

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

CINÉTICA DE BIOACUMULAÇÃO DO ÍON Pb^{+2} NA MACRÓFITA AQUÁTICA
PISTIA STRATIOTES

ISMAEL LAURINDO COSTA JUNIOR

TOLEDO - PR

2007

ISMAEL LAURINDO COSTA JUNIOR

**CINÉTICA DE BIOACUMULAÇÃO DO ÍON Pb^{+2} NA MACRÓFITA AQUÁTICA
*PISTIA STRATIOTES***

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

Orientador: Prof. Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones

Co-orientador: Prof. Dr. Edson Antônio da Silva

TOLEDO

2007

FOLHA DE APROVAÇÃO

ISMAEL LAURINDO COSTA JUNIOR

CINÉTICA DE BIOACUMULAÇÃO DO ÍON Pb^{+2} NA MACRÓFITA AQUÁTICA *PISTIA STRATIOTES*

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação *Strictu Sensu* em Engenharia Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE.

Aprovada em ____ de _____ de _____.

Componentes da banca examinadora:

Prof. Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones
UNIOESTE – PR (Orientador)

Prof. Dr. Aparecido Nivaldo Módenes
UNIOESTE – PR

Prof^a. Dra. Marcia de Almeida Rizzutto
USP – SP

TOLEDO
2007

Ao meu Pai e minha Mãe, por me guiarem e servirem de exemplo de vida;

Ao meu Irmão e minha Irmã, pela amizade e carinho;

A minha namorada, pelo amor, amizade, e apoio.

OFEREÇO

Aos meus familiares, meus professores e
amigos que compartilharam comigo mais
esta experiência de vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida.

Aos Professores Orientadores Fernando Rodolfo Espinosa Quiñones e Edson Antônio da Silva pela disponibilidade, clareza nas respostas, e pela autonomia dada no desenvolvimento deste trabalho.

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE Campus Toledo, pela oportunidade ofertada.

Em especial, aos Técnicos de Laboratório e aos Estagiários, agradeço pela disponibilidade e pela colaboração.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncroton – LNLS e o Laboratório de Pesquisas Ambientais - LAPA, pelo financiamento parcial da pesquisa e pelo fornecimento das instalações.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, pelos ensinamentos transmitidos através das disciplinas ministradas no decorrer do curso.

A Diretora Professora Nelma e colegas do Colégio Marquês de Paranaguá, pelo apoio e compreensão.

Aos familiares, pela constante valorização e incentivo ao estudo e ao conhecimento.

Aos amigos, com os quais dividimos as angústias e as realizações deste momento.

Por fim, de forma carinhosa agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a consecução deste trabalho.

"A ciência é uma
construção
completamente

humana, movida pela
fé de que, se
sonharmos,
insistirmos em
descobrir,
explicarmos e
sonharmos de novo, o
mundo de algum modo
se tornará mais
claro e toda
estranheza do
universo se mostrará
interligada e com
sentido.”

(E. O. Wilson)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE EQUAÇÕES	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 ÁGUA	4
2.2 METAIS PESADOS	5
2.2.1 Descrição e Toxicidade.....	5
2.2.2 Metais em Solução Aquosa	7
2.2.3 Fontes de contaminação por metais pesados	8

2.3	MÉTODOS CONVENCIONAIS DE REMOÇÃO DE METAIS	10
2.4	CHUMBO	14
2.5	MACRÓFITAS AQUÁTICAS.....	16
2.5.1	<i>Pistia stratiotes</i>	19
2.5.2	Nutrição mineral nos vegetais.....	21
2.5.3	Fatores que influenciam no crescimento vegetal	23
2.5.3.1	Fatores internos – Fitormônios	24
2.5.3.2	Fatores externos.....	25
2.5.3.2.1	Radiação solar	26
2.5.3.2.2	Temperatura.....	26
2.5.3.2.3	Umidade	27
2.5.3.2.4	pH	28
2.5.4	Mecanismos de remoção de íons metálicos em plantas	28
2.6	FITORREMEDIAÇÃO	31
2.6.1	Técnicas de fitorremediação	34
2.6.1.1	Fitoextração	34
2.6.1.2	Fitoestimulação.....	34
2.6.1.3	Fitotransformação.....	34
2.6.1.4	Fitoestabilização.....	35
2.6.1.5	Rizofiltração	35
2.7	BIOSSORÇÃO E BIOACUMULAÇÃO	36
2.7.1	Mecanismos de bioacumulação e biossorção	40
2.7.1.1	Transporte através da membrana celular	41
2.7.1.2	Adsorção	42
2.7.1.3	Troca iônica	42

2.7.1.4	Complexação e precipitação	43
2.7.1.5	Quelação	43
2.7.2	Aplicação de algas e macrófitas na remoção metais	44
2.8	MODELAGEM DA CINÉTICA DE BIOACUMULAÇÃO E BIOSSORÇÃO	47
2.9	ESPECTROMETRIA ATÔMICA DE RAIOS X	48
2.9.1	Raios X	49
2.9.2	Fundamentos da Fluorescência de Raios X	51
2.9.3	Técnicas espectroscópicas de raios X.....	52
2.9.4	Fluorescência de Raios X por Reflexão total – TXRF.....	54
2.9.4.1	Equação Fundamental da TXRF	56
2.9.4.1.1	Determinação da sensibilidade elementar do SR-TXRF	61
2.9.5	A técnica de Fluorescência de raios X por reflexão total - TXRF.....	65
2.9.5.1	Análise Quantitativa por TXRF	66
3	MATERIAL E MÉTODOS	68
3.1	CONDIÇÕES DE CULTIVO.....	68
3.2	REAGENTES.....	68
3.3	OBTENÇÃO E SELEÇÃO DAS MACRÓFITAS.....	69
3.4	BIOTESTES DE RESISTÊNCIA.....	69
3.5	EXPERIMENTO DE BIOACUMULAÇÃO DO Pb ⁺²	70
3.6	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	73
3.7	MEDIDAS DE SR-TXRF	74
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4.1	TESTES DE CRESCIMENTO E TOXICIDADE	75
4.2	TEOR DE UMIDADE	75
4.3	GANHO DE BIOMASSA E TAXA DE CRESCIMENTO	76

