegetal, tais como a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos.

Mesquita (1995) define bioacumulação a captação de espécies metálicas através de processos que requerem atividade metabólica, portanto células vivas. Neste processo o metal é captado pelas células vivas que utilizam diferentes caminhos, como o transporte através da membrana celular, a síntese de proteínas intra e extracelulares com capacidade de formar ligação com metais, à precipitação extracelular e a formação de complexos como resultado da excreção de metabólitos.

Por sua vez, na biossorção, a captura dos íons metálicos pela biomassa é um processo passivo que se dá por interações físico-químicas entre os íons e os grupos funcionais presentes na superfície da biomassa (KUYUCAK e VOLESKY, 1988).

Bioacumulação é o processo através do qual os seres vivos absorvem e retêm substâncias químicas no seu organismo; pode ser de uma forma direta através do ambiente que os envolve (bioconcentração), ou seja, a absorção dessas substâncias químicas é retirada diretamente do meio ambiente através das vias oral, percutânea e respiratória e indiretamente a partir da cadeia alimentar (biomagnificação) (GUIMARÃES,1987).

No ambiente aquático há oportunidade para a ocorrência dos dois mecanismos e no ambiente terrestre a bioacumulação indireta é o mecanismo predominante. No contexto da avaliação de risco aquático a importância da bioacumulação está relacionada em sua influência sobre a concentração de um produto químico para os organismos predadores incluindo o homem.

No Brasil existem vários relatos de contaminação da água e organismos aquáticos por metais. Em alguns deles foi evidenciada a ocorrência de bioacumulação em moluscos, como a contaminação da Baía de Todos os Santos-BA por Cd, Hg, Pb e Zn, provocada pelo despejo de esgoto urbano e rejeitos da indústria petroquímica e metalúrgica; da Baía de Guanabara-RJ, por Cr, Cu, Mn e Zn, também devida ao despejo de esgoto urbano e rejeitos da indústria petroquímica e metalúrgica; da Barra da Tijuca-RJ, por Cu, Mn e Zn, sem causa definida; da Baía de Sepetiba-RJ, por Cd, Cr e Zn, provocada pelo despejo de rejeitos da indústria metalúrgica e a contaminação do Complexo Estuarino-lagunar de Iguape-Cananéia por chumbo, oriunda da atividade mineradora no leito do Rio Ribeira de Iguape.

2.7 Adsorventes

Segundo HAYASHI (2001), vários estudos têm sido realizados para avaliar o potencial de remoção de metais pesados de vários materiais biológicos. Dentre os materiais analisados podem-se citar as algas marinhas e seus derivados, turfas e musgos, quitosana, lignina, alguns tipos de bactéria e fungos, resíduos agrícolas, entre outros.

Para ser satisfatório em aplicações comerciais, um adsorvente deve ter: alta seletividade para possibilitar uma boa separação; grande área superficial; alta capacidade para minimizar a quantidade de adsorvente necessária; cinética favorável e propriedade de transporte para rápida adsorção; estabilidade térmica e química, incluindo solubilidade extremamente baixa em contato com o fluido, para preservar a quantidade de adsorvente e as suas propriedades; dureza e força

mecânica para prevenir esmagamento e erosão; nenhuma tendência para promover reações químicas indesejáveis; custo relativamente baixo (SEADER, 1998).

Os adsorventes mais utilizados é a alumina ativada, o carvão ativado, a sílica gel e zeólitas.

Alumina ativada é a forma porosa do óxido de alumínio (Al_2O_3) com grande área superficial, sintetizado pelo aquecimento do óxido de alumínio hidratado a $400^\circ C$. Aluminas ativadas são utilizadas principalmente para secagem de gases e líquidos, mas pode ser usada também para adsorver gases e outros líquidos exceto a água.

Carvão ativado é um material micro-cristalino feito pela decomposição térmica da madeira, casca de vegetais, carvão, e assim por diante. Adsorção usando carvão ativado é comumente usada na separação de vapores orgânicos de gases. É usado também para separação em fase líquida. Uma aplicação comum na fase líquida é descoloração e desodorização de soluções aquosas.

Sílica gel é forma amorfa porosa da sílica (SiO_2) e é manufaturada pelo tratamento ácido do silicato de sódio e então seco. A superfície da sílica gel tem uma afinidade com água e materiais orgânicos. É usado principalmente na desidratação de gases e líquidos e fracionamento de hidrocarbonetos.

Zeólitas (peneiras moleculares) constituem importante classe de adsorventes sintéticos; são aluminossilicatos cristalinos que foram aquecidos para a remoção da água de hidratação. Têm elevada porosidade, com os poros (que na verdade são lacunas na rede) de tamanho uniforme e de dimensões essencialmente moleculares. Adsorvem apenas moléculas pequenas, são seletivas quanto à forma molecular e têm particular afinidade pelas moléculas insaturadas polares. As aberturas da rede têm diâmetro de 4 ou 5 angströms, respectivamente, a forma do aluminossilicato é de sódio ou de cálcio. As peneiras moleculares são usadas primordialmente no tratamento de gases, mas são também eficientes na secagem de líquidos orgânicos (PERRY, 1980).

Adsorventes poliméricos ou resinas são feitos pela polimerização de dois tipos principais de monômeros. Aqueles feitos a partir de aromáticos como estireno e divinilbenzeno são usados para adsorver orgânicos apolares de soluções aquosas. Aqueles feitos a partir ésteres acrílicos são utilizados com soluções mais polares em soluções aquosas (GEANKOPLIS, 2003).

2.8 Biossorvente

Atualmente, pesquisas têm sido elaboradas para enfatizar as potencialidades dos adsorventes naturais de origem biológica (biossorventes) como materiais alternativos para remoção de poluentes, principalmente íons metálicos, em efluentes. Estes materiais são úteis principalmente devido aos seus reduzidos custos e abundância.

O conhecimento da estrutura química dos biossorventes é essencial para modelar e prever seus desempenhos em ligar metais em sistemas de purificação de água. A efetividade global de um biossorvente em remover metais depende também da faixa de concentração, pH da solução, cinética da reação, equipamento de sorção e composição do efluente. A identificação dos sítios de ligação em biossorventes eficientes seria útil no processo de seleção de novos tipos de biomassa, bem como na tentativa de processos químicos ou biológicos (FOUREST e VOLESKY, 1996).

Os biossorventes possuem a capacidade de adsorver e/ou absorver íons metálicos dissolvidos. Entre estes materiais estão os microorganismos (bactérias, microalgas e fungos) e os vegetais macroscópicos (algas, gramíneas, plantas aquáticas). Partes ou tecidos específicos de vegetais (casca, bagaço, semente) também apresentam a capacidade de acumular metais pesados (COSTA et al., 2001).

Diversos materiais biológicos estão sendo investigados em relação a sua capacidade de biossorção de metais pesados em soluções aquosas os quais incluem fungos, macroalgas (MATHEICKAL et al., 1998), bactérias (CHANG et al., 1997), leveduras (VOLESKY e HOLAN, 1993), microalgas (HARRIS e RAMELOW, 1990), algas de água doce (RUBIO, 2003) entre outros.

Segundo Pires (2003) para a implementação de uma nova tecnologia de acumulação de metais pesados, uma série de requisitos deve ser estabelecida para a competitividade técnica e econômica do processo:

1. Alta taxa de crescimento e produção de biomassa
2. Capacidade de adsorção, concentração e/ou metabolização e tolerância ao contaminante.
3. Retenção do contaminante nas raízes.
4. Sistema radicular profundo.
5. Elevada taxa de exsudação radicular.

6. Fácil aquisição ou propagação de propágulos.
7. Capacidade de desenvolver em sistemas diferenciados.
8. Ocorrência natural em áreas poluídas.
9. Fácil controle ou erradicação.
10. Resistência a pragas e doenças.

Na aplicação dos materiais bioSORVENTES em processos de bioSORÇÃO em grande escala é necessário avaliar a capacidade máxima de sorção, cinéticas de sorção, do metal e regeneração e reutilização do bioSORVENTE, além do estado físico do bioSORVENTE quanto à dureza, porosidade, tamanho de partícula, densidade e resistência a variações dos parâmetros da solução, assim como temperatura, pH, quantidade de solvente, etc. (VOLESKY, 1990).

Nas plantas essa alta área superficial é decorrente da necessidade de remover da água seus nutrientes. No caso do *Potamogeton lucens*, os nutrientes são removidos pelas folhas, e na *Salvinia sp* e *Eichhornia crassipes*, pelas raízes. Após a secagem, as plantas mantêm, mesmo que biologicamente inativas, muitas de suas propriedades químicas. Por exemplo, a presença de ceras nos pêlos das folhas da *Salvinia* confere ao vegetal um comportamento hidrofóbico, que repele a água e permite a absorção de óleos. As plantas são ricas também em grupos carboxila, um radical que apresenta a capacidade de reagir e fixar metais pesados (RUBIO, 2003).

As paredes de bactérias, algas e fungos são eficientes bioSORVENTES metálicos, e em muitos casos a ligação inicial pode ser seguida pela disposição inorgânica de quantidades crescentes de metal. Ligações covalentes e iônicas podem estar envolvidas na bioSORÇÃO, com constituintes tais como proteínas e polissacarídeos. Em várias espécies, a bioSORÇÃO pode ser a maior proporção da retenção total. As variações na composição das paredes celulares das células microbianas, que podem ser influenciadas pelas condições de cultura, podem resultar em variações consideráveis na capacidade bioSORTIVA e permitir algum grau de acumulação seletiva (GADD, 1990).

A bioacumulação de metais por microrganismos vivos não é um processo fácil devido à toxicidade do metal, que geralmente inibe o crescimento microbiano. A solução seria a separação dos estágios de propagação da biomassa e bioacumulação do metal no qual tem levado ao desenvolvimento de materiais bioSORVENTES inativos. A concentração de metais pode também ser feita utilizando resíduos de biomassa, bem como células imobilizadas (TAVARES et al., 2001).

As macrófitas aquáticas têm sido uma alternativa utilizada no tratamento de remoção de metais em efluentes devido a sua habilidade de acumulação e de ser extremamente produtiva, principalmente em locais com elevado grau de eutrofização.

2.9 Macrófitas Aquáticas

Desde a criação do termo macrófitas aquáticas em 1938 o conceito desses vegetais foi sendo moldado por alguns autores (COOK, 1974; IRGANG e GASTAL, 1996). De acordo com o primeiro autor, as plantas aquáticas são todos os vegetais desde “*Charophyta*, *Bryophyta*, *Pteridophyta* e *Permatophyta* cujas partes fotossinteticamente ativas estão permanentemente ou por alguns meses em cada ano submersas no corpo d’ água ou flutuantes na superfície d’água”. Irgang e Gastal (1996), com base no conceito de Cook (1974), incluem as plantas de ambientes salobros e marinhos à definição.

As macrófitas aquáticas são importantes componentes de ecossistemas aquáticos, constituem-se, muitas, vezes nos principais produtores primários, especialmente em ambientes lênticos, e possuem papel fundamental na ciclagem de nutrientes e na formação de detritos (PETRUCIO e ESTEVES, 2000; BINI et al., 2001). Frequentemente, constituem-se em substrato para macroinvertebrados aquáticos (TRIVINO-STRIXINO e STRIXINO, 1993), oferecem proteção contra predadores, servem como fonte direta (tecido vegetal) e indireta (substrato para crescimento de comunidade perifítica) de alimento (NEWMAN, 1991; WARD, 1992; ALLAN, 1995) e como locais de emersão de vários insetos aquáticos e semi-aquáticos (PELLI e BARBOSA, 1998).

De modo amplo, as macrófitas aquáticas ocorrem em zonas úmidas (PEDRALLI, 2003; PEDRALLI e TEIXEIRA, 2003), como definido pela Convenção Ramsar (1971).

De acordo com Moreira (1998), as macrófitas, como mostradas na Figura 2.2, são classificadas por vários autores em cinco grupos, que são:

1. Macrófitas aquáticas emersas – plantas enraizadas no sedimento e com folhas fora d’água. Alguns exemplos: *Typha*, *Ponteferia*, *Echinodorus*, *Eleocharis*.

2. Macrófitas aquáticas com folhas flutuantes – plantas enraizadas no sedimento e com folhas flutuando na superfície da água. Exemplos: *Nymphaea*, *Vitoria* e *Nymphoides*.
3. Macrófitas aquáticas submersas enraizadas – plantas enraizadas no sedimento, que crescem totalmente submersas na água. Podem crescer via de regra, até 11 m de profundidade, dependendo da disponibilidade de luz. A maioria tem seus órgãos reprodutivos flutuando na superfície ou aéreos. Exemplos: *Myriophyllum*, *Elodea*, *Egeria*, *Hydrilla*, *Vallisneria*, *Mayaca*, *Ruppia* e a maioria das espécies do gênero *Potamogeton*.
4. Macrófitas aquáticas submersas livres – são plantas que têm rizóides pouco desenvolvidos e que permanecem flutuando submergidas nas águas em locais de pouca turbulência. Geralmente ficam presas aos pecíolos e talos das macrófitas aquáticas de folhas flutuantes e nos caules das macrófitas emersas. Durante o período reprodutivo emitem flores emersas (exceção da *Ceratophyllum*). Exemplos: *Utricularia* e *Ceratophyllum*.
5. Macrófitas aquáticas flutuantes – são aquelas que flutuam na superfície da água. Geralmente seu desenvolvimento máximo ocorre em locais protegidos pelo vento. Neste grupo, destacam-se *Eichhornia crassipes*, *Salvinia*, *Pistia*, *Lemna* e *Azolla*.

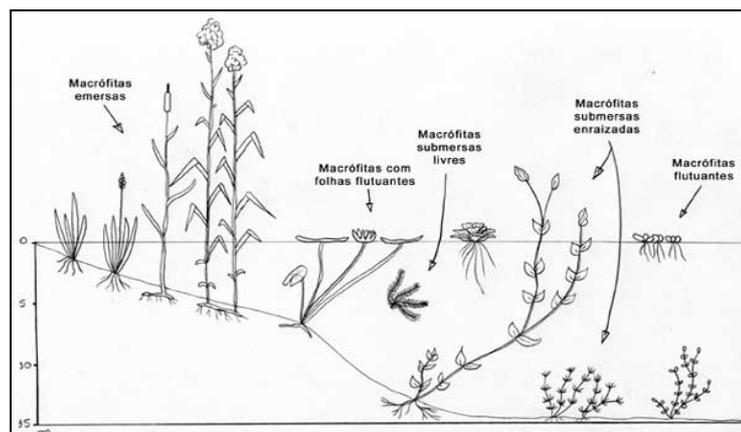
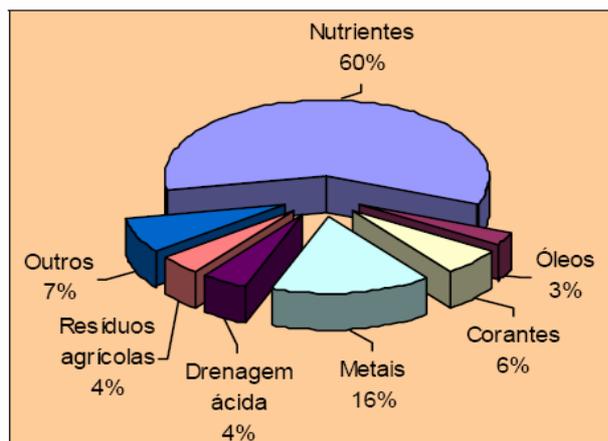


Figura 2.2 - Tipos de macrófitas aquáticas.

Muitas dessas plantas aquáticas são conhecidas por sua habilidade de acumulação de poluentes, que pode ocorrer por interações físico-químicas ou por mecanismos dependentes do metabolismo. Diversos estudos foram realizados neste

sentido. A Figura 2.3 mostra um levantamento dos trabalhos publicados no período entre 1975-1999 que utilizaram plantas aquáticas no tratamento de águas e efluentes. No caso do uso de plantas aquáticas vivas, a remoção de nutrientes (N, P e DBO) foi a alternativa mais estudada. O tratamento de águas provenientes das drenagens ácidas das minas, dos resíduos agrícolas, das indústrias têxteis e a remoção de metais foram avaliados em menor proporção (COSTA et al., 2001).



Fonte: COSTA et al (2001)

Figura 2.3 - Estudos realizados no tratamento de águas e efluentes com plantas aquáticas.

A vegetação de macrófitas aquáticas de água doce tem um papel ecológico muito importante. Muitas comunidades destas plantas são extremamente produtivas, principalmente em locais com elevado grau de eutrofização. No Brasil, devido ao clima apropriado, diversas espécies apresentam altos índices de reprodução. O exemplo mais clássico é do “aguapé”, *Eichhornia crassipes*, que apresenta valores de produtividade de até 1000 kg d há⁻¹ (WESTLAKE, 1963).

Em certos locais do mundo, como na Flórida (EUA), o controle das plantas chegou a ser uma questão de defesa nacional, onde o exército americano mobilizou meios mecânicos, químicos e biológicos para controlar a infestação em canais de navegação (CAW, 1982).

As espécies de *Salvinia* são também consideradas como umas das plantas mais nocivas. Um caso de infestação extrema ocorreu no Lago Kariba, na África, onde no ano de 1963 ocorreu um recobrimento de 1002 km². Um caso recente de infestação por esse vegetal, com repercussão nacional, ocorreu na recém criada barragem da hidroelétrica de Itá, no norte do Estado do Rio Grande do Sul, no verão

do ano 2000. A Figura 2.4 mostra a *Salvinia sp* no canal de captação da estação de tratamento de água em Atlântida Sul (região costeira do Rio Grande do Sul).



Fonte: SCHNEIDER e RUBIO (2003)

Figura 2.4 - *Salvinia sp* no canal de captação da estação de tratamento.

Foi justamente a alta produtividade de biomassa que criou um grande interesse nas propriedades fisiológicas e uso potencial para o benefício do homem. Nas primeiras pesquisas realizadas nas décadas de 60 e 70, verificou-se que muitas plantas aquáticas, em especial o aguapé, removiam poluentes de águas, incluindo nitrogênio, fósforo, metais pesados e fenóis (WOLVERTON, 1975; WOLVERTON e McDONALD, 1975a, 1975b, 1976, 1979; KAWAI e GRIECO, 1983; PINTO et al, 1987; LEE e HARDY, 1987). Entretanto, muitas das experiências no uso de lagoas contendo as plantas aquáticas no tratamento de efluentes líquidos foram infrutíferas, principalmente por causa da proliferação de mosquitos e pela dificuldade no manejo das plantas. Em muitos casos adoeciam intoxicadas pelos metais pesados e também havia uma série de restrições quanto aos posteriores usos das plantas contaminadas com os poluentes (MURAMOTO e OKI, 1983; KAY et al, 1984; ROSAS et al, 1984; BLAKE et al, 1987; REDDY e DEBUSK, 1987; JANA, 1988; DELGADO et al, 1993).

Porém, mais recentemente, uma nova filosofia de uso da biomassa das plantas aquáticas surgiu (COSTA et al. 2001). Em vez de empregar lagoas com macrófitas vivas, os vegetais foram secados, moídos e transformados em um material adsorvente e/ou absorvente. Nesse estado, o material apresenta uma série de vantagens, pois pode ser embalado, armazenado, transportado e usado a granel

ou em reatores no tratamento de efluentes líquidos. Comparado a outros materiais, por exemplo, carvões ativados, apresentam um custo de produção bem mais baixo.

A utilização de plantas aquáticas como agente purificador, justifica-se pela sua intensa absorção de nutrientes e pelo seu rápido crescimento, como também por oferecer facilidades de sua retirada das lagoas e ainda pelas amplas possibilidades de aproveitamento da biomassa escolhida (ROMITELLI, 1983; GRANATO, 1995). Além disso, podem ser cultivadas visando a produção de alimentos que podem ser aproveitados tanto por animais como pelo próprio homem (BRANCO e BERNARDES, 1983; BRANCO et al, 1985).

Os adsorventes naturais podem ser utilizados como materiais alternativos para a remoção de metais nos efluentes, sendo particularmente úteis, pois apresentam custos reduzidos e se encontra com abundância.

Segundo Romitelli (1983), o sucesso de tratamento empregando plantas aquáticas vai além do baixo custo e reduzidos gastos energéticos, há muitas possibilidades de reciclagem da biomassa produzida, que de outra forma seria desperdiçada nos esgotos, levada para o fundo de rios e lagos.

O grau de enriquecimento depende tanto do tipo de metal como da espécie de planta absorvedora de metal (CYMERMAN e KEMPERS, 1996).

Devido a sua resposta temporal e os efeitos da sua capacidade integrada na remoção de metais pesados, as macrófitas podem ser utilizadas como bons indicadores indiretos das atividades da depuração do corpo de água (OERTEL, 1995).

As plantas removem os metais do corpo de água pela adsorção superficial e/ou absorção e incorporam eles dentro de seu sistema ou armazenam eles numa forma química. No entanto, todas as plantas aquáticas não são igualmente efetivas na remoção de metais pesados (RAIS, 1995).

As plantas aquáticas têm sido utilizadas visando a melhoria da qualidade do efluente, principalmente no que diz respeito à redução das concentrações de nitrogênio e fósforo (HARVEY, 1973). Estas plantas exercem importante papel na remoção de substâncias dissolvidas, assimilando-as e incorporando-as à sua biomassa.

A remoção de metais pesados de soluções aquosas por esta planta aquáticas foi caracterizada detalhadamente por Costa et al, (2001). A absorção dos íons ocorre por reações de troca iônica, por grupos trocadores catiônicos fracos,

predominantemente íons carboxilas presentes na superfície das plantas. A remoção dos metais pesados pode ser eficientemente realizada em colunas de percolação com leito empacotado. Após a saturação, os metais podem ser recuperados e a biomassa regenerada por eluição com soluções ácidas. Vários ciclos de adsorção/dessorção podem ser realizados sem uma relevante perda na capacidade de sorção e degradação física dos materiais.

Plantas tais como *Phragmites communis*, *Scirpus lacustris*, *Eichhornia crassipes*, *Spirodela polydora*, *Elodea canadensis*, *Salvinia sp*, *Egeria densa*, *Hydrilla sp*, *Ceratophyllum demersum*, *Bacopa monnieri*, *Limnanthemum cristatum*, dentre outras, têm sido consideradas convenientes para a remoção de diferentes metais.

Em geral, plantas aquáticas são eficientes na remoção de metais pesados, nutrientes, algas, sólidos em suspensão, organismos, coliformes, cor, turbidez e DBO (PERAZZA et al, 1981).

2.10 *Salvinia auriculata*

A *S. auriculata* tem sido uma das opções estudadas no processo de bioacumulação de metais encontrados em águas e efluentes. Entretanto, o seu baixo custo viabiliza o seu largo emprego industrial. Desta forma, estudos recentes mostram que a biomassa de *salvinia* possui alta capacidade de acumular íons metálicos.

Salvinia (Salviniaceae) 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 apical e dois laterais que brotam e podem se desenvolver em ramos novos. As duas folhas são verdes e flutuam, possuem na sua superfície pequenos pelos que funcionam como repelentes da água. As verdadeiras raízes estão ausentes, a terceira folha adaptou-se e submergiu absorvendo água e íons funcionando basicamente como uma raiz (FORNO e HARLEY, 1979).

Estruturas reprodutivas: Alguns filamentos de folhas submersas podem desenvolver cadeias ou agrupamentos (nós). Estes nós se fragmentam do talo principal, sendo que cada fragmento tem até cinco brotos dormentes. Talos mais velhos separam dos nós como outros brotos para se desenvolver. Os fragmentos se dispersam principalmente com a ação do vento, correntes de água, inundação e

atividades humanas. Alguns brotos podem estar dormentes e podem sobreviver por longos períodos em condições secas, em períodos de até dois anos. Com ótimas condições, as plantas podem dobrar sua biomassa em 2 – 3 dias.

A ilustração da *S. auriculata* é apresentada na Figura 2.5 e as características físicas, químicas e biológicas encontram-se na Tabela 2.6.



Figura 2.5 - Foto ilustrativa da *S. auriculata*.

Tabela 2.6 - Propriedade da biomassa da *S. auriculata*

Propriedade	<i>S. auriculata</i>
Forma das partículas	Lamelar/acicular
Massa específica aparente	0,13 g cm ⁻³
Massa específica real	1,1 g cm ⁻³
Retenção de água	4,2 g g ⁻¹
Área superficial	270 m ² g ⁻¹
Comportamento de troca iônica	Catiônico fraco
Concentração grupos carboxilas	0,9 meq g ⁻¹
Concentração grupos oxidrila	2,2 meq g ⁻¹
Comportamento partição água/hexano	Hidrofóbico
Teor de proteínas	11,5%
Teor de carboidratos	77,2%
Teor de lipídios	1,1%
Teor de cinzas	10,2%

Fonte: Costa et al (2000)

Habita ambientes de águas lânticas de lagos, lagoas, reservatórios, rios, pântanos, fossos, campos de arroz. Cresce melhor em água rica em nutrientes e em climas tropicais, e congelação ocasional, mas não por períodos prolongados.

2.11 Isotermas de Equilíbrio

A distribuição do adsorbato entre a fase fluida e a fase adsorvida envolve um equilíbrio de fases, que é governado pelos princípios da termodinâmica. Dados de equilíbrio são geralmente reportados na forma de isotermas, que são diagramas mostrando a variação da concentração de equilíbrio no sólido adsorvente com a pressão parcial ou concentração da fase fluida, em uma temperatura específica. A determinação experimental das isotermas é o primeiro passo no estudo de um novo sistema adsorbato/adsorvente. A informação daí retirada é importante na estimativa da quantidade total de adsorvente necessária para certo processo e conseqüentemente no dimensionamento dos equipamentos a serem utilizados em tal processo adsortivo (KANEKO, 1994).

O procedimento experimental para obter a isoterma é bastante simples: basta colocar em contato a solução contendo o componente a ser adsorvido com diferentes massas de adsorvente até atingir o equilíbrio. Após a filtração pode-se obter a concentração de equilíbrio em solução (c ; kg de adsorbato m^{-3} fluido) e a quantidade de material adsorvido (q ; kg de adsorbato kg^{-1} adsorvente). Informações importantes sobre o mecanismo de adsorção são obtidas a partir das isotermas (PERRY, 1980).

Na adsorção, o pH, a temperatura e principalmente o tipo de porosidade do sólido adsorvente, são parâmetros que influenciam na forma da isoterma (PERRY, 1980).

Nos sistemas simples, uma única curva representa a concentração do soluto na fase sólida em função da sua concentração, ou da sua pressão parcial, na fase fluida (PERRY, 1980).

Para gases, a concentração é usualmente dada em percentagem molar ou como pressão parcial. Para líquidos, a concentração é freqüentemente expressa em unidades de massa como partes por milhão. A concentração de adsorbato no sólido é dada como massa adsorvida por unidade de massa original de adsorvente (McCABE, 1993).

2.11.1 Tipos de Isotermas

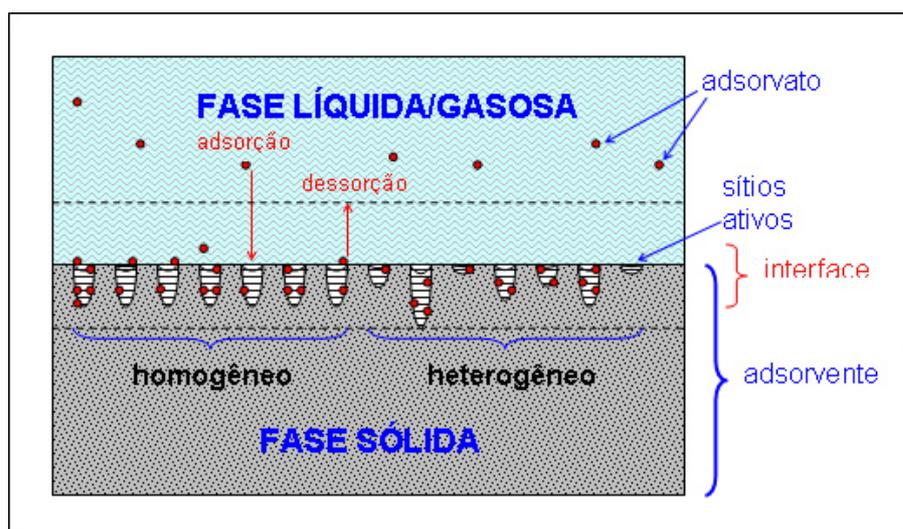
As isotermas derivadas teórica ou empiricamente podem, freqüentemente, ser representadas por equações simples que relacionam diretamente o volume adsorvido em função da pressão e/ou concentração do adsorbato e as mais utilizadas no estudo da adsorção são as seguintes: Langmuir, Freundlich, Henry, Temkin, Giles e Brunauer, Emmett, Teller (BET) (PERRY, 1980).

2.11.2 Isoterma de Langmuir

A isoterma de Langmuir será mais bem detalhada uma vez que é uma das mais utilizadas na modelagem da bioacumulação.

Em 1916, Langmuir desenvolveu um modelo simples, esquematizado na Fonte: QUIÑONES (2007).

Figura 2.6 Figura 2.6, para tentar prever o grau de adsorção de um gás sobre uma superfície como uma função da pressão do fluido, sendo provavelmente o mais conhecido e aplicado. O modelo de Langmuir pressupõe que as forças que atuam na adsorção são similares em natureza a aquelas que envolvem combinação química (GOMES, 2000; DORNELLAS, et al. 2000; VOLESKY, 2004). Este é o modelo mais simples das isotermas de adsorção. A teoria de Langmuir assume que as forças que atuam na adsorção são similares em natureza àquelas que envolvem combinação química.



Fonte: QUIÑONES (2007).

Figura 2.6 – Representação da adsorção conforme o Modelo de Langmuir.

Este é o modelo mais simples das isotermas de adsorção. A teoria de Langmuir assume que as forças que atuam na adsorção são similares em natureza àquelas que envolvem combinação química. Considera-se implicitamente que:

1. o sistema é ideal;
2. as moléculas são adsorvidas e aderem à superfície do adsorvente em sítios definidos e localizados, com adsorção em monocamada em superfície homogênea;
3. cada sítio pode acomodar uma, e somente uma, entidade adsorvida;
4. a energia da entidade adsorvida é a mesma em todos os sítios da superfície e não depende da presença ou ausência de outras entidades adsorvidas nos sítios vizinhos, ou seja, apresenta interação desprezível entre as moléculas adsorvidas (McCABE, et al., 2001).

Esta isoterma falha em muitos aspectos, e essa falha deve-se à heterogeneidade da superfície. Na adsorção química, em muitos casos, tipos diferentes de centros ativos têm diferentes capacidades de adsorção para um determinado composto. Em outros casos, a adsorção ocorre apenas em centros puramente específicos, sendo o restante do material diferente. Noutros, devido à própria estrutura cristalina do material adsorvente, formado por microcristais, a energia da superfície das faces é diferente da energia dos cantos, acarretando, portanto, diferentes calores de adsorção e diferentes capacidades de adsorção.

Apesar de todas estas limitações, a equação de Langmuir se ajusta razoavelmente bem aos dados experimentais de muitos sistemas. Na adsorção de proteínas em resinas trocadores de íons, por exemplo, as condições requeridas pelo modelo são satisfeitas (BARROS et al., 2001).

2.12 Espectrometria de Raios X

Até 1966 a XRF era realizada unicamente por espectrômetros por dispersão por comprimento de onda (*WD-XRF-wavelength dispersive X-ray fluorescence*), baseados na lei de Bragg, os quais necessitam de um movimento sincronizado e preciso entre o cristal difrator e o detector (JENKINS et al., 1981).

Com o desenvolvimento do detector semicondutor de Si(Li), capaz de discriminar raios X de energias próximas, foi possível o surgimento da fluorescência de raios X por dispersão de energia (*ED-XRF, energy dispersive X-ray fluorescence*), também conhecida como fluorescência de raios X não dispersiva, com

instrumentação menos dispendiosa e emprego mais prático (BERTIN, 1975; IAEA, 1970; KATSANOS, 1980; SIEGBAHN, 1965).

Esta técnica vem sendo utilizada principalmente para amostras sólidas, permitindo a determinação simultânea ou seqüencial da concentração de vários elementos, sem a necessidade de destruição da amostra, ou seja, de modo instrumental, sem nenhum pré-tratamento químico. Para amostras líquidas pode-se recorrer a uma pré-concentração, empregando-se troca iônica, precipitação, quelação, etc.

Apresenta uma alta velocidade analítica para análise semi-quantitativa de amostras de interesse agroindustrial, geológico e ambiental quando se utiliza tubos de raios X na excitação. Tem-se também utilizado fontes radioativas emissoras de raios X e/ou gama de baixa energia (^{55}Fe , ^{57}Co , ^{109}Cd , ^{238}Pu , ^{241}Am) substituindo os tubos de raios X na excitação, tornando a análise ainda mais simples, barata e de maior facilidade de operação, mas com a desvantagem de perda de sensibilidade analítica. Mesmo assim, a ED-XRF com excitação por fontes radioativas tem encontrado inúmeras aplicações, principalmente na área industrial, geológica e de prospecção mineral, onde não há necessidade de uma alta sensibilidade analítica.

Uma variante da fluorescência de raios X por dispersão de energia, denominada de Reflexão Total (TXRF), vem sendo bastante desenvolvida nos últimos anos e tem sido aplicada principalmente na análise de elementos traços (na faixa de ppb) em amostras líquidas (da ordem de microlitros), em pesquisas ligadas ao Monitoramento Ambiental, Oceanografia, Biologia, Medicina, Indústria, Mineralogia, etc., especificamente em análises de águas superficiais (pluviais, fluviais e marítimas) e subterrâneas, fluídos biológicos e controle de qualidade de produtos de alta pureza.

Esta técnica de TXRF pode também ser aplicada para materiais sólidos (solo, sedimento, filtros de ar, materiais particulados, etc.), devendo ser precedida de digestão química e diluição apropriada, como as utilizadas em fotometria de chama, espectrofotometria, absorção/emissão atômica (AES) e suas variantes (ICP/ AES, ICP/MS), e para este tipo de amostra, apresenta a vantagem de necessitar diminutas quantidades (da ordem de miligramas) para a digestão (KOOPMANN e PRANGE, 1991).

Em análises quantitativas a ED-XRF, assim como a WD-XRF, tem a desvantagem de requerer métodos para correção do efeito de matriz, como

absorção e reforço (*enhancement*) dos raios X característicos, devido às interações entre os elementos componentes da amostra (SIMABUCO, 1993; SIMABUCO e NASCIMENTO FILHO, 1994; TERTIAN e CLAISSE, 1982; ZUCCHI, 1994; ZUCCHI e NASCIMENTO FILHO, 1995). Estes efeitos não ocorrem na TXRF, pois são utilizadas quantidades muito pequenas das amostras (menores que 10 μ l de amostras líquidas e evaporados ou menores que 10 μ g de amostras sólidas) depositadas em um suporte, de modo a formar um filme fino. Dessa forma, não há necessidade de correção para o efeito matriz, podendo-se utilizar nas análises quantitativas uma regressão linear simples entre as intensidades dos raios X e as concentrações dos elementos presentes nas amostras.

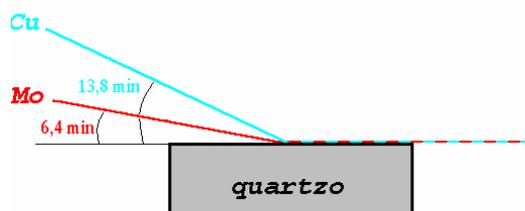
2.12.1 Análise por XRF

A análise por fluorescência de raios X é um método quali-quantitativo baseado na medida das intensidades (número de raios X detectados por unidade de tempo) dos raios X característicos emitidos pelos elementos que constituem a amostra (BOUMANS e KLOCKENKÄMPER, 1989; IAEA, 1970). Os raios X emitidos por tubos de raios X, ou raios X ou gama por uma fonte radioativa, excitam os elementos constituintes, os quais, por sua vez, emitem linhas espectrais com energias características do elemento e cujas intensidades estão relacionadas com a concentração do elemento na amostra.

Quando um feixe de radiação monoenergético passa de um meio (ar ou vácuo) e atinge uma superfície plana de um dado material, pode ocorrer a refração, adentrando pelo material, ou a reflexão, sendo refletido pela sua superfície, em um ângulo emergência igual ao de incidência. A ocorrência de um ou outro processo dependerá da energia da radiação incidente, da densidade eletrônica do material e do ângulo de incidência da radiação.

Desse modo, há um ângulo denominado ângulo crítico, em que a radiação não é refratada e tampouco refletida, permanecendo no plano da interface:

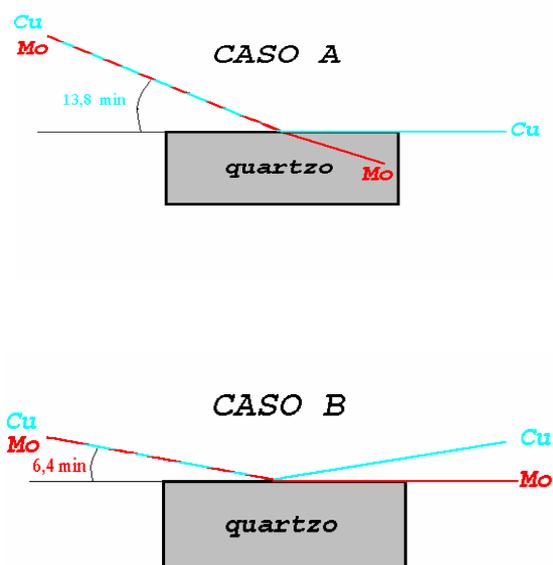
Desse modo, incidindo-se o raio X Cu-K α de 8,04 keV sobre quartzo ($Z = 30$, $A = 60,0843$ g e $\rho = 2,5$ g cm $^{-3}$), o ângulo crítico ϕ_{crit} será de 13,8 minutos. Para este mesmo material, o ângulo crítico para o raio X Mo-K α de 17,44 keV será de 6,4 minutos).



Fonte: NASCIMENTO FILHO (1999).

Figura 2.7 - Representação esquemática do ângulo crítico (em minutos) para os raios X Mo-K α de 17,44 keV e Cu-K α de 8,04 keV, incidindo sobre quartzo.

Se um feixe contendo as radiações Cu-K α e Mo-K α incidisse sobre o quartzo em um ângulo de incidência de 13,8 minutos, ocorreria a refração da radiação do Mo, mais energética - caso A (Figura 2.8), e a um ângulo de 6,4 minutos ocorreria a reflexão da radiação do Cu - caso B (Figura 2.8). Em outras palavras, se uma radiação monoenergética incidir em uma superfície com ângulo maior que o crítico, poderá ocorrer a refração, e se for menor, a reflexão.



Fonte: NASCIMENTO FILHO (1999).

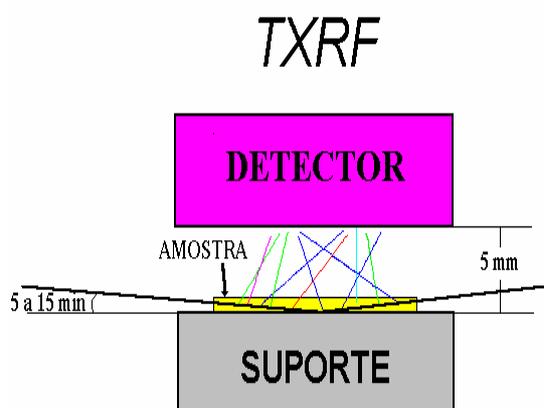
Figura 2.8 - Representação esquemática dos ângulos críticos (em minutos) para os raios X Cu-K α de 8,04 keV (e conseqüente refração dos raios X Mo-K α de 17,44 keV - caso A) e para os raios X Mo 17,44 keV (e conseqüente reflexão dos raios X Cu-K α - caso B), incidindo sobre quartzo.

Por outro lado, se um feixe policromático, contendo radiações desde zero até um valor máximo E_{max} , incidir sobre um material com um ângulo de ângulo crítico

θ_{crit} , os raios de energia E_{crit} , terá o sentido da interface, enquanto que as radiações de energia entre zero até este valor crítico sofrerão reflexão, e as de energia entre o valor crítico e o valor máximo sofrerão a refração.

Assim, se uma alíquota de 50 microlitros de uma solução bastante diluída (água de chuva, por exemplo), for pipetada sobre um suporte de quartzo e depois seca, de modo a formar uma mancha (spot) de 5 mm de diâmetro e uma espessura da ordem de nanômetros, e se sobre ela for incidido um feixe de raios X Mo- $K\alpha$ de 17,44 keV, em um ângulo de incidência 5,5 minutos, o feixe incidente será totalmente refletido, não adentrando no suporte e portanto não sofrerá espalhamento pelos efeitos Rayleigh ou Compton.

Devido a esta reflexão, ou outras palavras, ausência de espalhamento pelo suporte, os picos de espalhamento incoerente e coerente serão bastante reduzidos no espectro de pulsos produzidos pelo detector, mesmo quando colocado o mais próximo possível da amostra (a distância entre o suporte e a janela de Be do detector é da ordem de 5 mm). Nestas condições geométricas de excitação/deteção tem-se então a denominada fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF), conforme pode ser visualizado na Figura 2.9.



Fonte: NASCIMENTO FILHO (1999).

Figura 2.9 - Geometria de excitação/deteção da TXRF, com linhas contínuas representando os raios X incidentes e espalhados, e os tracejados os raios X característicos.

De modo resumido, pode-se afirmar que na TXRF o feixe incidente não interage com o suporte, mas atravessa todo o filme fino formado pela deposição da

amostra, tanto no sentido da incidência como na emergência, e com isto há grande probabilidade de excitar os átomos que compõe a amostra.

Como já foi comentado, se o feixe monoenergético incidir sobre uma superfície com ângulo menor que o crítico, ocorrerá a reflexão. Isto pode ser visualizado através de uma característica denominada refletividade, que representa a razão entre as intensidades do feixe refletido e incidente, e pode ser calculada em função do ângulo de incidência. Os raios X do Mo-K α sobre o quartzo tem refletividade próximo de 100% para ângulo de incidência de 5,5 min (1,60 mrad), enquanto que para o ângulo de 8,5 min (2,47 mrad) decresce para 2%.