4.4	CONCENTRAÇÕES DE Pb ⁺² NAS AMOSTRAS.....	78
4.5	BALANÇO DE MASSA	82
4.6	BIOACUMULAÇÃO DE Pb ⁺²	84
4.6.1	Modelo de Langmuir Reversível	86
4.6.2	Modelo de Langmuir Irreversível.....	87
4.6.3	Modelo de Pseudo-primeira Ordem	87
4.6.4	Modelo de Pseudo-segunda Ordem	88
5	CONCLUSÕES.....	98
6	SUGESTÕES.....	100
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	- Contaminantes metálicos e origem dos despejos	9
Tabela 2.2	- Limites máximos aceitáveis de alguns metais em águas segundo EPA e CONAMA.	10
Tabela 2.3	- Vantagens e desvantagens dos principais métodos de remoção de metais	14
Tabela 2.4	- Taxonomia da macrófita <i>Pistia stratiotes</i>	20
Tabela 2.5	- Principais macronutrientes em plantas.....	22
Tabela 2.6	- Principais micronutrientes em plantas.....	22
Tabela 2.7	- Pré-requisitos para a aplicação da fitorremediação	33
Tabela 2.8	- Vantagens e desvantagens da utilização de biossorventes	39
Tabela 3.1	- componentes da solução hidropônica de Clark usados no experimento.....	70
Tabela 3.2	- Biomassas de macrófitas distribuídas nas amostras.....	71
Tabela 3.3	- Datas e coletas estabelecidas para o experimento de bioacumulação	72
Tabela 4.1	- Teor de umidade nas amostras de biomassa	76

Tabela 4.2 - Aumento da biomassa e taxa de crescimento das amostras em cultivo contendo íons Pb^{+2}	77
Tabela 4.3 - Concentração dos elementos nas amostras padrão	80
Tabela 4.4 - Concentrações de Pb^{+2} medidas nas amostras de água e na biomassa seca digerida (folhas e raízes)	82
Tabela 4.5 - Massa de Pb^{+2} na água de cultivo e nas raízes e folhas planta obtidas experimentalmente.....	83
Tabela 4.6 - Concentrações de Pb^{+2} ao longo do tempo	86
Tabela 4.7 - Parâmetros cinéticos de remoção do Pb^{+2} ao longo do tempo pelo modelo de Langmuir Reversível e análise estatística dos dados	90
Tabela 4.8 - Parâmetros cinéticos de remoção do Pb^{+2} ao longo do tempo pelo modelo de Langmuir Irreversível e análise estatística dos dados	91
Tabela 4.9 - Parâmetros cinéticos de remoção do íon Pb^{+2} ao longo do tempo pelo modelo de Pseudo-primeira Ordem e análise estatística dos dados.....	93
Tabela 4.10 - Parâmetros cinéticos de remoção do Pb^{+2} ao longo do tempo pelo modelo de Pseudo-segunda Ordem e análise estatística dos dados	94

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Distribuição dos compostos de chumbo presentes em solução aquosa em função do valor de pH.	16
Figura 2.2 - Tipos de macrófitas.....	18
Figura 2.3 - <i>Pistia stratiotes</i>	19
Figura 2.4 - Importância metabólica e nutricional dos elementos e sua classificação.....	21
Figura 2.5 - Mecanismos de biossorção e bioacumulação de espécies metálicas nas células	30
Figura 2.6 - Estrutura da fitoquelatina	31
Figura 2.7 - Mecanismo de fitorremediação de solos metais pesados.....	33
Figura 2.8 - Diagrama esquemático de um processo de biossorção.....	38
Figura 2.9 - Mecanismos de Biossorção e Bioacumulação.....	41
Figura 2.10 - Formação de um complexo entre um ácido carboxílico e um íon metálico	43

Figura 2.11 - Formação de um quelato entre uma hidroxila, um grupo carboxílico e um íon metálico	44
Figura 2.12 - Excitação e dêsexcitação atômica	52
Figura 2.13 - Representação esquemática da reflexão total.	56
Figura 2.14 - Sistema SR-TXRF na linha de luz D09-XRF do LNLS.....	59
Figura 2.15 - Espectro típico SR-TXRF de padrão multi-elementar para a série K. ...	63
Figura 2.16 - Resposta do instrumental SR-TXRF como função da concentração do cobalto, relativo ao padrão interno gálio ($s_{co} = 0,6236 s_{ga}$).....	63
Figura 2.17 - Espectro típico SR-TXRF de padrão multi-elementar para a série L ...	64
Figura 2.18 - Resposta do instrumental SR-TXRF como função da concentração do chumbo, relativo ao padrão interno gálio ($s_{pb} = 0,3551 s_{ga}$).	65
Figura 3.1 - Esquema de organização do experimento	70
Figura 3.2 - Equipamento D098B-XRF usado no LNLS	74
Figura 4.1 - Biomassa seca e massa de úmida das amostras	76
Figura 4.2 - Aumento da biomassa ao longo do tempo das amostras com Pb^{+2} e do branco experimental.....	77
Figura 4.3 - Taxa de crescimento ao dia para as amostras com chumbo e o branco experimental.....	78
Figura 4.4 - Exemplo de espectro obtido na análise do branco da água de cultivo...	79
Figura 4.5 - Sensibilidade elementar da análise SR-TXRF para as linhas K	80
Figura 4.6 - Sensibilidade elementar da análise SR-TXRF para as linhas L.....	81
Figura 4.7 - Massa de Pb^{+2} na fase fluida, nas raízes e nas folhas	83
Figura 4.8 - Biomassa experimental ajustada ao polinômio de ordem 3	85
Figura 4.9 - Cinética da remoção de Pb^{+2} ao longo do tempo pela macrófita <i>Pistia stratiotes</i> segundo o modelo de Langmuir Reversível e os dados experimentais	90
Figura 4.10 - Acúmulo de íons Pb^{+2} na macrófita ao longo do tempo pelo modelo de Langmuir Reversível e os dados experimentais.....	91
Figura 4.11 - Cinética da remoção de Pb^{+2} ao longo do tempo pela macrófita <i>Pistia stratiotes</i> segundo o modelo de Langmuir Irreversível e os dados experimentais	92

Figura 4.12 - Acúmulo de íons Pb^{+2} na macrófita ao longo do tempo pelo modelo de Langmuir Irreversível e os dados experimentais	92
Figura 4.13 - Cinética da remoção de íons Pb^{+2} ao longo do tempo pela macrófita <i>Pistia stratiotes</i> segundo o modelo de Pseudo-primeira Ordem e os dados experimentais	93
Figura 4.14 - Acúmulo de íons Pb^{+2} na macrófita ao longo do tempo pelo modelo de Pseudo-primeira Ordem e os dados experimentais	94
Figura 4.15 - Cinética da remoção de Pb^{+2} ao longo do tempo pela macrófita <i>Pistia stratiotes</i> segundo o modelo de Pseudo-segunda Ordem e os dados experimentais	95
Figura 4.16 – Acúmulo de íons Pb^{+2} na macrófita ao longo do tempo pelo modelo de Pseudo-segunda Ordem e os dados experimentais.....	95

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 2.1 - Dissociação de sais metálicos em meio aquoso.	8
Equação 2.2 - Energia de um fóton.....	49
Equação 2.3 - Conversão entre o comprimento de onda e a energia de um fóton. ..	49
Equação 2.4 - Equivalência entre o momento linear da partícula e comprimento de onda associado.	50
Equação 2.5 - Equivalência massa - energia	50
Equação 2.6 - Índice de refração complexo para meio absorvente.....	54
Equação 2.7 - Componente real do índice de refração.	55
Equação 2.8 - Componente imaginária do índice de refração.	55
Equação 2.9 - Ângulo crítico para a reflexão total de raios X.....	55
Equação 2.10 - Ângulo crítico no refletor de quartzo como função da energia do raio X incidente	55
Equação 2.11 - Seção de choque de ionização ($cm^2.g^{-1}$) da matéria por raios X.	57
Equação 2.12 - Competição entre os processos fluorescentes e Auger.	57

Equação 2.13 - Rendimento fluorescente para a série K.....	57
Equação 2.14 - Rendimento fluorescente para a série L	57
Equação 2.15 - Fração de transições da série k ser do tipo $K\alpha$	58
Equação 2.16 - Probabilidade de ocorrer um transição do tipo $K\alpha$	58
Equação 2.17 - Probabilidade (em $\text{cm}^2\cdot\text{g}^{-1}$) do alvo emitir um raio X - $K\alpha$	58
Equação 2.18 - Densidade de átomos no suporte refletor.	58
Equação 2.19 - Intensidade de raios x fluorescentes emitida pelo alvo.	59
Equação 2.20 - Intensidade de raios X fluorescentes que passam pelo colimador... ..	59
Equação 2.21 - Representação matemática da eficiência do detector de silício.....	60
Equação 2.22 - Intensidade fluorescente detectada	60
Equação 2.23 - Sensibilidade elementar da técnica TXRF.	60
Equação 2.24 - Determinação da concentração elementar pela técnica TXRF.	60
Equação 2.25 - Sensibilidade elementar relativa ao padrão interno pela técnica TXRF	61
Equação 2.26 - Determinação da concentração elementar relativa à concentração do padrão interno.	62
Equação 2.27 - Função resposta do instrumental como função da concentração. ...	62
Equação 3.1 - Cálculo de mistura para a determinação da concentração de 2 mg L^{-1} de Pb^{+2} no meio de cultivo	71
Equação 4.1 - Teor de umidade	75
Equação 4.2 - Aumento da biomassa	76
Equação 4.3 - Taxa de crescimento.....	78
Equação 4.4 - Cálculo das concentração de Pb^{+2} nas amostras	81
Equação 4.5 - Cálculo da massa total de Pb^{+2} nas raízes e folhas	82
Equação 4.6 - Cálculo da quantidade total de Pb^{+2} em cada coleta	84
Equação 4.7 - Dependência temporal da taxa de remoção de metal com a biomassa viva e a quantidade de sítios disponíveis nela.	84
Equação 4.8 - Balanço de massa entre a fase aquosa (solução nutritiva) e a sólida (biomassa)	85
Equação 4.9 - Dependência da taxa de adsorção de metal com a biomassa e taxa de perda de concentração de metal na fase fluida.....	85
Equação 4.10 - Biomassa ajustada a um polinômio de ordem 3.....	86
Equação 4.11 - Modelo cinético de Langmuir Reversível	87

Equação 4.12 - Modelo cinético de Langmuir Irreversível.....	87
Equação 4.13 - Modelo cinético de remoção Pseudo-primeira Ordem	88
Equação 4.14 - Modelo de Pseudo-segunda Ordem	88
Equação 4.15 - Sistema de Equações algébrico/diferenciais que representam o modelo cinético reversível de Langmuir	89
Equação 4.16 - Função objetivo na otimização dos parâmetros cinéticos de Langmuir.	89

RESUMO

Neste trabalho investigou-se a remoção de íons Pb^{+2} presentes em uma solução hidropônica pela macrófita *Pistia stratiotes* viva, comum em lagoas e em lagos rasos dos estados do sul do Brasil. Realizou-se o experimento com espécimes saudáveis de *Pistia stratiotes* devidamente aclimatadas. Para o cultivo foram usados recipientes plásticos contendo 5 L da solução hidropônica e 2 mg L^{-1} de Pb durante 35 dias em estufa. Vinte e uma replicatas foram utilizadas no experimento, sendo em cada uma adicionada cerca de 30 g em biomassa úmida da planta previamente aclimatadas. A temperatura e o pH foram monitorados diariamente, além da adição de água deionizada para amenizar as perdas por evaporação. Durante cinco semanas foram realizadas sete coletas das triplicatas de amostras de planta e da solução de cultivo. As amostras de macrófitas, pesadas na montagem do experimento e após a coleta, foram secas em estufa a 80°C durante 72 horas tendo redução de massa em torno de 94%. Cerca de 0,5 g da matéria seca foi digerida em meio ácido e um padrão interno de Gálio foi adicionado as amostras de solução de cultivo ou da planta digerida. Uma alíquota de $5\mu\text{L}$ foi extraída e depositada na superfície de um disco em acrílico ($\phi 30\text{ mm}$, 3 mm espessura) sendo seca a temperatura ambiente. Amostras de controle do branco, água deionizada e todos os reagentes usados no experimento foram preparados pelo mesmo procedimento. As concentrações presentes na solução de cultivo e na planta foram medidas pela técnica SR- TXRF. Os dados experimentais da cinética de remoção foram representados pelos modelos cinéticos de Langmuir irreversível, Langmuir

reversível, Primeira ordem e Segunda ordem. A capacidade máxima de remoção (q_{\max}) e a constante cinética de bioacumulação (k) foram os parâmetros ajustáveis. O modelo que descreveu de modo mais apropriado a bioacumulação foi o da cinética de Langmuir reversível, apresentando um q_{\max} de $0,21 \text{ mg g}^{-1}$ e k de $0,69 \text{ L mg}^{-1} \text{ d}^{-1}$, o que demonstra uma boa remoção de Pb^{+2} ao longo do tempo.