Outra característica também utilizada na reflexão é a profundidade de penetração, definida como a profundidade (distância normal à superfície) a ser atravessada pelo feixe incidente para que a sua intensidade seja reduzida a 36,8%.

Esta característica também pode ser calculada em função do ângulo de incidência. Na incidência de 5,5 min (1,60 mrad), onde a refletividade é da ordem de 100%, a profundidade de penetração é próximo a 4 nm, passando a 1 μ m na incidência de 8,5 min (2,47 mrad), onde a refletividade é de 2%.

Esta característica de penetrabilidade da radiação em função do ângulo de incidência tem despertado bastante interesse na indústria de semicondutores, pela possibilidade de se analisar camadas superficiais de bolachas semicondutoras de Si e Ge, com limites de detecção da ordem de 10^{11} átomos cm^{-2} .

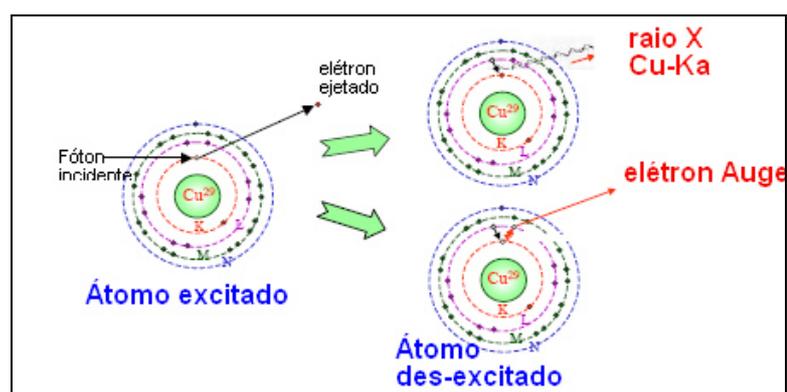
Nos primeiros experimentos sobre TXRF utilizava-se um feixe de raios X proveniente de um tubo incidisse em um ângulo abaixo do valor crítico sobre a amostra, tomando-se como energia crítica a energia do raio X K β . A alta tensão aplicada no tubo era pouco acima do corte de absorção da camada K do elemento alvo, de modo a produzir os raios X K α e K β característicos do elemento alvo, mas insuficiente para produzir radiação de freamento acima da energia do raio X K β .

É sabido que a eficiência de produção de raios X característicos K α e K β é proporcional à tensão acima do corte de absorção aplicada no tubo, mas a elevação da alta tensão ocasionará uma aumento na produção da radiação de freamento. Sendo esta de energia maior que os raios X K α e K β , sofrerá refração no suporte e conseqüentemente haverá radiação espalhada de modo coerente e incoerente atingindo o detector, aumentando a região desses picos e também a região do contínuo nos espectros de pulsos.

Um modo de se evitar que esta radiação de freamento atinja o suporte é a utilização de um filtro passa-baixa (low pass filter), também denominado de filtro cortador de alta energia (high energy cut-off), colocado entre o tubo e o suporte.

Quando um elemento de uma amostra é excitado, este tende a ejetar os elétrons do interior dos níveis dos átomos, e como consequência disto, elétrons dos níveis mais afastados realizam um salto quântico para preencher a vacância. Cada transição eletrônica constitui uma perda de energia para o elétron, e esta energia é emitida na forma de um fóton de raio X, de energia característica é bem definida para cada elemento, conforme mostrado na Figura 2.10. Assim, de modo resumido, a análise por fluorescência de raios X consiste de três fases:

1. excitação dos elementos que constituem a amostra,
2. emissão dos raios X característicos emitidos pela amostra e
3. detecção desses raios X.



Fonte: QUIÑONES (2007).

Figura 2.10 – Representação da Excitação e des-excitação atômica.

2.12.2 Excitação dos elementos

Para provocar a emissão dos raios X característicos dos elementos que constituem a amostra, a excitação pode ser feita de várias maneiras: excitação por partículas aceleradas como elétrons, prótons ou íons; excitação por raios X, partículas alfa, partículas beta negativas ou raios gama emitidos por radionuclídeos, além do processo mais utilizado até recentemente, que é através raios X gerados em tubos.

Nos processos onde se utilizam elétrons, prótons ou íons, e também máquinas geradoras de raios X, há necessidade de se ter um acelerador

eletrostático capaz de produzir altas diferenças de potencial elétrico (alta tensão), extremamente estáveis, e portanto são sofisticadas e caras. Quando se emprega fontes radioativas, emissoras de partículas alfa, beta negativas, raios X ou gama de baixa energia, não há necessidade do acelerador de partícula e são baratas e extremamente compactas, mas tem as desvantagens de requererem blindagem radiológica devido à exposição contínua e de terem intensidades relativamente inferiores às máquinas geradoras de raios X.

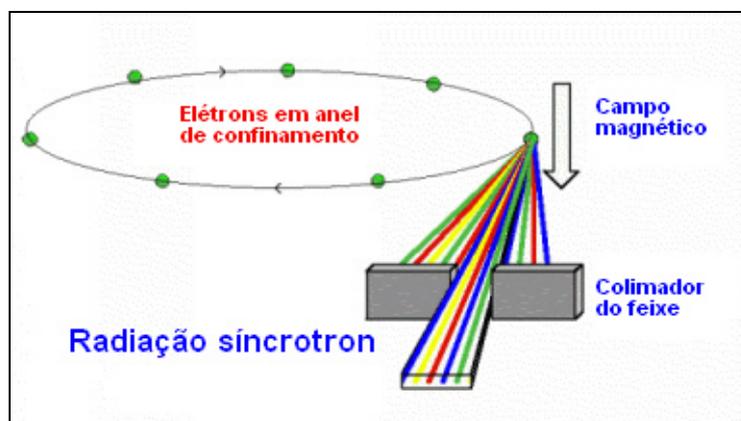
Das fontes excitadoras, as máquinas de raios X tem sido as mais utilizadas, mas em análises de amostras com teores não muito baixos tem-se empregado fontes radioativas, e dependendo do radionuclídeo utilizado, pode-se focar uma faixa ou outra de elementos de interesse.

Dentre os radionuclídeos utilizados como fontes radioativas, os mais interessantes do ponto de vista experimental tem sido aqueles que se desintegram por captura eletrônica, como o ^{55}Fe (com meia-vida física de 2,7 anos; emissor de raios X Mn-K α , de 5,9 keV) e ^{109}Cd (1,27 anos; raios X Ag-K α , 22,2 keV), ou por emissão de partícula alfa, como o ^{238}Pu (86,4 anos; raios X U-L, de 13,6 e 17,2 keV) e ^{241}Am (428 anos; emissor de raios X Np-L de 13,9 e 17,7 keV, ainda raios gama de 59,5 keV).

Embora uma partícula carregada sendo desacelerada sem mudar sua direção emita radiação eletromagnética, outra forma de emitir radiação é pela mudança da direção das partículas carregadas. O caso mais simples é de um elétron numa órbita circular. Neste caso, um elétron que continuamente está mudando sua direção continua a emitir radiação eletromagnética. Este tipo de radiação foi primeira observada em aceleradores síncrotrons e por tanto ela é referida como radiação síncrotron. Inicialmente considerada uma indesejável perda de energia, a radiação síncrotron tem se tornado desde então numa poderosa ferramenta experimental.

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 e o campo magnético são suficientemente energéticos, a radiação emitida pode ser na forma de raios X. Além disso, se o elétron está viajando a velocidades muito próximas 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, como visualizado na Figura 2.11.



Fonte: QUIÑONES (2007).

Figura 2.11 – Esquema da Radiação síncrotron.

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 caracterizada por seu comprimento de onda crítico 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.

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 eles circulam produzindo a radiação síncrotron, sem ganhar mais energia (Figura 2.12). A radiação síncrotron é emitida tangencialmente ao anel de confinamento eletrônico e captado 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. 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. No final da linha de luz está a sala experimental onde amostras são colocadas.



Fonte: QUIÑONES (2007).

Figura 2.12 – Representação da Facilidade de luz síncrotron.

Para haver produção de raios X característicos há necessidade de se retirar elétrons localizados nas camadas mais internas dos átomos, por exemplo camada K, e para isto a energia mínima deve ser superior a energia de ligação do elétron nessa camada, denominada energia de ligação eletrônica ou também de corte de absorção.

Esta energia de ligação eletrônica pode ser calculada de modo aproximado, aplicando-se a teoria atômica de Bohr para o átomo de hidrogênio e átomos hidrogenóides, e posteriormente, fazendo-se algumas considerações sobre as experiências de Moseley. Desse modo, a Equação 2.1 permite o cálculo aproximado dessa energia para os elétrons das camadas K e L dos átomos de um elemento.

$$E = \frac{me^4(Z-b)^2}{8\epsilon_0 h^2 n^2}$$

Equação 2.1 - Energia para os elétrons das camadas K e L.

sendo que E é a energia de ligação eletrônica (joules), m massa de repouso do elétron ($9,11 \cdot 10^{-31}$ kg), e carga elétrica do elétron ($1,6 \cdot 10^{-19}$ coulombs), Z número atômico do elemento emissor dos raios X, b constante de Moseley, com valores iguais a 1 e 7,4, para as camadas K e L, respectivamente, ϵ_0 permitividade elétrica no vácuo ($8,8534 \cdot 10^{-12}$ C N m⁻²), h constante de Planck ($6,625 \cdot 10^{-34}$ J s), e n

número quântico principal do nível eletrônico ($n = 1$ para camada K, $n = 2$ para camada L, etc.).

Substituindo-se na Equação 2.1 os valores das constantes no sistema internacional de unidades e sabendo-se que $1\text{electronvolt} = 1\text{eV} = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ J}$, a energia do raio X (em joules) é dada pela Equação 2.2.

$$E = 13,65 \frac{(Z - b)^2}{n^2}$$

Equação 2.2 - Energia de ligação em eV

Pode ser observado nesta equação que a energia de ligação para uma dada camada é diretamente proporcional ao quadrado do número atômico Z do elemento. Assim, para retirar elétrons da camada K dos elementos Al, Fe e Te, de números atômicos 13, 26 e 52, respectivamente, são necessários 1,560 - 7,114 e 31,814 keV para a camada K e 0,074 - 0,723 e 4,612 keV para a camada L.

Após ocorrer a ionização, um elétron mais externo tende a ocupar a vacância, e desse modo há emissão de raio X, de energia característica, cujo valor depende da diferença da energia de ligação do elétron nos dois níveis quânticos. Conseqüentemente, a energia do raio X também é diretamente proporcional ao quadrado do número atômico Z do elemento excitado, quando se considera o mesmo salto quântico, conforme a Equação 2.3.

$$E_x = E_{ni} - E_{nf}$$

Equação 2.3 - Energia do raio-X emitido devido a transição eletrônica.

Sendo E_x a energia do raio X característico emitido, e E_{ni} , E_{nf} energias do elétron nos níveis inicial e final, respectivamente.

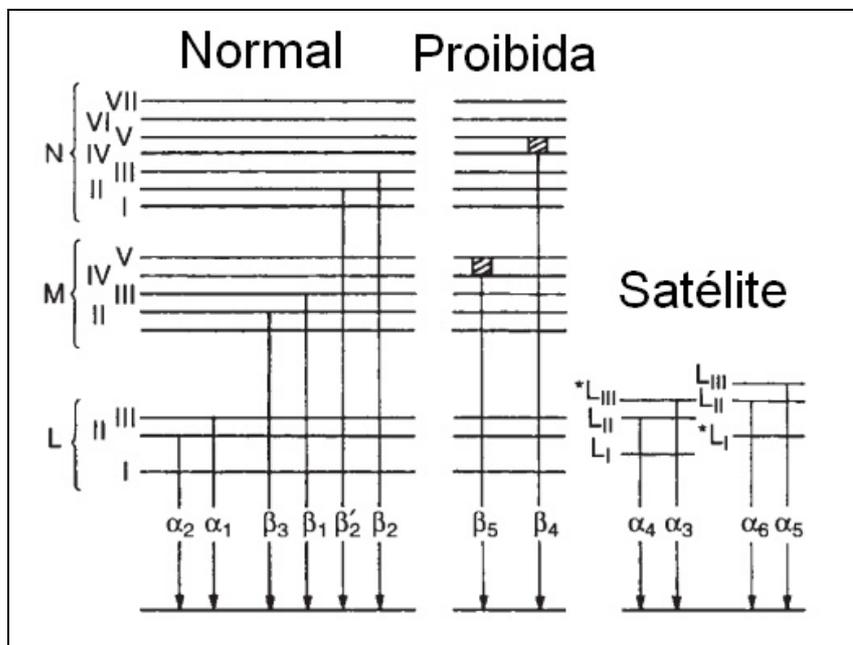
2.12.3 Transições radiativas dipolares

Cada elemento químico numa amostra produzirá uma série de linhas características correspondente às possíveis transições permitidas na sua estrutura eletrônica. Na notação IUPAC, o nome da linha espectral associa o estado final e o inicial da transição eletrônica; assim, uma vacância na camada K ($1s_{1/2}$) pode ser preenchida por um elétron originalmente pertencente à subcamada L_3 (nível $2p_{3/2}$) ou

L_2 (nível $2p_{1/2}$) daquele átomo através de uma transição $K-L_3$ ($2p_{3/2} \rightarrow 1s_{1/2}$) ou $K-L_2$ ($2p_{1/2} \rightarrow 1s_{1/2}$), respectivamente. No entanto, estas transições são mais comumente referidas como linhas espectrais $K\alpha_1$ ($2p_{3/2} \rightarrow 1s_{1/2}$) ou $K\alpha_2$ ($2p_{1/2} \rightarrow 1s_{1/2}$) na nomenclatura de Siegbahn. Como os níveis eletrônicos $2p_{3/2}$ e $2p_{1/2}$ são quase degenerados em energia para elementos leves, as linhas espectrais $K\alpha_1$ e $K\alpha_2$ são dificilmente resolvidas e o par de linhas aparentemente aparecem com um único pico $K\alpha_{1,2}$ no espectro de raios X (QUIÑONES, 2007).

Há outras transições menos prováveis que preenchem a vacância na camada K, emitindo fótons característicos mais energéticos, quando elétrons pertencentes às subcamadas M_3 ($3p_{3/2}$) ou M_2 ($3p_{1/2}$) preenchem a camada K ($1s_{1/2}$). Tais linhas espectrais são referidas como $K\beta_1$ ($3p_{3/2} \rightarrow 1s_{1/2}$) ou $K\beta_3$ ($3p_{1/2} \rightarrow 1s_{1/2}$) na nomenclatura de Siegbahn. Similarmente, o par de linhas $K\beta_1$ e $K\beta_3$ surgem aparentemente como uma única linha $K\beta_{1,3}$ no espectro de raios X, devido à falta de resolução em energia do sistema de detecção. Na Figura 2.13, mostra-se as linhas espectrais que são observadas na série K (QUIÑONES, 2007).

As energias dos fótons para elementos químicos de $Z = 10$ até $Z = 40$ se encontram na faixa de 1 a 20 keV (QUIÑONES, 2007).



Fonte: QUIÑONES (2007).

Figura 2.13 - Linhas espectrais permitidas e proibidas da série K, onde linhas satélites apresentam-se somente em estados ionizados.

Similarmente, raios X fluorescentes das transições L_3-M_5 são melhores conhecidas como fótons $L\alpha_1$ ($3d_{5/2} \rightarrow 2p_{3/2}$). Para elementos pesados de $Z = 40$ até $Z = 82$, tais fótons $L\alpha_1$ são emitidos principalmente na região de energia de 1 a 10 keV (QUIÑONES, 2007).

Os caminhos que o átomo escolhe para se des-excitar via um processo Fluorescente pode ser definido por um conjunto de simples regras de seleção, pelas quais as transições ocorrem principalmente pela emissão de fótons carregando uma unidade de momento angular (QUIÑONES, 2007). Na Tabela 2.7, lista-se um número de linhas de raios X observadas e seus correspondentes nomes IUPAC e Siegbahn (QUIÑONES, 2007).

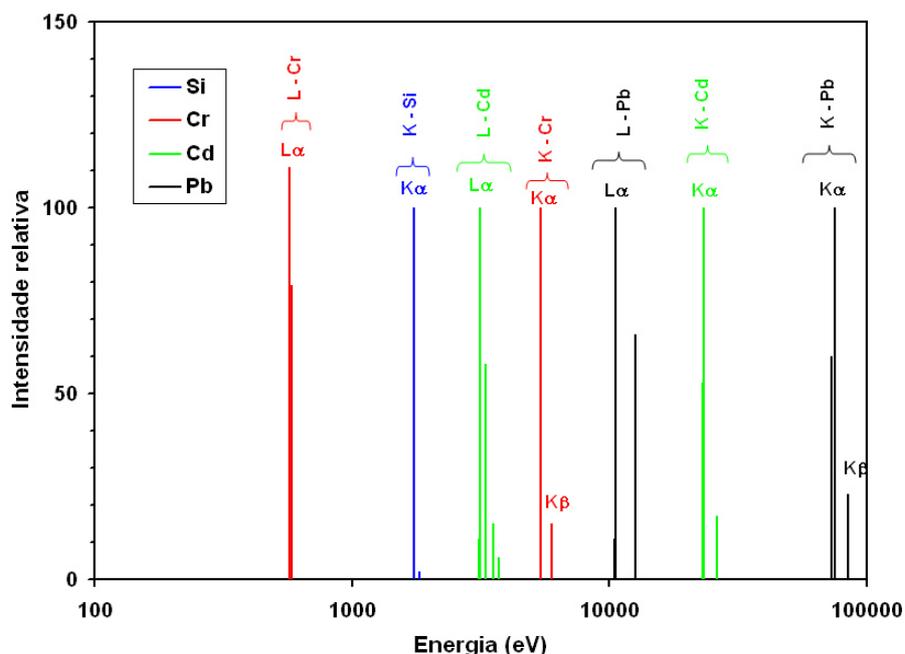
Tabela 2.7 - Linhas espectrais de raios X (notações IUPAC e Siegbahn) e suas intensidades relativas à linha principal de cada série.

Serie	IUPAC	Siegbahn	Intensidade relativa
Série K	K-L ₃	K α_1	100
	K-L ₂	K α_2	~ 50
	K-M ₃	K β_1	~ 17
	K-M ₂	K β_3	~ 8
Série L ₃	L ₃ -M ₅	L α_1	100
	L ₃ -M ₄	L α_2	~ 10
	L ₃ -N _{5,4}	L $\beta_{2,15}$	~ 25
	L ₃ -M ₁	L γ_1	~ 5
	L ₃ -N ₁	L β_6	~ 1
Série L ₂	L ₂ -M ₄	L β_1	100
	L ₂ -N ₄	L γ_1	~ 20
	L ₂ -M ₁	L η	~ 3
	L ₂ -O ₁	L γ_6	~ 3
Série L ₁	L ₁ -M ₃	L β_3	100
	L ₁ -M ₂	L β_4	~ 70
	L ₁ -N ₃	L γ_3	~ 30
Série M	L ₁ -N ₂	L γ_2	~ 30
	M ₅ -N ₇	M α_1	
	M ₅ -N ₆	M α_2	
	M ₅ -N ₆	M β	

Fonte: QUIÑONES (2007).

Cada único átomo possui um número de elétrons disponíveis que podem tomar parte na transferência e, como há milhões de átomos que estão tipicamente envolvidos na excitação de uma dada amostra, todas as possíveis des-excitações são consideradas. Na Figura 2.14, mostra-se as linhas de raios X nas séries K e L

dos átomos de Si, Cr, Cd e Íons de Pb. As alturas das linhas são um indicativo das intensidades observadas Figura 2.14 (X-ray data booklet). As linhas $K\alpha$ nos elementos leves e as $L\alpha$ nos mais pesados são geralmente utilizadas na identificação e quantificação dos elementos químicos numa amostra, pois são as mais intensas nos espectros de raios X (QUIÑONES, 2007).



Fonte: QUIÑONES (2007).

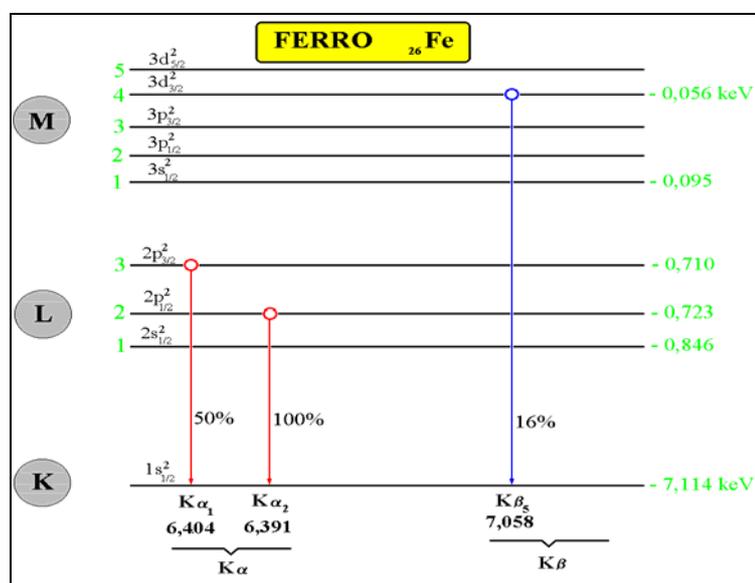
Figura 2.14 - Linhas de raios X nas séries K e L dos elementos Si, Cr, Cd e Íons de Pb.