Palavras-chave: *Pistia stratiotes* viva, chumbo, bioacumulação, modelagem cinética

ABSTRACT

In the present work the lead uptake onto a living free floating aquatic macrophyte *Pistia stratiotes* was investigated. The bioaccumulation mechanism were applied to understand the metal uptake by the autochthonous free floating *Pistia*, common in ponds and shallow lakes from southern Brazilian states from a hydroponics solution. The experiment was performed using several healthy acclimatized plants *Pistia Stratiotes*. For the metal uptake, aquatic plants were grown in plastic containers containing 5 L test liquids and 2 mg L^{-1} of into a greenhouse for 35 days. Twenty one replicates were used for metal treatment. Only healthy acclimatized plants of a uniform size and weight were selected for experimental purposes. Approximately 30 g wet weights of *Pistia stratiotes* were put into aqueous solution. The room temperature and pH were daily measured and deionized water was adding to compensate for water losses. Seven collections were carried out during five weeks which both plants and test liquids were collected from three replicate containers of each metal treatment. The plant wet weight was measured before the experiment and after the each collection. Plants were oven-dried at 80°C for 72 hours and weighted reducing their mass around 94 %, and then they were grinded and digested by acid attack. A Gallium internal standard was added to an aliquot of water or digested plant. An aliquot of $5\mu\text{L}$ was deposited on a pre-cleaned acrylic disk (30 mm, 3 mm thick) and dried at room temperature. Blank control samples containing de-ionized water and all reagents used in the experiment were prepared by the same

procedure. Metal concentrations on dried weight plants and cultivation water were measured using the SR-TXRF. The data from the lead bioaccumulation experiment using living *Pistia stratiotes* have been represented by the irreversible Langmuir, reversible Langmuir, first order and second order models. The maximum capacity of lead removal (q_{\max}) and the kinetic constant of lead bioaccumulation (k) were the adjustable parameters. The model that described in more appropriate way the bioacumulação was of the kinetic of the reversible Langmuir, presenting a q_{\max} of $0,21 \text{ mg g}^{-1}$ and k of $0,69 \text{ L mg}^{-1} \text{ d}^{-1}$, what it demonstrates a good removal of Pb^{+2} to the long one of the time.

Key-words: *Pistia stratiotes* alive, lead, bioaccumulation and modeling kinetic.

1 INTRODUÇÃO

Desde a Antigüidade a humanidade vem promovendo alterações no ambiente em que vive. O crescimento desordenado está diretamente associado ao crescimento industrial e o desenvolvimento econômico. Ao lado dos crescentes problemas provocados pela contaminação do meio ambiente tem sido dada grande importância à contaminação das águas por substâncias tóxicas, que podem causar danos à saúde humana, sendo de particular interesse os metais.

A proteção do meio ambiente contra os agentes poluidores de origem doméstica e industrial é um problema complexo para os países em desenvolvimento. As alterações promovidas no último século nas características físico-químicas e biológicas têm acarretado modificações na qualidade dos recursos naturais, principalmente em relação aos recursos hídricos, uma vez que ocorre o acúmulo de substâncias tóxicas neste ambiente, como consequência pode-se observar o desequilíbrio do ecossistema, e também prejuízos a outros organismos dependentes deste recurso.

Dentre a ampla gama de rejeitos no Brasil, o problema do lançamento de efluentes contendo metais pesados é um dos relevantes, já que estes elementos são fontes de poluição ambiental e apresentam diversos efeitos nocivos aos ecossistemas, como alterações físico-químicas na água, provocando a queda de sua qualidade e a mortandade de flora e fauna, prejudicando assim a saúde humana.

Hoje em dia, a questão ambiental vem se tornando mais evidente devido à população mundial estar conscientizando-se e preocupando-se com as atividades potencialmente agressivas ao meio ambiente.

A contaminação ambiental com metais pesados tem sido incrementada, principalmente como resultado das atividades industriais, especialmente por aquelas dedicadas aos tratamentos eletrolíticos, produção de cerâmicos, produção de pigmentos e fertilizantes, além de outras formas tal como agricultura e disposição de águas residuais que também contribuem com este tipo de poluição (BLAZQUEZ, 2005; ZOUBOULIS et al., 2004).

O tratamento convencional de efluentes contendo metais envolve processos químicos e físicos, incluindo precipitação química, adsorção, processo de separação

por membranas, troca iônica, flotação, dentre outros. Alguns destes processos apresentam custos elevados, outros simplesmente, empregam agentes químicos que podem contribuir para a transformação de um poluente em outro.

Devido a isso tem-se estudado outras tecnologias como a fitorremediação, que tem por princípios a biossorção e a bioacumulação, ambas baseadas na capacidade que têm certos materiais de origem natural de captar metais pesados.

Diversos materiais biológicos têm sido empregados nos estudos de remoção de metais, são eles os fungos filamentosos, bactérias, leveduras, algas, macrófitas aquáticas e biomassas pela habilidade de captação que possuem conferidos pelos grupos funcionais presentes na superfície destes. (KEFALA et al., 1999; HÜSEYIN et al., 1999; WANG et al., 1996; 1995; IYER et al., 2005).

Devido a sua resposta temporal e os efeitos da sua capacidade integrada na remoção de metais pesados e outros nutrientes, as macrófitas aquáticas são utilizadas como indicadores indiretos das atividades da depuração do corpo de água. (OERTEL, 1995). Algumas plantas aquáticas, como por exemplo, Lema (*Lemna minor*), *Eichhornia* e *Phragmites*, *Typha*, *Juncus* e *Bambus*, têm sido utilizadas visando a melhoria da qualidade do efluente, principalmente no que diz respeito à redução das concentrações de nitrogênio e fósforo (SAMECKA-CYMERMAN, 1996). Estas plantas exercem importante papel na remoção de substâncias dissolvidas, assimilando-as e incorporando-as a sua biomassa.

A utilização de plantas aquáticas como agente purificador em sistemas de tratamento, justifica-se pela sua intensa absorção de nutrientes devido ao seu rápido crescimento, como também por oferecer facilidades de sua retirada das lagoas e ainda pelas amplas possibilidades de aproveitamento da biomassa. (GRANATO, 1995).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de remoção de íons Pb^{+2} pela macrófita aquática *Pistia stratiotes* usando a técnica de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total (SR-TXRF), além de estudar a bioacumulação mediante ajuste dos dados experimentais empregando os modelos cinéticos de Langmuir irreversível, Langmuir reversível, primeira ordem e segunda ordem.

Para uma melhor abordagem do assunto, este trabalho foi dividido em capítulos, assim, além deste capítulo, no Capítulo 2 é apresentada uma revisão da literatura, abordando o tema estudado.

No Capítulo 3 é descrito e detalhado o experimento de bioacumulação do Pb^{+2} pela macrófita: montagem, coleta e preparação das amostras, bem como a medida de concentração elementar pela técnica de SR-TXRF.

Os resultados experimentais de bioacumulação interpretados pelos modelos cinéticos testados são apresentados no capítulo 4, bem como as discussões sobre os mesmos.

Por fim, nos Capítulos 5 e 6 são apresentadas as principais conclusões acerca do estudo desenvolvido e as sugestões respectivamente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ÁGUA

A água possui a propriedade de dissolver um número muito grande de substâncias, tanto naturais quanto sintéticas, nas formas sólidas, líquidas ou gasosas, facilitando assim sua absorção ou seu transporte. Então, dificilmente se encontra a água na natureza em estado de pureza absoluta. Quimicamente sem impurezas a água contém uma mistura de 33 substâncias distintas (PEREIRA, 1998).

A análise das características físicas, químicas, biológicas e radioativas da água está associada com a presença de vários elementos inorgânicos e orgânicos, como também, de organismos vivos que em determinadas quantidades, indicam a qualidade dos recursos hídricos e a finalidade a que esta água se destina, determinando assim se esta água deverá ser submetida a um prévio tratamento antes de ser disponibilizada para o ao consumo humano.

A presença de organismos patogênicos é observada com aumento de substâncias orgânicas, despejos de resíduos da atividade agrícola, animais, industriais, domésticos e outros agentes poluentes das diversas atividades humanas. Muitas vezes o descarte de efluentes ou esgoto sem o prévio tratamento, promove o aumento da carga poluidora, nos rios, lagos e poços, influenciando na qualidade da água e assumindo proporções mais complexas no tratamento da mesma.

Nas águas são encontradas diversas substâncias sendo de grande importância os metais, porém o aumento de metais está relacionado aos lançamentos de efluentes industriais gerados por indústrias extrativistas de metais, indústrias de tintas e pigmentos e indústrias químicas. Estes setores industriais promovem um aumento considerável de poluentes no ambiente aquático alterando suas características originais. Quando o descarte de efluente apresenta alta carga poluidora, esta é suficiente para influenciar nas características da água, tornando-a inaceitável para o uso que se pretende, diz-se então que a água está poluída.

O aumento das concentrações de substâncias potencialmente tóxicas na água, principalmente os metais pesados, é um fator de grande preocupação aos seres humanos, quando esta água é utilizada para consumo humano. Diante deste problema faz-se necessário aplicar tecnologias de tratamentos para água, respeitando os valores máximos permitidos pela resolução CONAMA N° 357/05 que estabelece a nível nacional classificação dos corpos de águas receptores e padrões de qualidade para a água e efluente (BRASIL, 2005).

Diante do quadro sanitário e econômico, as características dos compostos inorgânicos das águas como os metais são de grande importância, pois podem manifestar problemas de saúde e inviabilizar o uso da água por exigir tratamentos específicos. A disposição dos efluentes industriais e domésticos contendo espécies metálicas sem o prévio tratamento e o uso contínuo da água acarretará o acúmulo mesmo que em concentrações baixas de diversos elementos alterando as características físico-químicas da água, reduzindo a biodiversidade e contaminando os organismos vivos.

2.2 METAIS PESADOS

2.2.1 Descrição e Toxicidade

Metais são elementos que abrangem aproximadamente 80% dos elementos químicos, sendo bons condutores de eletricidade, possuem baixa eletronegatividade, brilho característico, alto ponto de fusão e ebulição, maleabilidade e ductilidade (CAZIÑARES, 2000).

Acredita-se que os metais talvez sejam os agentes tóxicos mais conhecidos pelo homem. Há aproximadamente 2.000 anos a.C., grandes quantidades de chumbo eram obtidas de minérios, como subproduto da fusão da prata e isso provavelmente tenha sido o início da utilização desse metal pelo homem (CAMPOS, 2007).

Conforme Salgado (1996), os metais pesados diferem-se de outros agentes tóxicos porque não são sintetizados nem destruídos pelo homem. A atividade industrial diminui significativamente a permanência desses metais nos minérios, bem como a produção de novos compostos, além de alterar a distribuição desses elementos no planeta.

Os metais pesados constituem um grupo de aproximadamente 40 elementos. Um metal é considerado pesado quando, em sua forma elementar, apresentar uma densidade igual ou superior a 5 g/cm^3 ou quando seu número atômico for maior que 20. A presença de metais pesados na crosta terrestre é menor que 0,1%. Podem ser encontrados na forma elementar (sem sofrer alterações) ou formando compostos (BRADY & HUMISTON, 1986; PINO, 2005; WEBELEMENTS, 2005; CAZIÑARES, 2000).

Para Pino (2005) os metais pesados se encontram divididos em 2 grupos:

- Oligoelementos ou micronutrientes: São os requeridos em quantidades pequenas por plantas e animais, sendo necessários para que os organismos completem o ciclo vital. Neste grupo se encontram: As, B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se e Zn.
- Metais pesados sem uma determinada função biológica: que em quantidades elevadas no organismo produzem doenças; são tóxicos e apresentam a propriedade de serem acumulados em organismos vivos. São principalmente: Cd, Hg, Pb, Sb, Bi.

Macedo (2000) destaca que tais metais não podem ser destruídos e são altamente reativos. Naturalmente são encontrados em concentrações muito pequenas. A presença destes no solo e nas águas de modo alheio as concentrações naturais caracterizam-se como um resultado da atividade humana (GARBUSU & ITZIAR, 2001).

Segundo Baird (1999) do ponto de vista bioquímico, o mecanismo de ação tóxica dos metais pesados tem origem na forte afinidade entre os cátions e o enxofre. Assim, os grupos sulfidrilas ($-\text{SH}$), que comumente ocorrem em enzimas que controlam a velocidade de reações metabólicas de grande importância, ligam-se rapidamente aos cátions de metais pesados ou a moléculas contendo tais metais.

Pelo fato da ligação metal-enxofre interferir na enzima num todo, ela não pode atuar normalmente afetando os organismos de maneira desfavorável ou até fatal.

Como tais metais formam complexos estáveis com compostos orgânicos, há uma tendência em serem fixados nos tecidos, e não excretados, o que se traduz em elevada meia vida biológica – e isto talvez seja um dos maiores problemas apresentados pelos metais com relação aos seus efeitos sobre os organismos, principalmente aquáticos, associados à transferência na cadeia alimentar (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004).

O efeito tóxico depende em grande média da forma química do elemento, ou seja, sua especiação, sendo as mais devastadoras aquelas que causam anomalias imediatas na forma de lesões irreversíveis ou letais em função da solubilidade nos tecidos vivos.

A toxicidade de uma dada concentração de um metal pesado presente em um curso de água natural depende do pH e da quantidade de carbono dissolvido e em suspensão, já que interações como a complexação e adsorção podem remover de forma satisfatória alguns íons metálicos e eliminar sua ação biológica em potencial (BAIRD, 1999).

Nesse sentido, para Trevors et al. (1986) todas as formas de vida são afetadas pela presença de metais dependendo da dose e da forma química. Muitos metais são essenciais para o crescimento de todos os tipos de organismos, desde as bactérias até mesmo o ser humano, mas eles são requeridos em baixas concentrações e podem danificar sistemas biológicos caso haja exposição a doses elevadas.

2.2.2 Metais em Solução Aquosa

O estudo dos metais em solução aquosa é de interesse em várias áreas, tais como ecologia, oceanografia, tratamento de águas e efluentes. O conhecimento das propriedades físico-químicas de uma solução e dos elementos dissolvidos permite que se especifique qualquer metal em solução: como um íon livre, ligado a um

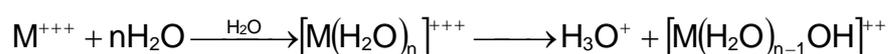
ligante num complexo, adsorvido em uma superfície sólida, ou como um precipitado (VOLESKY, 1990).