Na realidade essas considerações são tanto quanto simplistas, pois foi considerado que os elétrons da mesma camada tem a mesma energia. Com mais detalhes, sabe-se que os elétrons se distribuem em subníveis, tendo os elétrons energias próximas, conforme pode ser visualizado na Figura 2.15 (para o ferro) (QUIÑONES, 2007).

Assim, um elétron no átomo de ferro saltando do subnível L2 para o nível K, há emissão do raio X $K\alpha_2$ de 6,391 keV, enquanto que no salto L3 → K a energia do raio X $K\alpha_1$ seria de 6,404 keV, devendo ainda ser considerado que a transição L1 → K não ocorre, sendo chamada "transição proibida" (QUIÑONES, 2007).

A transição L3 → K e a L2 → K tem energias muito próximas, não sendo possível separar esses raios X, mesmo utilizando um detector de alta resolução, como Si(Li). Assim, normalmente essas duas transições são englobadas em uma chamada $K\alpha$, com energia média de 6,40 keV. O mesmo acontece para as energias

dos raios X oriundos dos saltos quânticos dos sub-níveis da camada M para a camada K, sendo englobados com a denominação genérica de raios X $K\beta$, conforme pode ser visualizado na Figura 2.15 (QUIÑONES, 2007).



Fonte: NASCIMENTO FILHO (1999).

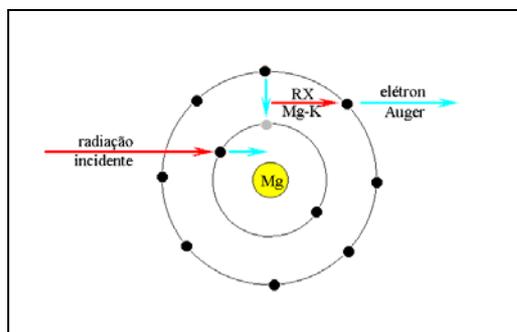
Figura 2.15 - Diagrama dos níveis energéticos e intensidades relativas de emissão dos raios X característicos emitidos pelo ferro.

Para elementos mais pesados, de números atômicos mais elevados, a existência de outros subníveis torna o assunto ainda mais complexo. Devido a isso, há necessidade de uma notação especial e a mais utilizada é a de Siegbahn, de 1965, apesar da IUPAC recomendar a notação direta nível final - nível inicial, ou seja, representar os raios X $K\alpha_2$, $K\alpha_1$ e $K\alpha$ da notação de Siegbahn por K-L2, K-L3 e K-L, respectivamente (Tabela 2.7) (QUIÑONES, 2007).

Mesmo para o Mo ($Z = 42$), os raios X $K\beta_1$, $K\beta_2$, etc., tem energias muito próximas, não sendo possível a separação desses raios X e sendo frequentemente reunidos sob a denominação genérica de raios X $K\alpha$. Desse modo, os raios X emitidos por um elemento são reunidos sob a denominação $K\alpha$ e $K\beta$, devido às transições $L \rightarrow K$ e $M \rightarrow K$, respectivamente, e os raios X devido a transição $M \rightarrow L$ são denominados de $L\alpha$, $L\beta$, etc (QUIÑONES, 2007).

Algumas vezes, os raios X característicos interagem com elétrons mais externos do próprio átomo, e desse modo, ao invés de ser emitidos raios X característicos são emitidos elétrons, denominados elétrons Auger, conforme pode

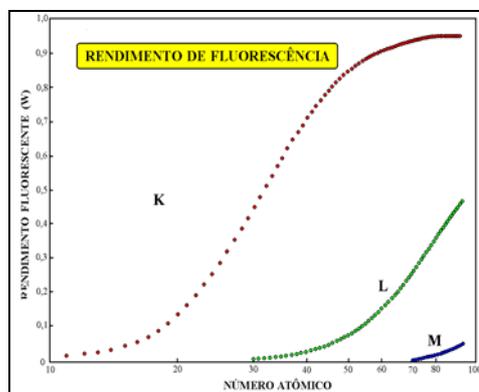
ser visualizado na Figura 2.16, de energias também características, base da espectroscopia Auger (QUIÑONES, 2007).



Fonte: NASCIMENTO FILHO (1999).

Figura 2.16 - Representação esquemática do efeito Auger.

Assim, pode-se definir o rendimento de fluorescência como o número de raios X efetivamente emitidos em relação ao número de vacâncias produzidas em uma dada camada, representado na Figura 2.17. Pode ser notado o baixo rendimento de fluorescência da camada K para os elementos leves (de número atômico abaixo de 20), da camada L até para os elementos de número atômico 60 e da camada M para praticamente para todos os elementos (QUIÑONES, 2007).



Fonte: NASCIMENTO FILHO (1999).

Figura 2.17 - Rendimento da fluorescência das camadas K, L e M em função do número atômico.

2.12.4 Equação Fundamental da TXRF

A fluorescência de raios X por reflexão total foi inicialmente sugerida por YONEDA e HORIUCHI (1971), sendo o seu princípio físico definido claramente quatro anos após por AIGINGER e WOBRAUSCHEK (1974 e 1986). Entre 1978 e 1982, SCHWENKE e KNOTH deram um impulso nesta técnica, desenvolvendo um instrumento compacto, denominado Extra II, Rich. Seifert e Ahrensburg, Alemanha,

com grande melhoria na parte ótica e suficiente estabilidade (KNOTH e SCHWENKE, 1979, 1980, 1982), surgindo depois outros equipamentos visando a análise superficial de bolachas semicondutoras, como o XSA 8000 produzido pela Atomika, Munique, e TREX 600 pela Technos, Osaka.

As duas primeiras reuniões internacionais para discutir esta técnica foram realizadas em 1986 (MICHAELIS e PRANGE, 1987) e 1988 (BOUMANS e KLOCKENKÄMPER, 1989) na Alemanha, a terceira em 1990 na Áustria (BOUMANS, 1991) e a quarta novamente na Alemanha, em 1992 (BOUMANS e PRANGE, 1989). Publicações mais recentes sobre os conceitos físicos e aplicações práticas da TXRF, assim como detalhes sobre a geometria do suporte da amostra, filtros de corte para raios X de altas energias e tendências desta nova técnica, são apresentadas em revistas especializadas (AIGINGER e WOBRAUSCHEK, 1974; BURKHALTER, 1969; ESPINOZA et al, 1998; FREIMANN e SCHMIDT, 1989; IAEA, 1980).

De acordo com KLOCKENKÄMPER (1989) já havia aproximadamente 20 laboratórios trabalhando com equipamentos comerciais em uma variedade de aplicações, envolvendo as áreas de Oceanografia, Mineralogia, Biologia, Medicina, Medicina Legal e Pesquisa Ambiental (MICHAELIS et al, 1985; MICHAELIS, 1986).

A técnica de TXRF foi inicialmente utilizada para análises de ultratraços em soluções aquosas.

Normalmente uma alíquota de 5 a 50 μl da amostra in natura ou digerida é colocada no centro de um suporte de quartzo ou germânio e seca. O filme fino obtido, com massa entre picogramas a 10 microgramas, cobrindo um círculo com aproximadamente 5 mm de diâmetro, está pronto para ser analisado por TXRF.

Quando a amostra contiver elementos volatéis, como Hg e As, estes devem ser convertidos em formas químicas mais estáveis pela adição de uma pequena quantidade de uma solução de um agente quelante, como por exemplo ditiocarbamato de amônia (APDC), colocada na superfície do suporte da amostra antes da evaporação do solvente (FLORKOWSKI et al., 1977).

Portanto, devido à diminuta espessura da amostra e alta energia dos raios X normalmente utilizados na excitação (raios X Mo- $K\alpha$ de 17,44 keV), não há a ocorrência do efeito de absorção e reforço na TXRF, e conseqüentemente, a correção para o efeito matriz não é necessária.

Desse modo, a equação básica para análise quantitativa é a relação entre a intensidade fluorescente da linha característica $K\alpha$ e a concentração de um elemento de interesse, que pode ser escrita na forma segundo a Equação 2.4.

$$I_i = S_i \cdot C_i$$

Equação 2.4 - Equação básica para análise.

sendo que I_i representa a intensidade líquida (cps) da linha característica $K\alpha$ emitida, C_i a concentração (mg L^{-1} ou $\mu\text{g ml}^{-1}$) na solução pipetada no suporte, e S_i a sensibilidade elementar do sistema (cps/ppm) para o elemento de interesse i .

No caso da TXRF, a amostra normalmente é ultrafina e os efeitos de matriz são considerados desprezíveis. Assim, esta técnica apresenta a grande vantagem de permitir a determinação simultânea da sensibilidade elementar para vários elementos, utilizando-se uma solução padrão multielementar, contendo esses elementos em baixa concentração (na faixa de ppm) e emissores de raios X de energias não muito próximas, evitando a ocorrência de sobreposição de picos.

Além disso, na TXRF é possível adicionar um padrão interno à amostra e neste caso tem-se a vantagem de corrigir as instabilidades do sistema, como flutuações no gerador de raios X, emissão de raio X pelo anodo, detecção dos raios X, e erros operacionais, como pipetagem, posicionamento das amostras, etc.

Os elementos a serem utilizados como padrões internos devem ocorrer em concentrações baixíssimas nas amostras, e assim os elementos Ge e Ga tem sido utilizado para amostras de águas, e o Co e Y para outros tipos de amostras.

Com isto, pode-se calcular a concentração do elemento de interesse, utilizando-se a Equação 2.5.

$$C_z = \frac{I_z}{I_{pad}} \frac{S_{pad}}{S_z} C_{pad}$$

Equação 2.5 - Concentração do elemento de interesse.

Sendo que Z representa o elemento de interesse, pad o elemento utilizado como padrão interno, C a concentração (em mg L^{-1}), S a sensibilidade relativa elementar (sem unidade; em relação ao elemento utilizado como padrão interno) e I

a intensidade dos raios X característico (cps). Desse modo, a correção para efeito matriz, tão trabalhosa na ED- e WD-XRF, não se faz necessário na TXRF.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico exceto os padrões monoelementares ($1,0 \text{ g L}^{-1}$) que foram de qualidade para análise por AAS (*Atomic absorption Spectrometry*).

A solução padrão de íons de Pb^{+2} na concentração de $1,0 \text{ g L}^{-1}$, foi preparada em balão volumétrico a partir de sais de chumbo ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), dissolvidas em água deionizada. Foram dissolvidos $1,599 \text{ g}$ de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ em 1 L de água deionizada, perfazendo uma concentração de 1 g L^{-1} de chumbo bivalente.

Para obter a solução hidropônica de Clark, foram preparadas soluções individuais de macronutriente de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1M), KNO_3 (1M), KCl (1M), NH_4NO_3 (1M), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1M), e $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.023M) em balões volumétricos a partir da dissolução em água deionizada, do mesmo modo que a solução multi-elementar de micronutrientes contendo H_3BO_3 , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, e $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ nas concentrações de 19, 2, 0.086, 0.5, 7, 40 mM, respectivamente.

3.2 Coleta de Macrófitas Aquáticas

Plantas jovens de *S. auriculata* foram coletadas em lagos ($24^\circ 17,9993' \text{ S}$ e $53^\circ 50,527' \text{ W}$) nas proximidades da cidade de Palotina. Após a coleta em campo, as macrófitas foram lavadas em água corrente até eliminar o remanescente do sedimento e outras partículas. Somente plantas saudáveis e com tamanho uniforme foram selecionadas e colocadas num recipiente de 300 L contendo água de torneira dentro de uma estufa para propósitos experimentais.

Para o cultivo, foi utilizado recipientes de plástico com capacidade máxima de 8 litros , sendo lavados anteriormente com uma solução de ácido nítrico (10%) e enxaguados com água destilada. Os recipientes foram etiquetados externamente com os dados do experimento: íon metálico, data da coleta, e réplica. Foi colocada uma marca de nível de água correspondente a 5 litros . A marca do nível de água foi aferida usando balões volumétricos.

3.3 Testes Toxicológico

Foram realizados testes qualitativos laboratoriais para a obtenção dos níveis toxicológicos de íons de Pb^{+2} na *S. auriculata* numa solução hidropônica de Clark (Tabela 3.1).

O cultivo das plantas foi conduzido durante 21 dias com aproximadamente 50 g de *S. auriculata* viva. Periodicamente, a temperatura e pH da água foi monitorada juntamente com a reposição de água devido à perda por evaporação.

Tabela 3.1 - Solução hidropônica de Clark.

Composto	Diluição (mL L ⁻¹)
Nitrato de cálcio	2,53
Nitrato de potássio	1,30
Cloreto de potássio	0,50
Nitrato de amônio	0,90
Sulfato de magnésio	0,60
Ortofosfato de cálcio	1,50
Micronutriente	1,00

Foi diluído a concentração inicial da solução padrão de Pb^{+2} de 1,0 g L⁻¹ para o preparo das soluções para os testes toxicológicos nas concentrações de 1 a 10 mg íons de Pb^{+2} L⁻¹ conforme descrito na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Soluções para os testes toxicológicos.

Concentração (mg Pb^{+2} L ⁻¹)	Solução padrão Pb^{+2} (mL)	Volume (L)
10	5,0	0,5
8	4,0	0,5
6	3,0	0,5
3	1,5	0,5
1	5,0	5,0

3.4 Teste de Crescimento

Foram selecionadas plantas jovens e sadias e em seguida foram lavadas em água de torneira. Em cada recipiente foi colocado em média de 52 g de mudas de *S. auriculata* e acomodadas em recipientes com capacidade máxima de 8 litros, preenchidos com 5 L de água destilada e solução hidropônica de Clark.

O tempo de cultivo foi de 21 dias na estufa, por triplicata, sendo que foi acompanhada a taxa de crescimento apresentado pelas plantas para estipular a

massa mínima adequada, duração da experiência e os intervalos de coleta para o experimento da bioacumulação, conforme apresentado na Figura 3.1.



Figura 3.1 - Teste de crescimento de *S. auriculata*.

3.5 Montagem do Experimento

Baseado nos testes toxicológicos e de crescimento, foi escolhido a concentração inicial de $2 \text{ mg Pb}^{+2} \text{ L}^{-1}$ e fixado o tempo de experimento em 29 dias, com 6 coletas a intervalos diferentes.

Visando o número de coletas e o número de réplicas foi preparado 18 recipientes plásticos.

Periodicamente, a temperatura e o pH da água foi monitorada e a água perdida devido a evaporação foi repostada.

Aproximadamente 30 gramas de *S. auriculata* foram cultivadas em cada recipiente, em triplicata, contendo 5 L de uma solução hidropônica de Clark (Tabela 3.1) e a concentração inicial de chumbo de $2 \text{ mg de Pb}^{+2} \text{ L}^{-1}$, como mostrado na Figura 3.2.



Figura 3.2 - Montagem em estufa do experimento de bioacumulação de compostos de chumbo pela *S. auriculata*.

3.6 Coletas

Como brancos de controle de experimento ou coleta 0 obteve-se uma porção de água de cultivo e planta.

Foram reservados 100 mL de água de cultivo com 150 μL de HNO_3 e 303,4 g de planta. Essas coletas foram denominadas de branco e foram obtidas com o objetivo de determinar se há ou não a presença de Pb nas amostras antes de iniciar o experimento.

Posteriormente foram realizadas 6 coletas, conforme mostrado na Tabela 3.3, a intervalos de 1, 2, 5, 8, 22 e 29 dias, obtendo a biomassa total úmida, o pH e a temperatura e em seguida foram acondicionadas em sacos plásticos para posterior secagem.

Tabela 3.3 - Valor médio e desvio padrão da biomassa inicial úmida e seca da *S. auriculata* e o tempo previsto de coleta a uma temperatura média inicial de 23 °C e pH médio inicial de 4,61

Coleta	Tempo de cultivo (dias)	Biomassa seca da raiz (g)	Biomassa seca da folha (g)	Biomassa úmida viva (gramas)
Branco	0	2,80 \pm 0,01	7,9 \pm 0,01	303,4 \pm 0,01
0	0	0,21 \pm 0,02	0,95 \pm 0,18	31,9 \pm 1,6
1	1	0,21 \pm 0,01	0,93 \pm 0,13	32,1 \pm 4,3
2	2	0,24 \pm 0,04	1,06 \pm 0,02	33,1 \pm 3,4
3	5	0,26 \pm 0,07	0,99 \pm 0,01	32,8 \pm 2,0
4	8	0,21 \pm 0,07	0,89 \pm 0,01	30,7 \pm 3,6
5	2	0,20 \pm 0,07	0,92 \pm 0,23	31,9 \pm 2,0
6	2	0,20 \pm 0,03	0,92 \pm 0,10	30,9 \pm 3,9

3.7 Preparação de Amostras e Padrões

Foram separadas as raízes das folhas e colocadas para secarem em estufa a 80°C durante 72 horas. Após a secagem, folhas e raízes foram novamente pesadas, conforme a Tabela 3.3 para que obtivesse os valores de perda de umidade.

Com o auxílio de um moinho com pás de aço, as plantas foram trituradas, juntando as triplicatas para que ao final obtivesse uma amostra de coleta de raízes e uma amostra de coleta de folhas.

Para a determinação do conteúdo de íons de Pb total acumulado na planta, 0,5 g de biomassa seca e moída foi digerida a 100 °C numa mistura de 0,5 mL de H₂O₂ e 5 mL de ácido nítrico (HNO₃), durante 12 horas. Para uniformizar o volume do resíduo da digestão, foi completado para 10 mL com água ultra pura Milli-Q.

Foi obtido somente a curva de sensibilidade elementar da técnica SR-TXRF da série L. Isto se deve pelo fato de que as curvas de sensibilidade elementar das série L são utilizadas para elementos pesados e o chumbo é considerado como um metal pesado.

Foram preparadas varias soluções padrões multielementares, a partir de soluções mono elementares certificadas de Mo, Zr, Cd, Ba, Pb e Ga nas concentrações de 1,0 g L⁻¹. Foram preparadas misturas dos padrões mono elementares em cinco concentrações de 1,0 até 10 mg L⁻¹, exceto para os padrões de Mo e Zr cujas concentrações variaram entre 10 e 50 mg L⁻¹ conforme a Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Padrões multielementares.

Amostra	Elementos Padrões (mg L ⁻¹)					
	Mo	Zr	Cd	Ba	Pb	Ga
P ₁	10	10	1	1	1	1
P ₂	20	20	3	3	3	3
P ₃	30	30	5	5	5	5
P ₄	40	40	7	7	7	7
P ₅	50	50	10	10	10	10

Em 2 mL de amostra líquida (água de cultivo ou de biomassa digerida ou padrão multielementares), foi adicionada uma alíquota de 20 µL de uma solução certificada de Gálio à concentração de 1,0 g L⁻¹, como padrão interno, resultando numa concentração final de 10 mg Ga L⁻¹, para posterior análise de concentração de

íons de Pb^{+2} na fase fluida e na sólida pela técnica de Fluorescência de Raio X por Reflexão Total.

Os discos refletores de acrílico de 30 mm de diâmetro e 3 mm de espessura, utilizados para análise da concentração, foram lavados com detergente, deixados de molho em ácido nítrico diluído por 24 horas, enxaguado em água deionizada e finalmente utilizando álcool isopropílico remove-se a água residual e seca.

Uma gota de 5 μ L de amostra (padrão multielementar, água de cultivo e biomassa digerida) foi depositada no centro do disco refletor de acrílico e seca a temperatura ambiente e em ambiente isolado de contaminantes. Após a secagem, formou-se uma camada muito fina de amostra. Com o objetivo de aumentar a estatística, foram preparadas quintuplicatas para as amostras de solução de cultivo e padrões multielementares, e triplicatas de cada amostra de planta.

3.8 Medidas de SR-TXRF

As análises foram realizadas, usando a linha de luz D09-XRF, onde se encontra o instrumental da espectrometria de fluorescência e raios X por Reflexão Total utilizando a Luz Síncrotron (SR-TXRF), do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – LNLS, localizado em Campinas – SP. O projeto de pesquisa # 4652 foi aprovado e agendado para ser realizado na segunda semana de julho de 2007.

As especificações técnicas da linha de luz D09-XRF estão descritas na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 - Especificações técnicas da linha de luz D09-XRF.

Especificações	Linha de luz D09-XRF
Excitação	Feixe policromático
Modo de excitação	Reflexão total
Fonte	Imã defeltor D09B(15°), $\sigma_y=0,222$ mm
Fluxo da amostra	4×10^9 fótons s^{-1} a 8 keV
Monocromador	Channel-cut Estações para experiências a incidência rasante e mapeamento
Manipulação das amostras	2D, ambas com controle total de posicionamento de amostras.

Cada disco refletor contendo a amostra foi posicionado e encaixado dentro de um porta-disco, para garantir a mesma geometria a todas as amostras, além de

permitir a procura da condição de reflexão total. Usando um sistema mecânico, baseado em motores a passo, foram realizados dois movimentos principais no disco: subir ou descer o plano refletor do disco e o de girar o disco refletor e poder acertar o ângulo crítico para o feixe policromático. Da configuração do sistema SR-TXRF, o eixo de giro do disco é perpendicular ao feixe e na direção do detector. O ângulo crítico para reflexão total foi observado numa tela de TV que mostra a radiação incidente e a refletida, detectada no final da linha de luz. Foi mantido o mesmo ângulo crítico em todas as amostras irradiadas.

Os discos-amostras foram irradiados sob reflexão total por um feixe policromático de raios X, na faixa de 2 a 20 keV, extraído da fonte de Luz Síncrotron de 2,5 GeV.

Os raios X foram detectados por um detector HP-Ge, com 160 eV de resolução na linha espectral do Mn-K α . Os pulsos ou sinais do detector foram obtidos por uma eletrônica padrão para espectrometria de raios X.

Com o intuito de melhorar a estatística da curva de sensibilidade elementar do instrumental, as amostras padrões multielementares foram irradiadas por 200s de tempo vivo e com tempo morto de no máximo 15%. Para as outras amostras (água de cultivo e planta digerida), foi fixado o tempo em 100s de tempo vivo.

De cada disco-amostra foi gerado um espectro SR-TXRF. Estes espectros foram analisados usando o programa AXIL (VAN ESPEN, 1986).

Na Figura 3.3, mostra a saída da linha de luz, o detector e o suporte dos discos de acrílico, enquanto que na Figura 3.4 é mostrado a posição dos discos de acrílico no suporte.

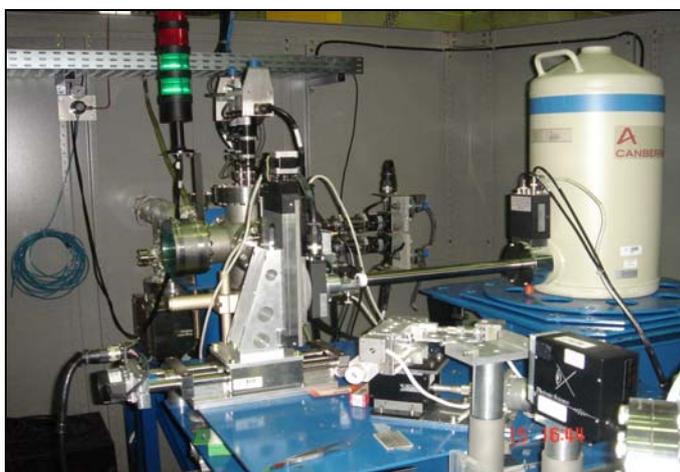


Figura 3.3 - Equipamento D09-XRF, utilizado para medição de feixes iônicos do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – LNLS/Campinas-SP.

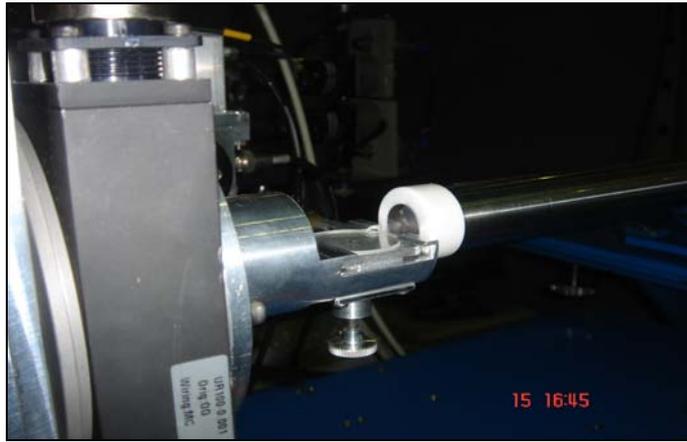


Figura 3.4 - Posição dos discos de acrílico no suporte do equipamento D09-XRF.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Tolerância ao chumbo

No teste de concentração tóxica, doses acima de $3 \text{ mg Pb}^{+2} \text{ L}^{-1}$ foram letais para as plantas. Para concentrações de $1 \text{ mg Pb}^{+2} \text{ L}^{-1}$, o crescimento das plantas foram semelhantes às amostras sem a presença de chumbo.

A concentrações menores que $3 \text{ mg Pb}^{+2} \text{ L}^{-1}$ a *S. auriculata* apresentou boa resistência e taxa de crescimento. A taxa de crescimento do teste toxicológico foi em média de 2,46 g/dia.

4.2 Concentração de chumbo

4.2.1 Análise de Espectros

Para a obtenção das intensidades fluorescentes dos elementos principais e a nível de traço foi utilizado o programa AXIL (VAN ESPEN, 1986).

Cada análise possui condições específicas, calibração, região e elementos químicos de interesse, além dos parâmetros de simulação de fundo. No entanto, para análises semelhantes é possível criar modelos de análise, salvá-los e posteriormente selecioná-los, encurtando o tempo da análise, com condições prévias para a simulação espectral. Os ajustes dos espectros foram feitos usando o método dos mínimos quadrados para a obtenção das intensidades fluorescentes.

Para iniciar cada análise, é necessário seguir os passos: selecionar o espectro; definir a região de interesse; calibrar ou identificar as emissões e conseqüentemente, indicando-as; inserir as linhas espectrais; se ocorrer escape de fótons, incluir picos escapes; visualizar os elementos, seus grupos de linhas espectrais, com suas energias e relações relativas; indicação do espectro de fundo; ajustar os pontos experimentais; visualizar o resíduo de ajuste e salvar o espectro.

A Figura 4.1 mostra um espectro típicos de SR-TXRF de amostras de água de cultivo, folha e raízes digeridas do experimento de bioacumulação de Íons de Pb^{+2} .

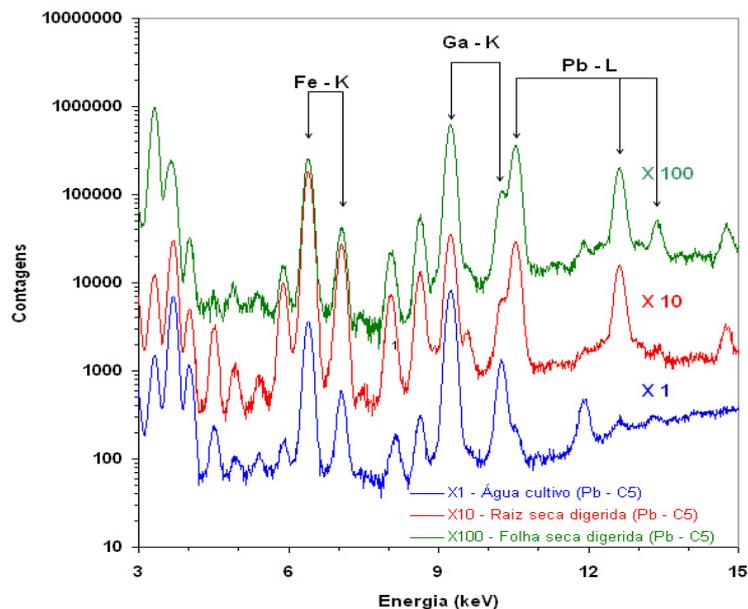


Figura 4.1 - Espectros típicos de SR-TXRF de amostras de água de cultivo, folha e raízes digeridas do experimento de bioacumulação de Íons de Pb^{+2} .

Aparentemente, na Figura 4.1, a área do pico principal do chumbo ($L\alpha$) na parte da raiz da planta é maior que na folha e na água de cultivo, em amostras da mesma coleta. Se as contagens do pico do chumbo forem normalizadas pelas contagens do pico de gálio (padrão interno) e pela sensibilidade elemental do instrumental, ainda fica mais evidente que existe uma maior concentração de chumbo nas raízes e nas folhas do que na água de cultivo. Isto se deve ao fato que a biomassa da planta foi seca, pré-concentrando os metais, além que na quinta coleta boa parte do metal já foi adsorvido pelas raízes e acumulado nas folhas. Destaca-se também no espectro outros picos fluorescentes provenientes de elementos presentes na solução hidropônica e na parte inorgânica da planta, tais como K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Br e Sr.

4.2.2 Curva de sensibilidade elemental Série L

Depois de preparados os padrões monoelementares líquidos referenciados de Zr, Mo, Cd, Ba, Pb e Ga, como mostrado na Tabela 3.4, foram obtidos os espectros dos padrões multielementares, Figura 4.2. A partir dos dados gerados da análise pelo AXIL, obteve-se a função resposta linear de cada elemento padrão, com o aumento da concentração, calculado segundo a Equação 4.1, cujo coeficiente angular é essencialmente a sensibilidade elemental relativo ao padrão interno

(Gálio), como mostrada na Figura 4.3 para o caso do padrão de chumbo. Da série de sensibilidades elementares, foi construída a curva não linear do instrumental SR-TXRF, como mostrada na Figura 4.4, permitindo extrair as sensibilidades de elementos químicos na faixa de números atômicos entre 40 e 82.

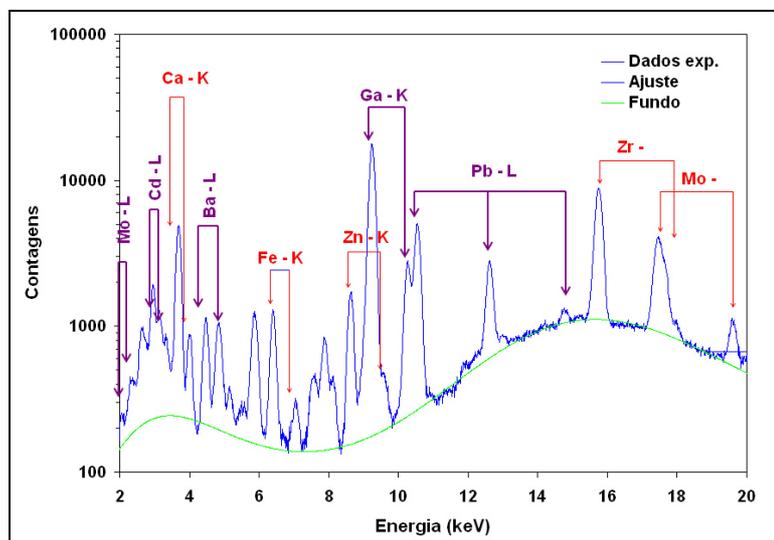


Figura 4.2 - Espectro típico SR-TXRF de padrão multielementar para a série L.

$$R_Z \equiv \left(\frac{I_Z}{I_{Ga}} C_{Ga} \right) = \frac{S_Z}{S_{Ga}} C_Z$$

Equação 4.1 – Resposta do sistema SR-TXRF com a concentração elementar

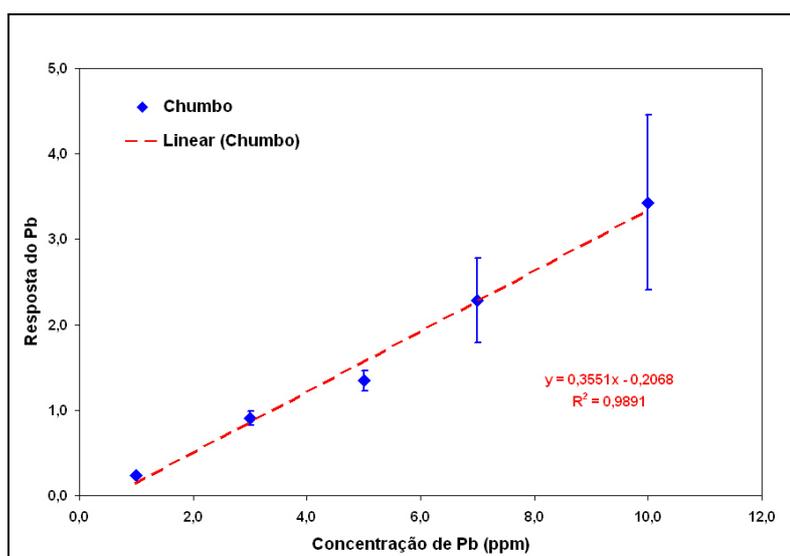


Figura 4.3 - Resposta do instrumental SR-TXRF como função da concentração do Chumbo, relativo ao padrão interno Gálio ($S_{Pb} = 0,3551 S_{Ga}$).

O instrumental SR-TXRF possui baixa sensibilidade para energias menores que 2 keV. Nessas energias ou linhas espectrais $K\alpha$ ou $L\alpha$ para os elementos tais como Si, P, S ou Zr, e Mo, é necessário incrementar as concentrações destes elementos num fator pelo menos 1000 para ter-se intensidade fluorescente equivalente ao padrão interno de Gálio, na faixa de 1 a 10 mg/L, de modo a garantir boa confiabilidade da obtenção das sensibilidades elementares. Na Figura 4.4, observa-se o comportamento da sensibilidade com o aumento do número atômico do elemento químico. Na região dos lantanídeos, a sensibilidade elementar é bem maior do que na região do Zr ($Z = 40$) e Mo ($Z = 42$).

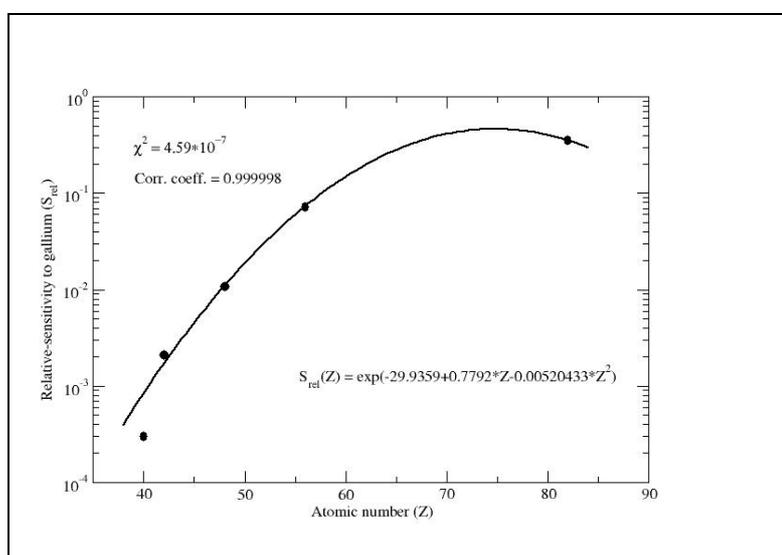


Figura 4.4 - Curva da sensibilidade do instrumental SR-TXRF relativo a padrão interno de Gálio para elementos pesados.

4.2.3 Cálculo da Concentração

Os valores médios e desvio padrão respectivo das concentrações (em mg L^{-1}) dos elementos presentes na fase fluida foram determinados através da curva de sensibilidade elementar, das intensidades fluorescentes de cada elemento relativo ao padrão interno Gálio, e das réplicas das amostras. O cálculo foi baseado na Equação 4.2. Devido à característica multi-elementar da técnica espectrométrica SR-TXRF, foi possível determinar a concentração dos macros e micronutrientes da solução nutritiva, bem como da concentração total de chumbo em cada amostra.

$$C_{FF} = \frac{I_Z}{I_{Ga}} \frac{S_{Ga}}{S_Z} C_{Ga}$$

Equação 4.2 - Concentração total de chumbo em mg L^{-1} da fase fluida (FF).

Sendo, S_Z a sensibilidade elementar, I_Z a intensidade fluorescente do elemento de número atômico z (área do pico do elemento Z obtido do espectro SR-TXRF); S_{Ga} e I_{Ga} a sensibilidade e intensidade fluorescente do padrão interno de Gálio, respectivamente; e C_{Ga} a concentração do padrão interno de gálio ($10,0 \text{ mg Ga L}^{-1}$).

Para a fase seca, as concentrações de chumbo (mg g^{-1}) na biomassa seca foram determinadas a partir da concentração de chumbo na amostra digerida e diluída, utilizando a Equação 4.3.

$$C_{FS} = C_{FF} \cdot \frac{V_d}{M_d}$$

Equação 4.3 - Concentração total de chumbo em $\mu\text{g g}^{-1}$ da fase seca.

Sendo, M_D a massa de planta seca (folha e raiz) digerida ($0,5 \text{ g}$) e V_D o volume de diluição final ($0,01 \text{ L}$).

A Tabela 4.1 apresenta os valores médios da concentração de Pb total na fase fluida e na fase seca. Os desvios padrões correspondem a quintuplicata e triplicata de amostras da fase fluida e seca, respectivamente.

Tabela 4.1 - Tempo de cultivo, biomassa úmida média e concentração total média de chumbo na fase fluida (mg L^{-1}) e na fase seca ($\mu\text{g g}^{-1}$). Os desvios padrões correspondem às réplicas experimentais ou analíticas.

Tempo (d)	Biomassa úmida (g)	Concentração total de chumbo		
		Fase líquida ^{(a)(c)} [mg L^{-1}]	Raiz seca ^{(b)(d)} [$\mu\text{g g}^{-1}$]	Folha seca ^{(b)(d)} [$\mu\text{g g}^{-1}$]
0	$31,9 \pm 1,6$	$1,23 \pm 0,06$	$2,0 \pm 0,2$	$1,6 \pm 1,6$
1	$32,9 \pm 4,3$	$0,60 \pm 0,08$	$11 \pm 1,0$	$0,2 \pm 0,7$
2	$34,6 \pm 3,4$	$0,51 \pm 0,04$	140 ± 10	$0,8 \pm 0,1$
5	$34,7 \pm 2,0$	$0,31 \pm 0,03$	150 ± 10	$12 \pm 8,0$
8	$34,2 \pm 3,6$	$0,21 \pm 0,05$	165 ± 15	$20 \pm 9,0$
22	$38,9 \pm 2,0$	$0,16 \pm 0,03$	152 ± 12	$15 \pm 10,0$
29	$34,5 \pm 3,9$	$0,24 \pm 0,01$	173 ± 10	$26 \pm 9,0$

(a) Calculado segunda a Equação 4.2.

(b) Calculado segunda a Equação 4.3.

(c) Desvio padrão extraído da quintuplicata.

(d) Desvio padrão extraído da triplicata.

Para a macrófita aquática estudada, as concentrações de chumbo foram eficientemente reduzidas da solução hidropônica e a *S. auriculata* não teve um aumento significativo de sua biomassa durante o experimento, mas teve resistência à toxicidade do metal empregado.

Como mostrado na Tabela 4.1, inicialmente a remoção de chumbo é um processo rápido, ocorrendo no primeiro dia de experimento, onde as raízes adsorvem o chumbo. O mecanismo do transporte das raízes para as partes aéreas se faz evidente a partir do quinto dia, possibilitando a acumulação de metal nas partes superiores da planta.

Observa-se também que na coleta 0 ou no branco experimental nas raízes há uma quantidade mínima inicial de chumbo na estrutura da planta, proveniente do meio aquático de onde a planta foi retirada ou coletada.

4.3 Balanço de massa

Para obter o balanço de massa foi preciso inicialmente converter a concentração de chumbo da planta de $\mu\text{g g}^{-1}$ para mg L^{-1} . Isto se deve ao fato de que a planta perdeu umidade tendo que submetê-la a um fator de correção

A partir dos valores medidos das concentrações de chumbo na biomassa seca, da biomassa úmida (Tabela 4.1), e da porcentagem de perda de água nas plantas aquáticas, conforme Tabela 3.3 (96% em média), pode-se converter a concentração de chumbo da fase sólida para a fase fluida, através da Equação 4.4.

$$C_{FF} = C_{FS} \cdot (1 - f_H) \cdot \frac{M_U}{V_0}$$

Equação 4.4 - Balanço de massa no experimento de bioacumulação de chumbo nas plantas aquáticas.

sendo C_{FF} e C_{FS} as concentrações de chumbo na fase fluida em $\mu\text{g mL}^{-1}$ e seca em $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente; $f_H = 0,96$ o fator de umidade médio nas plantas aquáticas; $V_0 = 5 \times 10^3 \cdot \text{mL}$ o volume total da solução de cultivo e M_U a biomassa úmida em g.

Na Figura 4.5 apresenta os valores da concentração de chumbo na fase fluida e na planta em mg L^{-1} ao longo do tempo determinada pela técnica SR-TXRF.

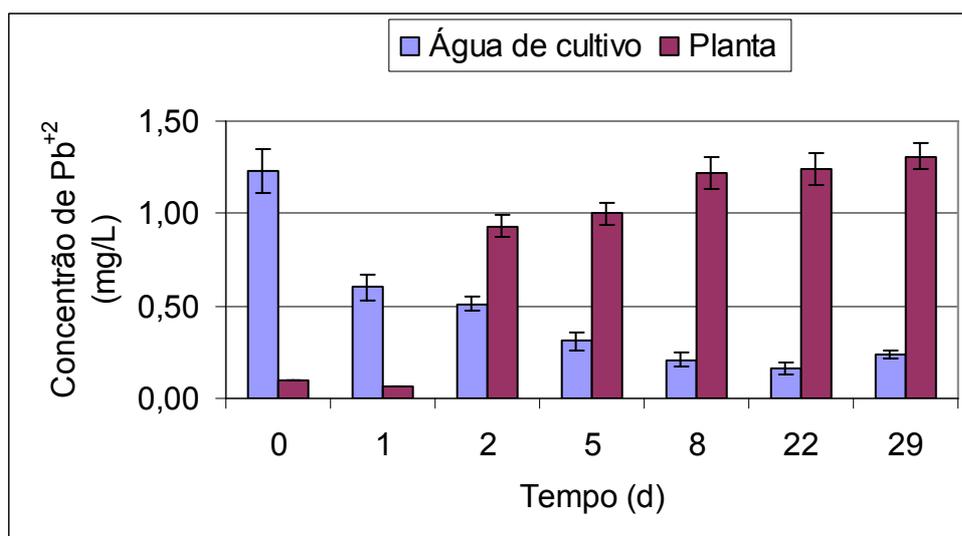


Figura 4.5 - Concentração de metal na fase fluida e na planta em mg L^{-1} ao longo do tempo por SR-TXRF.