Os metais presentes em solução como íons livres são mais facilmente adsorvidos dos efluentes do que sob a forma de complexos. Os complexos precipitam mais facilmente dificultando a adsorção. Assim, o conhecimento das interações metal-ligante é de essencial importância para o estudo de sua remoção.

Segundo Cossich (2000) os metais em solução aquosa não estão sempre presentes como íons livres. Alguns outros, denominados ligantes, são capazes de interagir com os íons metálicos formando compostos complexos. Os ligantes mais importantes, presentes em águas naturais e efluentes industriais, são Cl^- , HS^- e H_2S mas NH_3 , F^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, S_x^{2-} , CN^- , SCN^- e PO_4^- e ligantes orgânicos podem ter influência sobre a complexação de metais.

A tendência de um ligante formar um complexo metálico é determinada principalmente por sua atividade na solução. A atividade depende de vários parâmetros como a concentração, temperatura, força iônica, acidez e potencial da solução (SILVA, 2001).

Dessa forma, Borba (2006) cita que devido à liberação de íons hidrônio, as soluções de metais são geralmente acidificadas quando preparadas a partir da dissolução de sais metálicos.



Equação 2.1 - Dissociação de sais metálicos em meio aquoso.

2.2.3 Fontes de contaminação por metais pesados

Os metais são despejados nos efluentes líquidos provenientes de diversas fontes, tais como: limpeza, platinado e decapagem de metais, refinamento dos fosfatos e da bauxita, geração de cloro; fabricação de baterias, curtimento do couro, etc. (LORA, 2002). Podem-se encontrar também, metais pesados poluindo os

efluentes líquidos provenientes da lavra, do beneficiamento e da metalurgia extrativa/ processamento metalúrgico (LUZ et al., 2002).

Braile & Cavalcanti (1993) apresenta uma relação de contaminantes metálicos e suas respectivas fontes industriais, conforme a Tabela 2.1.

Tabelas 2.1 – Contaminantes metálicos e origem dos despejos

POLUENTE	ORIGEM DO DESPEJO
Cromo (hexavalente)	Decapagem de metais, galvanização, curtumes, tintas, explosivos, papéis, águas de refrigeração, mordente, indústria têxtil, fotografia e cerâmica.
Cobre (cloreto)	Galvanoplastia de alumínio e tinta indelévels
Cobre (nitrato)	Tintura têxtil, impressão fotográfica e inseticidas
Cobre (sulfatos)	Curtimento, tintura e galvanoplastia
Chumbo (acetato)	Impressoras, tinturaria e fabricação de sais de chumbo
Chumbo (cloreto)	Fósforo, explosivos e mordentes
Chumbo (sulfato)	Pigmentos, baterias e litografia
Mercúrio (cloreto)	Fabricação de monômeros
Mercúrio (nitrato)	Explosivos
Níquel (cloreto)	Galvanoplastia e tinta invisível
Níquel (sulfato)	Banhos de galvanoplastia
Níquel (nitrato)	Galvanização
Zinco (cloreto)	Fabrica de papel e tintas

Fonte: Adaptado de BRAILE & CAVALCANTI (1993)

Segundo Amorim (2000) os metais pesados também são oriundos dos despejos domésticos uma vez que estes provêm de áreas residenciais e de setores de serviços dentre os quais se encontram as oficinas mecânicas, restaurantes, entre outros.

Além disso, produtos de uso cotidiano tais como cosméticos, ceras, desinfetantes podem apresentar metais pesados como alumínio, zinco e chumbo em sua composição, sendo estes metais os mais significativos nestes despejos.

Macêdo (2000) afirma que despejos de resíduos industriais são as principais fontes de contaminação das águas, uma vez que dependendo do processo produtivo, várias substâncias, dentre as quais os metais pesados, estão presentes e acabam lançados em parte nos cursos d'água.

No Brasil os níveis de metais pesados nas águas devem obedecer aos itens da Resolução CONAMA Nº. 357/05, que além deste parâmetro, regulamenta os demais e classifica todos os corpos d'água.

Na Tabela 2.2 são apresentados os limites máximos aceitáveis para alguns metais em águas, segundo a EPA (Environmental Protection Agency) e o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) para águas de classe II.

Tabela 2.2 – Limites máximos aceitáveis de alguns metais em águas segundo EPA e CONAMA.

ELEMENTO	LIMITE EPA (mg L⁻¹)	LIMITE CONAMA (mg L⁻¹)
Arsênio	0,0000	0,010
Cádmio	0,0005	0,001
Chumbo	0,0000	0,010
Níquel	0,0700	0,025
Zinco	0,5000	0,180

FONTE: Adaptado de BRASIL, 2005; SHENG, 2004.

2.3 MÉTODOS CONVENCIONAIS DE REMOÇÃO DE METAIS

As indústrias realizam, na maioria das vezes, o tratamento de seus despejos, antes dos mesmos serem lançados nos corpos d'água. Algumas dessas técnicas também podem ser utilizadas diretamente no local para despoluir o meio ambiente. Um exemplo diretamente ligado a este tipo de tratamento é o que ocorre nos setores mineiros e metalúrgicos (ECKENFELDER, 1989; LORA, 2002; LUZ et al., 2000).

Os processos de tratamento são definidos de acordo com os subprodutos produzidos nas águas de rejeito. Algumas técnicas já estabelecidas têm sido utilizadas em conjunto com novas tecnologias como a biossorção e a

bioacumulação, para se conseguir diminuir o custo aumentando a remoção dos metais pesados (EPA, 1997; ECKENFELDER, 1989; LUZ et al., 2000; BOULDING, 2004).

Segundo Eckenfelder (1989) a remoção de metais pesados é realizada por meio de várias técnicas, na maioria das vezes utilizadas em conjunto. Tais técnicas, comumente denominadas de métodos convencionais, já são conhecidas e utilizadas mundialmente para a descontaminação de efluentes líquidos.

Os métodos convencionais mais utilizados para a remoção de metais pesados tais como chumbo e cádmio, são processos químicos como a oxidação química, precipitação química e redução química e os processos de separação física como filtração e sedimentação (ALESSANDRETTI et al., 2005)

Tais métodos apresentam diferentes eficiências de acordo com o tipo de metal, além disso, como geralmente se tem grandes volumes e baixas concentrações de metais é necessário um alto padrão de eficiência para que a remoção seja satisfatória, encarecendo assim os processos.

Dentre as diferentes alternativas para o tratamento de efluentes que são utilizadas estão a precipitação química, a coagulação, a adsorção com carvão, a troca iônica, e os processos de separação com membranas. Porém, a aplicação destes processos é freqüentemente restrita por razões técnicas ou econômicas, sobretudo para as unidades industriais de pequena e média dimensão que se proliferam no Brasil (PAGNANELLI, 2001).