Observa-se nitidamente que houve a transferência de chumbo da fase fluida para a planta, onde a planta obteve resistência à toxicidade do chumbo.

Nota-se também que a quantidade de chumbo reduzida da fluida não é a mesma porção que é absorvido pela fase sólida. Supõe-se que parte do metal pode ter sido adsorvido pelas paredes do recipiente onde se encontravam as soluções e por desprendimento de pequenas porções de planta no momento em que eram realizadas as coletas e com isso permanecendo parte do metal também.

4.4 Modelo Cinético Irreversível de Langmuir

Muitas tentativas têm sido feitas para formular uma expressão geral que descreva a cinética de sorção em superfícies sólidas para sistemas de sorção de fase líquido - sólido. No entanto, a equação de isoterma mais amplamente utilizada para modelagem de equilíbrio é a equação de Langmuir, baseada na assunção que há um número finito de sítios ligantes que estão uniformemente distribuídos sobre a superfície do adsorvente. Tais sítios têm a mesma afinidade para a adsorção de uma monocamada molecular e não há a interação entre as moléculas adsorvidas (DÖNMEZ e AKSU, 2002).

No presente estudo, o modelo da cinética irreversível de Langmuir tem sido utilizado para avaliar a capacidade de adsorção de íons metálicos por macrófitas aquáticas vivas cultivadas numa solução hidropônica. Esse modelo é matematicamente descrito pela Equação 4.5 e 4.6.

$$r(t) = kC(t)[q_{\max} - q(t)]$$

Equação 4.5 - Taxa de adsorção de metal pelas macrófitas.

Com

$$\frac{d}{dt}[m(t)q(t)] = m(t)r(t)$$

Equação 4.6 - Dependência temporal da taxa de remoção de metal com a biomassa viva e a quantidade de sítios disponíveis nela.

sendo q_{\max} a quantidade máxima de metal acumulado pela macrófita viva, em massa de metal por unidade de massa de planta e k a constante da taxa de adsorção de metal, em volume de solução por unidade de tempo por unidade de massa de metal.

A ordem de grandeza da quantidade de metal acumulada pela planta depende basicamente do estado da biomassa avaliada (viva ou seca). Para obter-se a quantidade de massa de *S. auriculata* dependente do tempo, foi ajustado um polinômio de ordem 2 com os dados experimentais usados. A Figura 4.6 apresenta o comportamento da biomassa úmida da *S. auriculata* com ajuste polinomial de ordem 2.

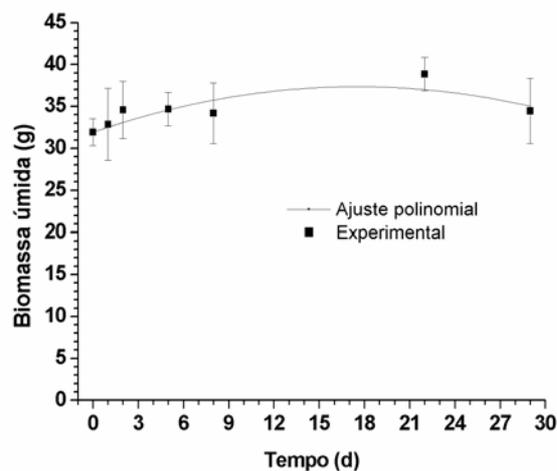


Figura 4.6 - Comportamento da biomassa úmida da *S. auriculata* com ajuste polinomial de ordem 2

Além disso, as Equações 4.5 e 4.6 descrevem a taxa de adsorção do metal no interior da planta viva. A taxa de metal removida da água, pode ser acoplada através da equação de balanço de massa, representada pela Equação 4.7.

$$V \cdot [C_0 - C(t)] = m(t)q(t)$$

Equação 4.7 - Balanço de massa de metal entre a fase aquosa e sólida.

Sendo, m a massa úmida da macrófitas aquática; C_0 a concentração inicial de chumbo na fase líquida ($\text{mg Pb}^{+2} \text{ L}^{-1}$); V o volume da fase líquida (L).

Derivando a Equação 4.7, a Equação 4.6 se torna equivalente à Equação 4.8.

$$V \frac{dC}{dt} = m(t)r(t)$$

Equação 4.8 - Dependência da taxa de adsorção de metal com a biomassa e taxa de perda de concentração de metal na fase fluida.

O sistema de equações diferenciais ordinárias e algébricas foi resolvido usando a sub-rotina DASSL code (Differential Algebraic System Solver) desenvolvido por PETZOLD (1982).

Enquanto o método SIMPLEX, desenvolvido por NELDER AND MEAD (1965), tem sido também aplicado para minimizar a função objetivo, descrita pela Equação 4.9, através de um processo iterativo obtendo os valores otimizados de k e q_{\max} .

$$F = \sum_{i=1}^N (C_i^{EXP} - C_i^{MOD}(k, q_{\max}))^2$$

Equação 4.9 - Função objetivo na obtenção dos parâmetros cinéticos de Langmuir.

Sendo, N o número total de coletas, incluindo a coleta 0; C_i^{EXP} a concentração de chumbo medida na solução aquosa de crescimento e C_i^{MOD} a concentração estimada pelo modelo.

4.5 Parâmetros de Adsorção

Os valores para a constante da taxa de adsorção e a quantidade máxima de metal (íons de chumbo) acumulado pela macrófita viva, extraído do modelo de Langmuir, são resumidos na Tabela 4.3. Entretanto, a curva que representa a

cinética de adsorção de íons de Pb^{+2} é mostrada na Figura 4.7, para a macrófita aquática *S. auriculata*. A curva da quantidade de Pb^{+2} acumulada na *S. auriculata* viva é mostrada na Figura 4.8 e os respectivos valores com seus desvios padrões são mostrados na Tabela 4.2. A quantidade de metal adsorvido pela planta foi estimada do balanço de massa nos dois meios (fluido e seco) através da Equação 4.7, enquanto que, os valores teóricos foram extraídos da resolução das equações do sistema.

Tabela 4.2 - Quantidade de íons de Pb^{+2} absorvido na *S. auriculata* viva e a incerteza.

Tempo (d)	Q (mg Pb^{+2} g ⁻¹)
0	0,00 ± 0,00
1	0,09 ± 0,01
2	0,10 ± 0,01
5	0,13 ± 0,01
8	0,15 ± 0,04
22	0,14 ± 0,01
29	0,14 ± 0,01

Embora a remoção de íon metálico seja complexa, pois há muitos mecanismos envolvidos, os dados experimentais foram bem ajustados com o modelo da cinética irreversível de Langmuir para a adsorção de íons de chumbo pela *S. auriculata*.

Tabela 4.3 - Parâmetros de adsorção para a *S. auriculata* correspondente ao Pb^{+2} .

Parâmetros cinéticos	Adsorção de Pb^{+2}
	<i>S. auriculata</i>
q_{max} (mg Pb g ⁻¹)	0,15
k (L d mg ⁻¹ Pb)	0,12
F	0,32

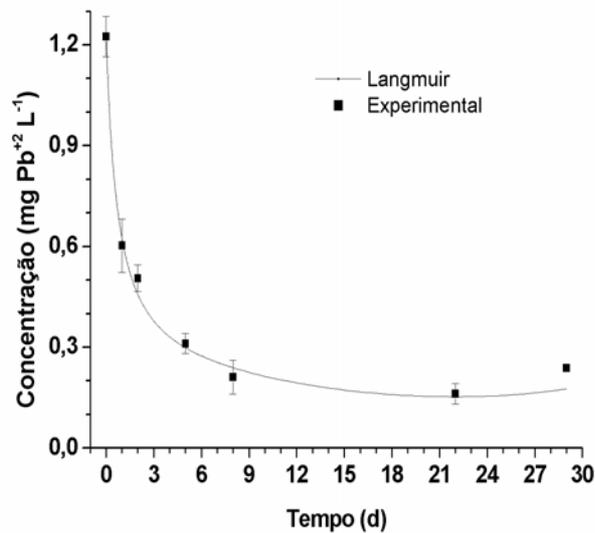


Figura 4.7 - Cinética da remoção de chumbo pela *S. auriculata*.

A Figura 4.7 apresenta a concentração de chumbo na fase fluida caindo rapidamente, enquanto que na Figura 4.8 observa-se o acumulo rápido de metal nos primeiros dias. A partir do quinto dia as concentrações se tornam quase constantes tanto na fase fluida como na biomassa, indicando que começa a ocorrer a saturação dos sítios disponíveis na raiz, porém continua a remover mais lentamente devido ao processo de transporte de metal para as partes superiores da planta.

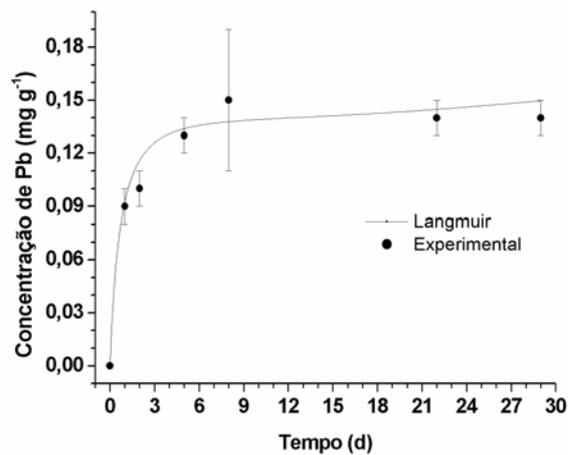


Figura 4.8 - Quantidade de íons de Pb²⁺ acumulada na planta por unidade de biomassa úmida simulado pelo modelo de Langmuir.

4.6 Comparações com outros trabalhos

Usando biomassa viva

Na literatura existem poucos trabalhos abordando a remoção de metais usando biomassa viva. Um experimento similar ao presente é apresentado por MAINE et al (2004), onde os autores realizaram um estudo da capacidade de bioacumulação de Cr^{+3} em duas macrófitas aquáticas, a *Salvinia hersogii* e a *Pistia stratiotes*, nas concentrações de 1, 2, 4 e 6 mg Cr L⁻¹, durante 31 dias de experimento. Os resultados mostram que a fração de cromo removida pela *Pistia stratiotes* e pela *Salvinia herzogii* foi entre 80 e 90%, semelhante a remoção de chumbo apresentado neste trabalho, que foi em torno de 87%.

Para todas as macrófitas aquáticas estudadas por MAINE et al (2004), as concentrações de íons de cromo foram eficientemente reduzidas da solução hidropônica e as plantas tiveram um aumento de sua biomassa durante todo o experimento, conseqüentemente, todas elas tiveram grande resistência à toxicidade do metal empregado. Por tanto, este comportamento mostra que estas plantas podem ser muito úteis num estágio final de remoção de metal de efluentes industriais ou tratamento de esgoto.

Usando biomassa seca

Por outro lado, COSTA et al (2000) realizaram estudos sobre o potencial de aplicação da biomassa seca de plantas aquáticas na remoção de metais pesados de efluentes industriais. Dados referentes às características dos tecidos vegetais das espécies *Potamogeton lucens*, *Salvinia sp* e *Eichhornia crassipes* mostram os resultados obtidos no tratamento de um efluente de galvanoplastia em uma coluna de percolação em escala piloto preenchida com uma mistura das biomassas das plantas. A eficiência do processo foi medida em relação à remoção dos metais cobre, zinco, níquel, cádmio, chumbo e cromo. Os resultados mostram que este processo demonstrou ser viável para o polimento final de efluentes de mineração e de indústrias metalúrgicas que contêm concentrações residuais de metais pesados (COSTA et al, 2000).

Neste trabalho, o valor da constante cinética encontrado foi de 0,12 L g⁻¹ d⁻¹, o qual foi menor que aqueles reportados por SAEED et al (2004) (20 a 50 L g⁻¹ d⁻¹) num experimento de biossorção de cádmio, cobre, níquel e zinco por uma alga seca.

PAGNANELLI et al (2003) estudaram a bioadsorção de chumbo, cobre, zinco e cádmio pela *Sphaerotilus natans* seco em diferentes pH. Utilizando o modelo de Langmuir para descrever a adsorção somente do chumbo e do zinco. A média de seus q_{max} encontrados foram 77,72 e 55,05 $mg\ g^{-1}$, respectivamente.

Foi apresentado por MIRETZKY et al (2006) um estudo sobre a remoção íons metálicos (Cd^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} e Pb^{+2}), usando como bioadsorvente três biomassa seca (*Spirodela intermédia*, *Lemna minor* e *Pistia stratiote*), onde os valores da capacidade máxima de remoção de chumbo foram de 7,45 e 16,99 $mg\ g^{-1}$

Baseados nos resultados presentes e prévios estudados por SAEED et al (2004), PAGNANELLI et al (2003) e por MIRETZKY et al (2006), pode-se afirmar que o mecanismo predominante na remoção do metal pela plantas aquáticas vivas foi a bioacumulação, sendo que os valores dos parâmetros encontrados foram baixos. Enquanto que para os autores os valores altos da constante da cinética de adsorção e da quantidade máxima de sítios disponíveis na planta são associados com processos de bioadsorção.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

5.1 Conclusões

O presente trabalho reporta a remoção de íons de chumbo pela macrófita aquática flutuante viva *Salvinia auriculata* de uma solução hidropônica.

A *S. auriculata* tem mostrado possuir tolerância natural a doses abaixo de 2 mg Pb⁺² L⁻¹, não sendo observado inibição no crescimento da *S. auriculata* submetida à estas concentrações.

A técnica espectroscópica por Reflexão Total (SR-TXRF) utilizando a radiação Síncrotron tem se mostrado satisfatória para determinar as concentrações dos íons metálicos, tanto na fase fluida como na fase sólida, bem como os macros e micros - nutrientes.

As análises de teor de íons de Pb⁺² na *S. auriculata* confirmam que ocorre acumulação e translocação de íons de Pb⁺² das raízes para a parte aérea, sendo que as raízes da *S. auriculata* apresentaram concentrações mais elevadas do que na parte aérea.

Enquanto que os parâmetros encontrados pelos autores com biomassa seca foram altos, os resultados obtidos neste trabalho dos parâmetros cinéticos pelo modelo de Langmuir foram baixos, indicando que o mecanismo de remoção principal tem sido o da bioacumulação.

A *S. auriculata* mostrou-se um excelente agente biossorvente de metais e uma boa opção para tratamento de efluentes através de uma técnica não-convencional, economicamente atrativa, de fácil disponibilidade, baixos custos operacionais e alta eficiência.

Portanto, a bioacumulação pode ser considerada como um processo alternativo viável, em estágios intermediários ou finais, em sistemas de tratamentos de remoção de metais aplicados a efluentes industriais, onde a concentração de metais não é tóxica atinge o limite de toxicidade.

5.2 Sugestões

Após atingir todos os objetivos deste trabalho e visando ampliar o horizonte da fitorremediação, sugerem-se futuros trabalhos de remoção multicomponente de metais usando a macrófita aquática *Salvinia auriculata*.

Além disso, ainda dentro da fitorremediação, sejam estudadas as formas de transporte do metal que ocorre das raízes para as partes aéreas da planta e o

mecanismo do transporte para se ter um maior conhecimento do comportamento da planta na remoção de metais.

REFERÊNCIAS

- ACCIOLY, A.M.A.; SIQUEIRA, J.O. Contaminação química e biorremediação do solo. In: NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R. **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000.
- AIGINGER, H., P. WOBRAUSCHEK - A method for quantitative X-ray fluorescence analysis in the nanogram region. **Nucl. Instr. Meth.**, 114: 157, 1974.
- AIGINGER, H., P. WOBRAUSCHEK - X-ray fluorescence analysis in the nanogram region with a total reflected and a Bragg polarized primary beam. **Journal Radioanal. Chem.**, 61: 281, 1981.
- AIGINGER, H., P. WOBRAUSCHEK - Total reflectance X-ray spectrometry. **Adv. X-Ray Anal.**, 28: 1, 1985.
- ALLAN, D.J. Stream ecology. **Structure and functioning of running waters**. Oxford: Chapman e Hall, 1995.
- AMADO FILHO, G.M.; ANDRADE, L.R.; KAREZ, C.S.; FARINA, M.; PFEIFFER, W.C. Brown algae species as biomonitors of Zn em Cd at Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Marine environmental Research**, v. 48, p. 213-224, 1999.
- ATSDR-AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for lead**. Atlanta, p.307, 1993.
- BAIRD, C. **Environmental Chemistry**. 2.ed. New York: W.H. Freedman e Company, 2001.
- BAPTISTA NETO, J.A.; SMITH, B.J.; McALLISTER, J.J. Heavy metal concentration in surface sediments in a nearshore environment, Jurujuba Sound, Southeast Brazil. **Environmental Pollution**, v. 109, p.1-9, 2000.
- BARCELÓ, D. Evaluación de la contaminación por plaguicidas en diversas zonas costeras de Europa In: VALVERDE-GARCIA, A. e FERNANDÉZ-ALBA, A.B. (Eds.) SEMINARIO INTERNACIONAL SOBRE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS, 3., 1994, Almería. **Anais...** Almería:1994. p.163-186. 1994.
- BARCELÓ, D.; CHIRON, S.; FERNANDEZ-ALBA, A.; VALVERDE, A.; ALPENDURADA, M.F. **Monitoring pesticides and metabolites in surface water and groundwater in Spain**. U.S.A., American Chemical Society, 1996, p.237-253.
- BARROS, A. R. B. **Remoção de íons metálicos em água utilizando diversos adsorventes**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2001. Dissertação (Mestrado).

- BAT, L.; RAFFAELLI, D.; MARR, I. L. the accumulation of copper, zinc and cadmium by the amphipod *Corophium volutator* (Pallas). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 223, n. 2, p. 167-184. 1998.
- BERTIN, E. P. Principles and practice of x-ray spectrometric analysis. Londres: Plenum Press, 1975. 1079 p.
- BINI, L.M. et al. Species richness and beta-diversity of aquatic macrophytes in the upper Paraná River floodplain. **Archiv Fur Hydrobiologie**, v. 151, n. 3, p. 511-525, 2001.
- BLAKE, G; KAIGATE, B.; FOURCY, A.; BOUTIN, C. Incorporation of cadmium by water hyacinth. **Water Science Technology**, v.19, n.10, p.123-128, 1987.
- BOHLEN, A.; R. ELLER, R. KLOCKENKÄMPER e G. TÖLG - Microanalysis of solid samples by total-reflection X-ray fluorescence spectrometry. **Analytical Chemistry**, 59: 2551, 1987.
- BOHLEN, A.; R. KLOCKENKÄMPER, H. OTTO, G. TÖLG e B. WIECKEN - Qualitative survey analysis of thin layers of tissue samples: heavy metals traces in human lung tissue. Int. Arch. Occup. **Environmental Health**, 59: 403, 1987.
- BOHLEN, A.; R. KLOCKENKÄMPER, G. TÖLG e B. WIECKEN - Microtome sections of biomaterials for trace analysis by TXRF. Fres. Z. **Analytical Chemistry**, 331: 454, 1988.
- BORGMANN, U., NORWOOD, W.P., CLARK, C. Accumulation, regulation and toxicity of copper, zinc, lead and mercury in *Hyalella azteca*. **Hydrobiologia**, v. 259, p. 79-89. 1983.
- BOUMANS, P., e R. KLOCKENKÄMPER, eds. - Total reflection X-ray fluorescence spectrometry. Proc. of the Second Workshop on TXRF, Dortmund, 26-27 May, 1988. **Spectrochim. Acta**, 44B: 433, 1989.
- BOUMANS, P., e A. PRANGE - Total reflection X-ray fluorescence spectrometry. Proc. of the Fourth Workshop on TXRF, Geestacht, 12-15 May, 1992. **Spectrochim. Acta**, 48B: 107, 1989.
- BRAILE, P.M.; CAVALCANTI, J.E.W.A. **Manual de Tratamento de Águas Residuárias**. São Paulo: CETESB, 1993.
- BRANCO, S.M.; BERNARDES, R.S.; MATHEUS, C.E. Produção de alimentos, aproveitamento energético e reciclagem de nutrientes em um sistema ecológico de tratamento de resíduos orgânicos. **Revista DAE**, v. 45, n. 143, p. 390-394, 1985.
- BRANCO, S.M.; BERNARDES, R.S. Culturas hidropônicas como forma de remoção e reciclagem de nutrientes minerais dos efluentes de sistemas de tratamento de esgotos. **Revista DAE**, v. 134, p. 113-115, 1983.