O carvão ativado atua como um filtro na remoção de matéria orgânica, cloro residual e fenóis, assim como na descoloração de águas turvas através das propriedades adsorptivas deste composto. Sua confecção se baseia na exposição das partículas ante um agente ativo (tratamento térmico ou químico), criando estruturas compostas de macro, meso e microporos.

A captação de íons metálicos pelo carvão ativado acontece pela formação e a troca entre os complexos da superfície iônica do metal e os grupos ácidos funcionais do carvão, porém, a remoção de metais é afetada somente por uma pequena fração da área superficial do carvão que contém os grupos funcionais necessários para a remoção, embora a área superficial deste seja enorme (KRATOCHVIL, 1997).

Uma das principais desvantagens do com carvão ativado se deve ao incremento nos custos devido ao pré-tratamento que o carvão ativado deve sofrer para melhorar a captação dos metais pesados (MONSER & ADHOUM, 2002).

Masterton et al. (1985) cita que a precipitação é o processo de remoção de metais mais utilizado. As espécies em solução são precipitadas através de uma mudança no pH, utilizando geralmente algum produto químico. O processo visa a incrementar o tamanho de partícula do precipitado na solução, para que os metais sedimentem e sejam retirados como lodos residuais.

É baseado na utilização de hidróxido de cálcio, o qual favorece a formação de hidróxidos insolúveis, sais básicos, ou co-precipitados com carbonato de cálcio ou hidróxido férrico. Algumas vezes estes processos não conseguem remover os traços de metais nos níveis de concentração estabelecidos pela legislação. Uma alternativa para o aumento da eficiência de remoção é a adição de sulfeto, já que geralmente os metais pesados são ávidos por este tipo de íons.

Em alguns casos, a cloração é freqüentemente necessária para romper algumas ligações dos metais solubilizados. Quando a precipitação é feita com o cálcio, geralmente, não se permite obter níveis de concentração ótimos e adequados para o ambiente, apresentando dificuldade na separação; geração de lodos relativamente tóxicos e em repetidas ocasiões é indesejável sua utilização devido ao processo se tornar pouco rentável, e finalmente a precipitação química com cálcio incrementa dureza nas águas tratadas (ZOBOULIS et al., 2004).

A Troca iônica baseia-se no emprego de resinas sintéticas que seqüestram os íons presentes na solução por meio de uma reação química, acumulando-os. Por este motivo, periodicamente, as resinas precisam ser regeneradas com ácido ou soda cáustica (reação química reversa) para remover os íons incorporados, permitindo o emprego das resinas em um novo ciclo de tratamento (VOLESKY, 2004).

A coluna de troca iônica é geralmente regenerada com ácido forte quando se trata de um trocador catiônico; este é o tipo de coluna empregada para a remoção dos metais pesados. Embora o método seja apropriado para remover contaminantes em concentrações diluídas e tenha boa seletividade no processo, é custoso devido às resinas e a regeneração destas (ZOBOULIS et al., 2004).

Nos processos de separação com membranas sintéticas porosas filtram-se os sais dissolvidos na água. Para que a água passe pelas membranas é necessário pressurizá-la a mais de 10 kgf cm⁻² (MASTERTON et al., 1985). Este processo depende da passagem preferencial da água na superfície da membrana, composta geralmente por poros de acetato de celulose ou poliamida. O tamanho do poro empregado depende essencialmente da largura da camada de água absorvida, assim como dos tamanhos atômicos e moleculares do soluto e do solvente utilizados na separação. A osmose reversa é um tratamento complexo que se opera a altas pressões, de alto custo e muito eficiente (ZOBOULIS et al., 2004).

Por sua vez, segundo Wanadoo (2004) o tratamento eletroquímico baseia-se em desestabilizar os contaminantes presentes num meio aquoso, mediante a passagem de uma corrente elétrica através do mesmo. Esta corrente provoca reações químicas que conduzem os contaminantes a um estado estável visando sua precipitação e posterior remoção por eletroflotação.

Neste sentido, para Volesky (1990) tais métodos nem sempre são satisfatórios e geralmente apresentam custo elevado além de gerar resíduos sólidos, necessitando assim de uma nova etapa de tratamento.

Silva (2001) argumenta ainda que os processos físico-químicos clássicos, quando aplicados na remoção de metais pesados presentes em efluentes de baixa concentração e elevado volume, revelam-se pouco eficientes e demasiadamente onerosos, sobretudo para as unidades industriais de pequena e média dimensão que proliferam no nosso país.

Sendo assim, dentro das novas tecnologias de remediação ambiental, de baixo custo e fácil implementação, aparece recentemente a biossorção a bioacumulação que se tem revelado bastante promissora na fixação de diferentes metais.

Na Tabela 2.3 apresenta-se a comparação entre os métodos convencionais de remoção de metais, enfatizando-se vantagens e desvantagens.

Tabela 2.3 – Vantagens e desvantagens dos principais métodos de remoção de metais

MÉTODO	DESVANTAGEM	VANTAGEM
Precipitação química e filtração.	Para concentrações alta Separação difícil Não muito efetiva Produz lodo	Simples Baixo custo
Oxidação e redução biológica.	Taxas de conversão lenta, sensível ao clima	Mineralização
Oxidação e redução química	Requer agentes químicos	Mineralização
Tratamento eletroquímico	Para altas concentrações Custo elevado	Possibilita a recuperação dos metais
Osmose reversa	Altas pressões Custo elevado	Efluente puro (para reciclagem)
Troca iônica	Sensível à presença de partículas Resinas de custo elevado	Efetivo Possível recuperação do metal
Adsorção	Não efetivo para alguns metais	Sorventes convencionais
Evaporação	Requer fonte de energia Custo elevado Produz lamas	Obtenção do efluente puro

FONTE: Adaptado de ZOUBOULIS *et al.* , 2004

2.4 CHUMBO

Com número atômico 82 e símbolo Pb, o chumbo é um metal cinza-azulado de peso atômico 207,19, ponto de fusão 327.502° C e ponto de ebulição 1740° C (IPCS, 1995). É suficientemente mole para ser cortado com uma faca, porém impurezas como o antimônio, arsênio, cobre ou zinco tornam-no muito duro.

O chumbo é resistente à oxidação atmosférica e ao ataque dos ácidos clorídrico ou sulfúricos diluídos, mas é rapidamente dissolvido pelo ácido nítrico.

Ocorre como contaminante ambiental e as concentrações no meio ambiente cresceram de acordo com o aumento do seu uso industrial. Com o advento da Revolução Industrial, as concentrações de chumbo no meio ambiente elevaram-se de forma alarmante, principalmente devido à introdução de compostos orgânicos de chumbo (chumbo tetraetila) como aditivo para gasolina.