- BRASIL – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n.357. Diário Oficial da União. Brasília, 2005. p.1-23.
- BRECK, D.W. **Zeolite molecular sieves**: structure, chemistry and uses. Malabar, Flórida: Robert E. Kriger Publishing Co., 1974.
- BRUNO, L. D. An Evaluation of High Pressure Sodium and Metal Halide Light Sources for Parking Lot Lighting. Rensselaer Polytechnic Institute, 1999. Thesis.
- BURKHALTER, P. G. - Detection limit for silver by energy dispersion X-ray analysis using radioisotopes. **Intern. J. Appl. Rad. Isotopes**, 20: 353, 1969.
- CARNEIRO, A. E. V.; NASCIMENTO FILHO, V. F. Análise quantitativa por fluorescência de raios X baseada no método dos parâmetros fundamentais e na radiação espalhada. In: ENAN, 2., Caxambu, MG, 1993. **Anais...** Caxambu, 1993. p. 97-98.
- CARNEIRO, A. E. V.; NASCIMENTO FILHO, V.F. Quantitative analysis of sediments using energy dispersive X-ray fluorescence technique. In: SEMINARIO ON ENVIRONMENTAL APPLICATIONS OF ISOTOPES AND RADIATION, Santiago do Chile. **Anais...** CCEN/AIEA, 22 p., 1993 (no prelo).
- CARVALHO, C.E.V.; LACERDA, L.D.; GOMES, M.P. Heavy –metal contamination of the marine biota along the Rio de Janeiro coast, Se-Brazil. **Water Air and Soil Pollution**, v. 57, p. 645-653, 1991.
- CAW. Mechanical control of aquatic weeds. **Aquaphyte**, v.2, n.2., p.1-6, 1982.
- CETESB, Legislação Estadual, São Paulo, Título II do Decreto no 8468, de 8 de setembro de 1976: Trata da classificação das águas, bem como dos padrões de qualidade e emissão.
- CHANEY, R.L.; ANGLE, J.S.; LI, Y.M.; BAKER, A.J.M.; REEVES, R.D.; ROSEBERG, R.J.; VOLK, V.V.; KUKIER, U.; PETERS, C.; ZDIMAL, K.; NELKIN, J.P. Phytoextraction of soil nickel using *Alyssum* species. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE BIOGEOCHEMISTRY OF TRACE ELEMENTS, 5., 1999. **Anais...** Vienna - Austria: s.n., 1999. p.14-15.
- CHANG, K.L.B.; TASSI, G.; LEE, J.; FU, W-R. Heterogeneous N- deacylation of chitin in alkaline solution. **Carbohydr. Res.**, v. 303, p. 327-332, 1997.
- CHAOUI, A.; GHORBAL, M.H.; EL FERJANI, E. Effects of cadmium-zinc interactions on hydroponically grown bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Science**, v. 126, p. 21-28, 1997.
- CHEN, S.L.; KAO, C.H. Glutathione reduces the inhibition of rice seedlings growth caused by cadmium. **Plant Growth Regulation**, v.16, p.249-252, 1995a.
- CHONG, K. H, VOLESKY, B. Description of two-metal biosorption equilibria by Langmuir type Models. **Biotechnol. Bioeng.**, v. 47, n.4, p.451-460, 1995.

- CHURCHIL, S.A.; WALTERS, J.V.; CHURCHILL, P.F. Sorption of heavy metals by prepared bacterial cell surfaces. **J. Envir. Eng.**, v. 121, p. 706-711, 1995.
- CLARK, R.B. Characterization of phosphates in intact maize roots. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.23, p.458-460, 1975.
- COMPTON, A. H. Optical theory of x-ray reflection. **Phys. Rev.**, v. 10, p. 95, 1917.
- COMPTON, A. H. The total reflection of X-rays. **Phil. Mag.**, v. 45, p. 1121-1131, 1923.
- COOK, C. D. K. **Water plants of the world**. The Hague, Junk B.V., 1974. p. 1-555.
- CORSEUIL, H.X.; MARINS, M.D. Contaminação de águas subterrâneas por derramamentos de gasolina: O problema é grave? **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.2., n.2, p.50-54, 1997.
- COSSICH E. S. **Biossorção de cromo (III) pela biomassa de alga marinha *Sargassum sp.*** Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. 2000. Tese (Doutorado)
- COSTA, C.A.; SCHNEIDER, I.A.H.; RUBIO, J. Plantas aquáticas secas: uma alternativa moderna para remoção de metais pesados de efluentes industriais. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.5, n.1/2, p.19-24, 2000.
- CRIST, Ray H.; MARTIN, J. Robert; GUPTILL, Paul W.; ESLINGER, Jill M.; CRIST, DeLanson R. Interaction of metals and protons with algae - Ion exchange in adsorption and metal displacement by protons. **Environment and Science and Technology**, v. 24, n. 3, p. 337-342, 1990.
- CUNHA, F.G.; FIGUEIREDO, B.R.; PAOLIELLO, M.M.B.; DE CAPITANI, E.M. Contaminação humana por chumbo no alto Vale do Ribeira, nos estados de São Paulo e Paraná, Brasil. Rio de Janeiro, 2001.
- CYMERMAN, A.S., KEMPERS, A.J. Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macrophytes arounds Wroclaw, Poland. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 35, p. 242-247, 1996.
- DELGADO, M.; BIGERIEGO, M.; GUARDIOLA, E. Uptake of Zn, Cr and Cd by water hyacinths. **Water Research**, v.27, n.2, p.269-272, 1993.
- DONMEZ, G.; AKSU, Z. The effect of copper (II) ions on the growth and bioaccumulation properties of some yeasts. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 135-142, 1999.
- DORNELLAS, M.A.; et al.; Remoção de metais em água utilizando diversos adsorventes. **Revista Tecnológica**, Ed especial, p.65-72, 2000.
- DURAND, G. e BARCELÓ, D. Liquid chromatographic analysis of chlorotriazine herbicides and its degradation products in water samples with photodiode array

- detection. I. Evaluation of two liquid-liquid extraction methods. **Toxicol. Environ. Chem.**, v. 25, p. 1-11, 1989.
- EDWARDS, C.A. **Persistent pesticides in the environment**. 2. ed. U.S.A.: CRC Press, 1973, 170p.
- EDWIN, D.O. Control of water pollution from agriculture. **FAO Irrigation and Drainage Paper** n.55, p. 1-101, 1996.
- EREL, Y.; DUBOWSKI, Y.; HALICZ, L.; EREZ, J.; KAUFMAN, A. Lead concentrations and isotopic ratios in the sediments of the sea of Galilee. **Environmental Scienci Technology**, v.35, n.2, p.292-299, 2001.
- ESPINOZA V., E.P.; PARREIRA, P.S.; NASCIMENTO FILHO, V.F.; NAVARRO, A.A – Determinação de elementos químicos em fitas adesivas pela fluorescência de raios X. In: CGEN, 7. Belo Horizonte, MG, 1998. **Anais...** (no prelo).
- EYSINK, G.G.J.; PADUA, H.B.; PIVA-BERTOLETTIS, A.E.; MARTINS, M.C.; PEREIRA, D.N. Metais pesados no Vale do Ribeira e Iguape-Cananea. **Ambiente: Revista CETESB de Tecnologia**, v.2, n.1, p. 6-13. 1988.
- FENG, D., ALDRICH, C. Adsorption of heavy metals by biomaterials derived from the marine alga *Ecklonia maxima*. **Hydrometallurgy**, v.73, p. 1-10, 2004.
- FERNANDES, E. A. N.; NASCIMENTO FILHO, V. F.; BACCHI, M. A. e SIMABUCO, S. M. Avaliação do teor de terra em cana de açúcar industrial por fluorescência de raios X com dispersão de energia. In: CGEN, 5. Rio de Janeiro, 1994. **Anais...** Rio de Janeiro, 1994. p. 847-851.
- FERNANDES, E. A. N.; BACCHI, M. A.; NASCIMENTO FILHO, V. F. e SIMABUCO, S M. X-ray fluorescence for soil characterization in shredded cane. **Sugar Journal**, Port Talbot, n. 3, p. 12-15, 1995.
- FLORKOWSKI, T. et al - Determination of trace elements in plants by the X-ray fluorescence analysis for environmental pollution investigations. **Intern. J. Appl. Rad. Isotopes**, v. 28, p. 679-686, 1977.
- FORNO, I.W.; HARLEY, K.L.S. The occurrence of *Salvinia molesta* in Brazil. **Aquatic Botany**, v. 6, p. 185-187, 1979.
- FOUREST, E., VOLESKY, B. Contribution of sulfonate groups and alginate to heavy metal biosorption by dry biomass of *Sargassum fluitans*. **Environ. Sci. Technol.**, v. 30, n. 1, p.277-282, 1996.
- FOUST, S.A.; WENZEL, L.A.; CLUMP, C.W.; MAUS, L.; ANDERSEN, L.B. **Princípios das operações unitárias**. 2. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1982. p. 357-359.

- FREIMANN, P., e D. SCHMIDT - Application of total reflection X-ray fluorescence analysis for the determination of trace metals in the North Sea. **Spectrochim. Acta**, **44B**: 505, 1989.
- GADD, G.M. Biosorption. **Chemistry e Industry**, v. 2, p. 421-426, 1990.
- GADD, G.M.; WHITE, C. Microbial treatment of metal pollution: a working biotechnology? **Trends in Biotechnmology**, v.11, p.353-359, 1993.
- GALLI, U.; SCHUEPP, H.; BRUNOLD, C. Thiols in cadmium and copper-treated maize (*Zea mays* L.). **Planta**, v. 198, p. 139-143, 1996.
- GARBISU, C.; ALKORTA, I. Phytoextraction: a cost effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 229 – 236, 2001.
- GEANKOPLIS, C.J. **Transport processes and Unit Operations**. 3. ed. Cidade: Editora, 1993. cap. 12.
- GEANKOPLIS, C.J. **Transport process and separation process principles**. 4. ed. New Jersey: Prentice Hall Professional Technical Reference, 2003. p. 760-776.
- GERWINSKI, W., e D. GOETZ - Multielemental analysis of standard reference material with total reflection X-ray fluorescence (TXRF). *Fres. Z. Anal. Chem.*, **327**: 690, 1987.
- GHOSHROY, S.; FREEDMAN, K.; LARTEY, R.; CITOVSKY, V. Inhibition of plant viral systemic infection by non-toxic concentrations of cadmium. **The Plant Journal**, v. 13, p. 591-602, 1998.
- GIESY, J.P.; NEWELL, A. e LEVERSEE, G.J. Copper speciation in soft, acid, humic waters: effects on copper bioaccumulation by and toxicity to *Simocephalus serrulatus* (Daphnidae). **The Science of the Total Enviroment**, v.28, p. 23-36. 1983.
- GIMERO-GARCIA, E.; ANDREU, V.; BOLUDAR, R. Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticides to rice farming soils. **Environmental Pollution**, Kidington, v. 92, n. 1, p. 19-25, 1996.
- GOMES, L.M.B. Remoção do cádmio de soluções aquosas utilizando fibra de coco da baia visando o tratamento de efluentes. Rio de Janeiro: UFRJ, 2000. Tese (doutorado).
- GRANATO, M. **Utilização do aguapé no tratamento de efluentes com cianetos**. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq, 1995. (Série Tecnológica Ambiental, 5).

- GUELFY, A. **Resposta das enzimas antioxidativas em linhagens do fungo *Aspergillus sp.* na presença do metal pesado cádmio.** São Paulo: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 2001, 60p. Dissertação (Mestrado).
- GUIMARAES, G. L. Impactos Ecológicos do uso de herbicidas ao meio ambiente. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v.4, n.12, p.159 – 180, 1987.
- HAARICH, M. et al - North Sea research projects ZISCH and PRISMA: application of total reflection X-ray spectrometry in sea water analysis. **Spectrochim. Acta**, 48B: 183, 1993.
- HARLAND, C.E. **Ion exchange: theory and practice.** 2. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1994. 285p.
- HARLEY, R.M., FOX, J.L. Nutrient removal using *lemna minor*. **J Water Poll, Control Fed.**, v. 45, p. 1928-1938, 1973.
- HARRIS, P.O.; RAMELOW, G.J. Binding of metal ions by particulate biomass derived from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda*. **Environment Science and Technology**, v. 24, p. 220-228, 1990.
- HAYASHI, A. M. **Remoção de Cromo Hexavalente através de Processo de Biossorção em Algas Marinhas.** Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Unicamp, Campinas, SP, 2001. Tese (Doutorado). p 20, 22, 61,62 – 63, 80, 82 –83, 86.
- IAEA. **Radioisotope X-ray fluorescence Spectrometry.** Viena: International Atomic Energy Agency, 1970. 102 p. (Technical Reports series no.115).
- IAEA. **Elemental Analysis of Biological Materials.** Viena: Internacional Atomic Energy Agency, 1980. 371 p. (Technical Reports series no. 197).
- INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Spectrochem. Acta**, v. 33B, p. 242, 1978.
- IRGANG, B. E.; GASTAL Jr., C. V. S. **Macrófitas aquáticas da planície costeira do RS.** Porto Alegre: Botânica/UFRGS, 1996. 290 p.
- JANA, S. Accumulation of Hg and Cr by three aquatic species and subsequent changes in several physiological and biochemical plant parameters. **Water, Air and Soil Pollution**, v.38, p.105-109, 1988.
- JENKINS, R. et al **Quantitative X-ray Spectrometry.** Nova Iorque: Marcel Dekker, 1981, 588 p.
- JORDÃO, C.P.; DA SILVA, A.C.; PEREIRA, J.L.; BRUNE, W. Contaminação por cromo de rios provenientes de curtumes em Minas Gerais. **Química Nova**, v. 22, p. 47-52, 1999.

- KANEKO, K. Determination of pore size and pore distribution: Adsorbents and catalysis. **J.Membrane Sci.**, v. 96, p. 59-89, 1994.
- KAPOOR, a.; VIRARAGHAVAN, T.; CULLIMORE, D.R. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus nidulans*. **Bioresource Technology**, v.70, p.95-104, 1999.
- KATSANOS, A. A. - X-Ray Methods. In: IAEA, ed. **Elemental Analysis of Biological Materials**. Viena: IAEA, 1980. p. 231. (Technical Reports series no. 197).
- 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.
- KAY, S. H.; HALLER, W. T.; GARRARD, L. A. Effects of heavy metals on water hyacinths (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms). **Aquatic Toxicology**, v.5, p.117-128, 1984.
- KEFALA,M.I.; ZOUBOULIS, A.I.; MATIS, K.A. Biosorption of cadmium ions by Actinomycetes and separation by flotation. **Environmental Pollution**, v. 104, p. 283-293, 1999.
- KHAN, A.G.; KUEK, C.; CHAUDHRY, T.M.; KHOO, C.S.; HAYES, N.J. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. **Chemosphere**, v.41, p. 197 – 207, 2000.
- KLEN, M.R.F. Estudo do equilíbrio da biossorção monocomponente e multicomponente dos íons cobre, zinco e cádmio pela biomassa pré-tratada de alga marinha *Sargassum filipendula*. Maringá: PEQ/DEQ/UEM, 2006. Tese (Doutorado).
- KLOCKENKÄMPER, R. et al - Quantification in total reflection X-ray fluorescence analysis of micro-tome sections. **Spectrochim. Acta**, v. 44B, p. 511, 1989.
- KLOCKENKÄMPER, R. e VON BOLHEN, A. Total reflection X-ray fluorescence – An efficient method for micro-, trace- and surface-layer-analysis. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 7, p. 273-279, 1992.
- KLOCKENKAMPER, REINHOLD. **Total-Reflection X-Ray Fluorescence Analysis** (Chemical Analysis: A Series of Monographs on Analytical Chemistry and Its Applications). New York: Wiley-Interscience, 1997. p 245.
- KNOTH, J., e SCHWENKE, H. An X-ray fluorescence spectrometer with totally reflecting sample support for trace analysis at the íons de Pb level. **Fres. Z. Anal. Chem.**, v. 291, p. 200, 1978.

- KNOTH, J. e SCHWENKE, H. Trace element enrichment on a quartz glass surface used as a sample support of an X-ray spectrometer for the sub nanogram range. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, v. 294, p. 273, 1979
- KNOTH, J. e SCHWENKE, H. A new totally X-ray fluorescence spectrometer with detection limits below 10 pg. *Fres. Z. Anal. Chem.*, v. 301, p. 7, 1980.
- KOOPMANN, C., e PRANGE, A. Multielement determination in sediments from the German Wadden Sea investigations on sample preparation techniques. *Spectrochim. Acta*, v. 46B, p. 1395, 1991.
- KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B. Advances in biosorption of heavy metals. **Trends in Biotechnology**, v. 16, p. 291-300, 1998.
- KUYUCAK, N.; VOLESKY, B. Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions. **Biotechnol Left.**, v.10, n 2, p.137-142, 1988.
- LAGRIFFOUL, A.; MOCQUOT, B.; VANGRONVELD, J.; MENCH, M. Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll content, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). **Plant and Soil**, v. 200, p. 241-250, 1998.
- LASAT, M.M. Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. **Journal of Hazardous Substance Research**, v.2, 25 p., 2000.
- LEE, T. A; HARDY, J. K. Copper uptake by the water hyacinth. **Journal of Environmental Science and Health**, v.A22, n.2, p.141-160, 1987.
- LOURENÇO, R. W. et al. Mapeamento de áreas de risco a saúde pública por meio de métodos geoestatísticos. Rio de Janeiro, 2005.
- MACHADO, W. Et al. Mercury, zinc and copper accumulation in mangrove sediments: surrounding a large landfill in southeast Brazil. **Environmental Pollution**, *in press*.
- MAINE, M.A., SUÑE, N.L., LAGGER, S.C. Chromium bioaccumulation: comparison of the capacity of two floating aquatic macrophytes, **Water Res.**, v. 38, p. 1494-1501, 2004.
- MCGRATH, S.P. Phytoextraction for soil remediation. In BROOKS, R. R (Ed). **Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals**. Wallingford: CAB International, 1998. p. 261.
- MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seu impacto ambiental**: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificação e fatos. São Paulo: Produquímica, 1994. 153p.
- MALLET, C. e MALLET, V. N. Conversion of a conventional packed-column gas chromatograph to accommodate megabore columns. Determination of

- organophosphorus pesticides in environmental waters. **J. Chromatogr.**, v. 481, p.37-44, 1989.
- MARTINS, A. P. L. Capacidade do *Polygonum hydropiperoides* e *Typha domingensis* na fitorremediação de efluentes de tanques de piscicultura na região da bacia do Irai. Curitiba. UFPR, 2005. 83p. Dissertação (Mestrado).
- MATHEICKAL, J. T., YU, Q. Biosorption of lead (II) and copper(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of Australian marine algae. **Biores. Technol.**, v. 69, p. 223-229, 1999.
- MATHEICKAL, J.T.; YU, Q.; WOODBURN, G.M. Biosorption of cadmium(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine alga *Durvillaea Potatorum*. **Water Research**, v. 33, n. 32, p. 335-342, 1998.
- MESQUITA, L. M. S. (1995). RT0020/95, CETEM/CNPq, Rio de Janeiro, 38pp.
- McCABE, W.L.; SMITH, J.C.; HARRIOTT, P. **Units operations of chemical engineering**. 5. ed. Cidade: McGraw-Hill, 1993. p. 811-816.
- McCABE, W.L. et al. **Unit operations of Chemical Engineering**. 6. ed. New York: McGraw-Hill International Ed., 2001.
- McCABE, W.L.; SMITH, J.C.; HARRIOT, P. **Unit Operations of Chemical Engineering**. 4. ed. New York: McGraw-Hill Book Company, 1985.
- MICHAELIS, W. e PRANGE, A. **Totalreflexions Röntgenfluoreszenzanalyse**. GKSS Forschung-zentrum, Geesthacht, 1987, 98 p.
- MICHAELIS, W. et al. Trace analytical capabilities of total reflection. **Adv. X-ray Anal.**, v. 28, p. 75, 1985.
- MICHAELIS, W. Multielement analysis of environmental samples by total-reflection X-ray fluorescence spectrometry, neutron activation analysis and inductively coupled plasma optical emission spectroscopy. **Fres. Z. Anal. Chem.**, v. 324, p. 662, 1986.
- MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO URBANO E MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA nº 20 (art. 21) de 18 de junho de 1986. **D. O. U. Executivo**, 11356, 1986.
- MIRETZKY, P., SARALEGUI, A., CIRELLI, A.F. Simultaneous heavy metal removal mechanism by dead macrophytes. **Chemosphere**, v. 62, p. 247-254, 2006.
- MORAES, R.P. **Transporte de chumbo e metais associados no rio Ribeira de Igape**. Campinas: Instituto de Geociências, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997. Dissertação (Mestrado).
- MOREIRA, I.; MONTEIRO, A.; CATARINO, L.; FERREIRA, T. Gestão das infestantes aquáticas. **Estudos e Documentos de Trabalho**, n. 4, p. 58, 1998.

- MUKHTAR, S. et al - Application of total reflection X-ray fluorescence spectrometers to elemental determinations in water, soil and sewage sludge samples. **Analyst**, v, 116, p. 333, 1991.
- MURALLEDHARAN, T. R.; IYENGAR, L.; VENKOBACHAR, C. Biosorption: an attractive alternative for metal removal and recovery. **Current Science**, v. 61, n. 6, p.379-385, 1991.
- MURAMOTO, S.; OKI, Y. Removal of some heavy metals from polluted water by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.30, p. 170-177, 1983.
- NASCIMENTO FILHO, V. F.; FERNANDES, E. A. N.; BACCHI, M. A. e SIMABUCO, S. M. Evaluación del contenido de tierra en la caña de azúcar industrial por fluorescencia de rayos X. In: SARX'94, Punta de Tralca, Chile, 1994. **Anais....** 1996. p. 55-60.
- NASCIMENTO FILHO, V. F.; TORNISIELO, V. L.; SIMABUCO, S. M.; FURLAN, G. R. e COSTA, M. A. Aplicación de la fluorescencia de rayos X con dispersión de energía en el estudio de la movilidad de agrotóxicos en suelos. In: SARX'94, Punta de Tralca, Chile, 1994. **Anais....** 1996. p. 155-160.
- NASCIMENTO FILHO, V. F. e SIMABUCO, S. M. - Uso da fluorescência de raios X com dispersão de energia e da reflexão total na análise de amostras ambientais. In: II Workshop do Projeto Piracena: A Bacia Hidrográfica como Unidade de Estudo, Estrutura e Processos, Nazaré Paulista, SP, 1996. **Anais....** p. 140-145.
- NASCIMENTO FILHO, V. F. Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios x por dispersão de energia (ED-XRF) e por reflexão total (TXRF). Depto. de Ciências Exatas/ESALQ, Lab. de Instrumentação Nuclear/CENA, julho/99.
- NEDELKOSKA, T.V.; DORAN, P.M. Characteristics of heavy metal uptake by plant species with potential for phytoremediation and phytomining. **Minerals Engineering**, v.13, n.5, p. 549 – 561, 2000.
- NELDER, J.A., e MEAD, R. A Simplex Method for Function Minimization. *The Computer Journal*, 7, 308–315, 1965.
- NEWMAN, R.M. Herbivory and detritivory on freshwater macrophytes by invertebrates: a review. *J. Am. Benthol. Soc.*, **Lawrence**, v. 10, p. 89-114, 1991.
- NIMMO, D.R. Pesticides. In: RAND, G.M. e PETROCELLI, S.R., (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**. New York: Hemisphere, 1985. p. 335-373.
- NRIAGU, J.O.; OLERU, N.T.; CUDJOE, C.; CHINE, A. Lead poisoning children in africa, III. Kaduna, Nigeria. **Science Total Environment**, v. 197, p. 13-19, 1997.

- OERTEL, N. Plants and animals as biomonitors of heavy metal level in the aquatic ecosystem of the river Danube. **Book of abstract – Eurotox 95/Toxicology Letters**, Supplement 1/78, p. 9, 1995.
- OLIVEIRA, M. A. et al. Utilisation of aquatic biomass to energy production. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON WETLAND SYSTEM FOR WATER POLLUTION CONTROL, 6., 1998, Águas de São Pedro. **Proceedings...** Águas de São Pedro: 1998. p. 609-618.
- PAGNANELLI, F.; ESPOSITO, A.; TORO, L.; VEGLIO, F. Metal speciation and pH effect on Pb, Cu, Zn and Cd biosorption onto *Sphaerotilus natans*: Langmuir-type empirical model. **Water Research**, v. 37, p. 627-633, 2003.
- 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**, v. 4, n. 4, p. 49-60, 1996.
- PEDRALLI, G.; TEIXEIRA, M. C. B. Macrófitas aquáticas como agentes filtradores de materiais particulados, sedimentos e nutrientes. In: HENRY, R. **Ecótonos nas interfaces dos ecossistemas aquáticos**. São Carlos: Rima, 2003. p. 177-194.
- PEDRALLI, G. Macrófitas aquáticas como bioindicadoras da qualidade de água: alternativas para usos múltiplos de reservatórios. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. (Eds.). **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2003. p. 171-188.
- PELLI, A.; BARBOSA, F.A.R. Insetos coletados em *Salvinia molesta* Mitchell (*Salviniaceae*), com especial referência às espécies que causam dano à planta, na lagoa Olhos d’Água, Minas Gerais, Brasil. **Rev. Bras. Entomol.**, Londrina, v. 42, n. 1/2, p. 9-12, 1998.
- PERAZZA, M.C.D. et al. O aguapé: meios de controle e possibilidades de utilização. **Revista DAE**, 1981.
- PERIN, G.; FABRIS, S.; WAGENER, A.R.; HAMACHER, C.; SCOTTO, S. A five-year study on the heavy-metal pollution of Guanabara Bay sediments (Rio de Janeiro, Brazil) and evaluation of the metal bioavailability by means of geochemical. **Water Research**, v. 31, p. 3017-3028, 1997.
- PERRY, R.H.; CHILTON, C.H. **Manual da engenharia química**. Trad. H. MACEDO et al. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1980. cap.16.
- PETRUCIO, M.M.; ESTEVES, F.A. Uptake of nitrogen and phosphorous in the water by *Eichornia crassipes* and *Salvinia auriculata*. **Rev. Bras. Biol.**, São Carlos, v. 60, n. 2, p. 229-236, 2000.
- PETZOLD, L.R. A Description of DASSL: A Differential/Algebraic Equation System Solver, STR, SAND82-8637, Livermore, 1982

- 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*, v.19, n.10, p.89-101, 1987.
- PIRES, F. R., SOUZA, C. M., SILVA, A. A. CECON, P. R., PROCÓPIO, S. O.; SANTOS, J. B. Fitorremediação de solos contaminados com Tebuthiuron utilizando-se espécies cultivadas para adubação verde. **Planta Daninha**, v. 23, n.4 , p.711-717, 2005.
- PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A.; PROCÓPIO, S. O.; FERREIRA, L. R.; Seleção de planta com potencial para fitorremediação de Tebuthiuron. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 21, p. 451-458, 2003.
- PRASAD, M.N.V. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 35, p. 525-545, 1995.
- PRATES, B.; ANDERSON, M.A. A 96-hour bioassay of Otter Creek. **J. Water Pollut. Control Fed.**, v. 49, p. 2090-2106, 1977.
- PRANGE, A. - Total reflection X-ray spectrometry: method and applications. **Spectrochim. Acta**, v. 44B, p. 437, 1989.
- PRANGE, A.; KNOCHEL, A. e MICHAELIS, W. Multi-element determination of dissolved heavy metal traces in seawater by total-reflection fluorescence spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 172, p. 79, 1985.
- PRANGE, A. e SCHWENKE, H. Sample treatment for TXRF: requirements and prospects. **Adv. X-Ray Anal.**, v. 32, p. 211, 1989.
- PRANGE, A. et al. Determination of trace element impurities in ultra-pure reagents by total reflection X-ray spectrometry. **Spectrochim. Acta**, v. 46B, p. 1385, 1991.
- PRANGE, A. et al - Determination of trace elements in river water using total reflection X-ray fluorescence. **Spectrochim. Acta**, v. 48B, p. 207, 1993.
- QUIÑONES. Estudo da bioacumulação de cromo pelas macrófitas aquáticas *Salvinia auriculata*, *pistia stratiotes* e *eicchornia crassipes*, usando técnicas espectrométricas de raios x, 2007.
- RAINBOW, P.S. Trace metal concentration in aquatic invertebrates: why and so what? **Environmental Pollution**, v. 120, p. 497-507, 2002.
- RAINBOW, P. S. e DALLINGER, R. Accumulation and effects of trace metals in freshwater invertebrates. In: DALLINGER, R. e RAINBOW, P. S. (ed.) **Ecotoxicology of metal in invertebrates**. Boca Raton, FL: Lewis publishers, 1991. p. 119-131.
- RAINBOW, P. S. e WHITE, S. L. Comparative strategies of heavy metal accumulation by crustaceans: Zn, Cu and Cd in a decapod, and amphipod and a barnacle. **Hydrobiologia**, v. 174, p. 245-262. 1989.

- RAIS, U.N. et al. Wastewater treatability potential of some aquatic macrophytes: removal of heavy metals. **Ecological Engineering**, v. 5, p. 5-12, 1995.
- RASKIN, I.; ENSLEY, B. Phytoremediation of toxic metals - using plants to clean up the environment. **Plan Science**, v. 160, p. 1073-1075, 2000.
- REDDY, K. R.; DeBUSK, T. A. State-of-the-art of utilization of aquatic plants in water pollution control. **Water Science Technology**, v.19, n.10, p.61-79, 1987.
- REINFELDER, J.R.; FISHER, N.S.; LUOMA, S.N.; NICHOLS, J.W.; WANG, W.X. Trace element trophic transfer in aquatic organisms: A critique of the kinetic model approach. **The Science of the Total Environment**, v. 219, p. 117-135, 1998.
- REUS, U. Total reflection X-ray fluorescence spectrometry: matrix removal procedures for trace analysis of high purity silicon, quartz and sulphuric acid. **Spectrochim. Acta**, v. 44B, p. 533, 1989.
- REUS, U. Determination of trace elements in oils and greases with total reflection X-ray fluorescence: sample preparation methods. **Spectrochim. Acta**, v. 46B, p. 1403, 1991.
- RODRIGUES, R. Estudo dos possíveis efeitos dos resíduos do herbicida Dual-720 CE (Metolachlor) sobre a Comunidade Bentônica da Zona Litoral, no Sítio São José, Município Embu-Guaçu, Estado de São Paulo. São Paulo: Depto. De Ecologia Geral, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1993. 98 p. Dissertação (Mestrado).
- ROMITELLI, M. S. Remoção de fósforo em efluentes secundários com emprego de macrófitas aquáticas do gênero Eichhornia. **Revista DAE**, v. 133, p. 66-68, 1983.
- ROSA, A.V. **Agricultura e meio ambiente**. São Paulo: Atual, 1998. 95p.
- ROSAS, I.; CARBAJAL, M. E.; GÓMEZ-ARROYO, S.; BELMONT, R.; VILLALOBOSPIETRINI, R. Cytogenetic effects of cadmium accumulation on water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Environmental Research**, v. 33, p. 386-395, 1984.
- RUBIO, J.; SCHNEIDER, I.A.H. Plantas Aquáticas: Adsorventes Naturais para a Melhoria da Qualidade das Águas. In: PRÊMIO JOVEM CIENTISTA, 19., 2003. **Água: Fonte de Vida**. 2003.
- RUBIO, J., TESSELE, F. Removal of heavy metals ions by adsorptive particulate flotation. **Minerals Engineering**, v. 10, n. 7, p. 671-679, 1997.
- RUPP, M.T.C. **Utilização de Zeólitas no Tratamento de Efluentes Inorgânicos**. Rio de Janeiro: COPPE/UFRJ, 1996. Tese (Doutorado).

- RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and desorption process**. New York: John Wiley eSons, 1984.
- SAEED, A.; IQBAL, M.; AKHTAT, M. W. Removal and recovery of lead(II) from single and multimetal (Cd, Cu, Ni, Zn) solutions by crop milling waste (black gram husk). **Journal of Hazardous Materials**. V. B117, p. 65-73, 2005.
- SALT, D.E. Progress towards a molecular understanding of metal hyperaccumulation in plants. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE BIOGEOCHEMISTRY OF TRACE ELEMENTS, 5., 1999, Viena. **Anais...** Vienna – Austria, 1999. p.26-27.
- SCHICKLER, H.; CASPI, H. Response of antioxidative enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of the genus *Alyssum*. **Physiologia Plantarum**, v. 105, p. 39-44, 1999.
- SCHMIDT, D. et al. Trace metal determinations by total reflection X-ray fluorescence analysis in the open Atlantic Ocean. **Spectrochim. Acta**, v. 48B, p. 171, 1993.
- SCHNEIDER, I.A.H. **Biossorção de metais pesados com biomassa de macrófitas aquáticas**. Porto Alegre: Programa de Pós graduação em Engenharia Metalúrgica e dos Materiais/UFGRS, 1995. Tese (doutorado).
- SCHNOOR, J.L. **Phytoremediation of soil and groundwater**: Technology evaluation report TE-02-01. Iowa: GWRTAC Ground Water Remediation Technologies Analysis Center, 2002.
- SEADER, J.D. e HENLEY, E.J. **Separation process principles**. New York: John Wiley eSons, 1998. p. 781-784, 872.
- SEKHAR, S. C.; THAM, K. W.; CHEONG, K. W. Indoor air quality and energy performance of air-conditioned office buildings in Singapore. **Indoor Air**, v. 13, n. 4, p. 315-331, 2003.
- SEOLATTO, A.A. **Biossorção de cromo e níquel por biomassa da alga marinha *Sargassum filipendula***. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2005. Tese (Mestrado).
- SHENG, P. X.; TING, Y.; CHEIN, I. P.; HONG, L. Sorption of lead, copper, cadmium, zinc and nickel by marine alga biomass: characterization of biosorption capacity and investigation of mechanisms. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 275, p. 131-141, 2004.
- SCHWENKE, H.; KNOTH, J. A highly sensitive energy dispersive X-ray spectrometer with multiple total reflection of the exciting beam. **Nucl. Instr. Meth.**, v. 193, p. 239, 1982.
- SIEGBAHN (ed.) **Alpha, Beta and Gamma-Ray Spectroscopy**. North-Holland, Amsterdam, 1965. 959 p.

- SIMABUCO, S. M. Emprego da fluorescência de raios X por dispersão de energia no estudo da dinâmica da vinhaça no solo. São Paulo: IPEN/CNEN-USP, 1993, 153 p. Tese (Doutorado).
- SIMABUCO, S. M. e NASCIMENTO FILHO, V. F. Use of energy dispersive X-ray fluorescence analysis with radioisotopic excitation in study of the vinasse dynamics in soils. In: SEMINÁRIO ON ENVIRONMENTAL APPLICATIONS OF ISOTOPES AND RADIATION, Santiago do Chile. **Anais...** Santiago do Chile: Comissão Chilena de Energia Nuclear/AIEA, 1993. 28 p.
- SIMABUCO, S. M. e NASCIMENTO FILHO, V. F. Estudo da dinâmica da vinhaça no solo utilizando a fluorescência de raios X por dispersão de energia com excitação radioisotópica. In: ENAN, 2. Caxambu, MG, 1993. **Anais...** Caxambu, 1993. p. 87-88.
- SIMABUCO, S. M. e NASCIMENTO FILHO, V. F. Análise quantitativa em fluorescência de raios X por dispersão de energia pelo método do irradiador aplicada à amostras geológicas. In: ENAN, 2. Caxambu, MG, 1993. **Anais...** Caxambu, 1993. p. 93-94.
- SINGHAL, R. K.; ANDERSON, M. E.; MEISTER, A. Gluthatione, a first line of defence against cadmium toxicity. **FASEB Journal**, v.1, n.0, p.220-223, 1987.
- SMITH, R.W. Liquid and solid wastes from mineral processing plants. **Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review**, v.16, p.1-22, 1996.
- SALOMONS, W. e FÖRSTNER, U. **Metals in the hydrocycle**. Springer-Verlag, 1984. p. 349.
- SIEGBAHN, (ed.) **Alpha, Beta and Gamma-Ray Spectroscopy**. North-Holland, Amsterdam, 1965. 959 p.
- SSMA, Legislação Estadual. Rio Grande do Sul. **Portaria no5/89 Norma Técnica 01/89**. Dispõe sobre critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos nos corpos d'água interiores do Estado. 1989.
- STÖSSEL, R. P. e PRANGE, A. Determination of trace elements in rainwater by total reflection X-ray fluorescence. **Anal. Chem.**, v. 57, p. 2880, 1985.
- SUSARLA, S.; MEDINA, V. F.; McCUTCHEON, S. C. Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. **Ecological Engineering**, v. 18, p. 647-658, 2002.
- TAN, K.H. **Environmental soil science**. 2. ed. New York: Marcel Dekker Inc., 2000. 452p.
- TAVARES, C. R. G.; COSSICH, E. S.; SILVA, E. A.; RAVAGNANI, T. M. K. **Problemas Ambientales con Soluciones Catalíticas**: I. El cromo em el curtido de pieles. Cyted: Ciência Y Tecnologia para el Desarrollo, Cooperacio Iberoamericana, 2001. Cap. 7, p. 145-171.

- TERRY, P.A.; STONE. Biosorption of cadmium and copper contaminated water by *Scenedesmus abundans*. **Chemosphere**, v. 47, p. 249-255, 2002.
- TERTIAN, R., e CLAISSE, F. **Principles of Quantitative X-Ray Fluorescence Analysis**. Londres: Heyden, 1982, 385 p.
- THORNTON, I.; RAMSEY, M.; ATKISON, N. **Metals in the global environment: facts and misconceptions**. Ontario: ICME, 1995.
- TÖLG, G. e KLOCKENKÄMPER, R. The role of total reflection X-ray fluorescence in atomic spectroscopy. **Spectrochim. Acta**, v. 48B, p. 111, 1993.
- TRIVINHO-STRIXINO, S.; STRIXINO G. Estrutura da comunidade de insetos aquáticos associados a *Pontederia laceolata* Nuttall. **Rev. Bras. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 53, n. 1, p. 103-111, 1993.
- TUNDISI, H.S.F. Estudo dos possíveis efeitos dos resíduos do herbicida Dual-720 CE (Metolachlor) sobre a População de Copépodos Ciclopóides, no Açude do Sítio São José, Município Embu-Guaçu, Estado de São Paulo. São Paulo: Depto. de Ecologia Geral, Instituto de Biociências, Univ. São Paulo, 1990. 86p. Dissertação (Mestrado).
- VAN ESPEN, P., JANSSENS, K., SWENTERS, I. AXIL X-Ray Analysis software. Benelux: Canberra Packard, 1986.
- VEGLIO, F.; BOLCHINI, F. Removal of metals by biosorption: a review. **Hydrometallurgy**, v. 44, p. 301-316, 1997.
- VILLAS BÔAS, R. C. e BARRETO, M. L. Clean technologies for the mineral industries: the need of P2 solutions. In: SANCHEZ, M.; VERGARA, F. e Castro, S. (eds). **Clean technologies for the mining industry**. Santiago-Chile, 1996. p.43.
- VOLESKY, B. **Biosorption of Heavy Metals**. Boston: CRC Press, Inc., 1990. 396 p.
- VOLESKY, B.; HOLAN, Z.R. **Biosorption of heavy metals**. American Chemical Society and American Institute of Chemical Engineers, 1993. p.235-251.
- WAIHUNG, L.; CHUA, H.; LAM, K-H.; BI,S-P. A comparative investigation on the biosorption of lead by filamentous fungal biomass. **Chemosphere**, v.39, p.2723-2736, 1999.
- WARD, J.V. **Aquatic insect ecology 1: Biology and habitat**. New York: John Wiley e Sons, 1992.
- WESTLAKE, D. F. Comparisons of plant productivity. **Biological Reviews**, v.38, p.385-425, 1963.

- WOBRAUSCHEK, P. Total reflection X-ray fluorescence spectrometric determination of trace elements in femtogram region: a survey. **Journal of Analytical Atomic Spectroscopy**, v.13, p.333-337, 1998.
- WOLVERTON, B. C. Water hyacinths for removal of cadmium and nickel from polluted waters. Nasa Technical Memorandum TM-X-72721, 1975.
- 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, 1975a.
- WOLVERTON, B. C.; McDONALD, R. C. **Water hyacinths and alligator weeds for removal of silver, cobalt and strontium**. Nasa Technical Memorandum TM-X-72727, 1975b.
- WOLVERTON, B. C.; McDONALD, R. C. Water hyacinths for removing chemical and photographic pollutants from laboratory wastewater. Nasa Technical Memorandum TMX-72731, 1976.
- WOLVERTON, B. C.; McDONALD, R. C. The water hyacinth: from prolific pest to potential provider. **Ambio**, v.8, n.1, 1979.
- WREN, C.D. e STEPHENSON, G.L. The effect of acidification on the accumulation and toxicity of metals to fresh-water invertebrates. **Environmental Pollution**, v.71, n.2-4, p. 205-241. 1991.
- YALLOUZ, A.V.; CALIXTO, T. Mercúrio. Análise de peixe "in situ" e a possibilidade de intoxicação. **Saneamento Ambiental**, v. 90, p.40-43, 2002.
- YAN, G.; VIRARAGHAVAN, T. Effect of pre-treatment on the bioadsorption of heavy metals on *Mucor rouxii*. **Water Research**, v. 26, n. 1, p. 119-123, 2000.
- YAP, C. T. - X-ray total reflection fluorescence analysis of iron, copper, zinc and bromine in human serum. **Appl. Spectrosc.**, v. 42, p. 1250, 1988.
- YONEDA, Y., e T. HORIUCHI - Optical flats for use in X-ray spectrochemical microanalysis. **Rev. Sci. Instr.**, v. 42, p. 1069, 1971.
- ZOUBOULIS, A. I.; LOUKIDOU, M. X.; MATIS, K. A. Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 909-916, 2004.
- ZUCCHI, O. L. A. D. Caracterização qualitativa e quantitativa de elementos, pela técnica de fluorescência de raios X, em suplementos minerais para animais. São Paulo: IPEN/CNEN-USP, 1994, 175 p. Tese.
- ZUCCHI, O. L. A. D. e NASCIMENTO FILHO, V. F. Caracterização qualitativa e quantitativa de elementos, pela técnica de fluorescência de raios X, em suplementos minerais para animais. Parte 1: Dispersão de comprimento de onda. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 30, n. 12, p. 1427-1439, 1995.

ZUCCHI, O. L. A. D. e NASCIMENTO FILHO.. V. F. Caracterização qualitativa e quantitativa de elementos, pela técnica de fluorescência de raios X, em suplementos minerais para animais. Parte 2: Dispersão de energia. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 30, n. 12, p. 1441-1452, 1995.