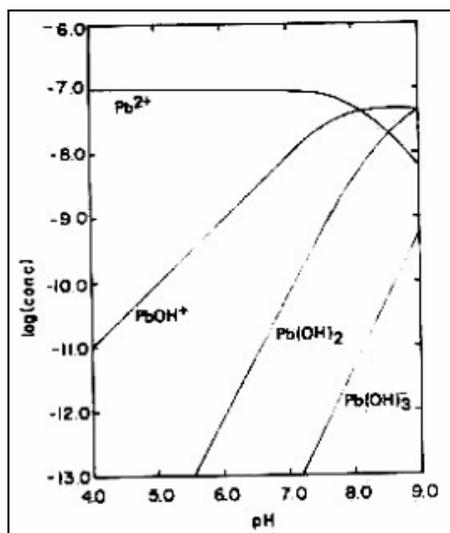
O chumbo é um elemento abundante em toda a crosta terrestre e sua utilização já ocorria em épocas bem antigas. Quando em grandes concentrações, o contato humano com esse metal pode levar a distúrbios de praticamente todas as partes do organismo - sistema nervoso central, sangue e rins – culminando com a morte. Em doses baixas, há alteração na produção de hemoglobina e processos bioquímicos cerebrais. Isso leva a alterações psicológicas e comportamental sendo a diminuição da inteligência um dos efeitos (*Bulletin of The World Health Organization*, 2000).

O chumbo é um dos metais mais utilizados na indústria. A sua principal aplicação é do seu óxido (PbO) é o fabrico de baterias elétricas para automóveis. A adição de pequenas percentagens de outros compostos tais como arsênio ou antimônio, aumentam a sua capacidade de resistência mecânica, protegendo do desgaste, facultando-lhe assim a capacidade de servir de material de revestimento.

Os sais solúveis de chumbo, cloretos, nitratos, acetatos, etc., são venenos muito ativos. A principal causa de intoxicação com chumbo é a exposição a vapores e poeiras dos seus compostos. Os sintomas de intoxicação são desconforto intestinal, fortes dores no abdome, vômitos, etc.

De acordo com a Resolução do CONAMA nº 357 a concentração limite de chumbo total presente em um efluente industrial para descarte é de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ (BRASIL, 2005).

Na Figura 2.1 é apresentado o diagrama de especiação do chumbo em função do pH, observa-se a existência de duas espécies para valores de pH inferiores a 5: PbOH^+ e Pb^{+2} , sendo esta última a predominante. Em pH perto de 6 começa a coexistir, com as duas espécies anteriores, o complexo Pb(OH)_2 . O valor de pH igual a 7 coincide com a formação do complexo aniônico Pb(OH)^{-3} , passando a verificar-se a existência das quatro espécies em simultâneo.



Fonte: PAGENKOPF, (1978).

Figura 2.1 - Distribuição dos compostos de chumbo presentes em solução aquosa em função do valor de pH.

2.5 MACRÓFITAS AQUÁTICAS

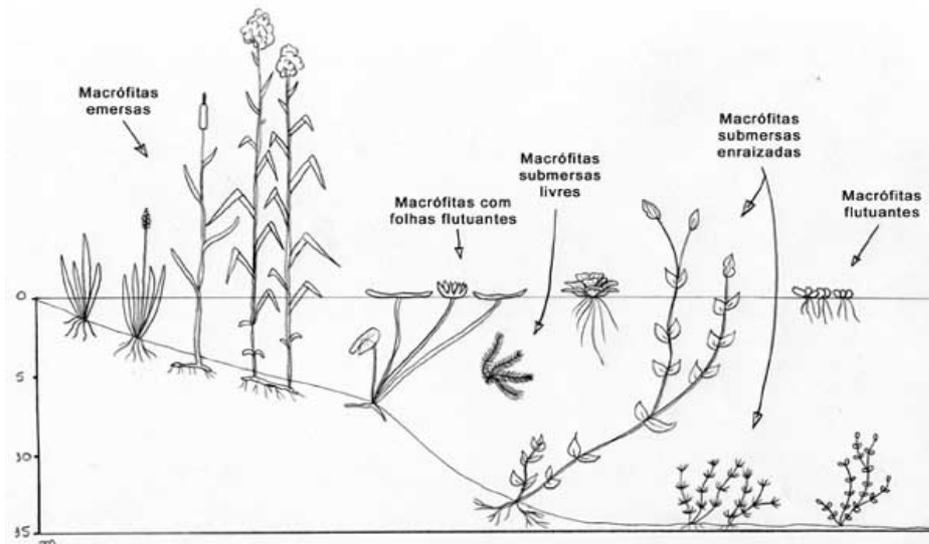
As macrófitas aquáticas caracterizam-se como um grupo de plantas que melhor se adaptam tanto ao meio aquático quanto ao terrestre. Elas foram classificadas dessa forma por poderem permanecer tanto fora da água quanto dentro da água, habitando desde brejos até ambientes aquáticos (MARTINS, 2005).

Algumas características evolutivas de vegetais terrestres que ainda permanecem nas macrófitas são a presença de cutícula e de estômatos. Estas plantas possuem grande amplitude ecológica, fazendo parte desta comunidade diversos grupos taxonômicos, dentre eles as Angiospermas com representantes de 42 famílias de Dicotiledôneas e 30 de Monocotiledôneas; as Briófitas com 17 famílias e as *Pteridófitas* com 6 famílias (ESTEVES, 1998; MURPHY et al., 2003).

Segundo Thomaz & Bini (2003), as macrófitas aquáticas apresentam ciclo de vida relativamente rápido e as estratégias reprodutivas incluem, em alguns casos, tanto a reprodução sexuada quanto assexuada, o que permite um maior êxito no crescimento e propagação.

As macrófitas aquáticas são classificadas segundo ESTEVES (1998) quanto ao seu biótipo, que é denominado genericamente de grupo ecológico. Estes grupos podem ser classificados como:

- a) Macrófitas aquáticas emersas – plantas enraizadas no sedimento e com folhas fora d'água. Alguns exemplos: *Typha*, *Ponteferia*, *Echinodorus*, *Eleocharis*.
- b) Macrófitas aquáticas com folhas flutuantes – plantas enraizadas no sedimento e com folhas flutuando na superfície da água. Exemplos: *Nymphaea*, *Vitoria* e *Nymphoides*.
- c) Macrófitas aquáticas submersas enraizadas – plantas enraizadas no sedimento, que crescem totalmente submersas na água. Podem crescer 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*.
- d) 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*.
- e) 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*.



Fonte: Disponível *on line* em http://www.ufscar.br/~probio/perfil_m.jpg acessado em 01/06/07 às 19:31.

Figura 2.2 – Tipos de macrófitas

Existem algumas adaptações presentes nas macrófitas aquáticas como o aumento dos tecidos responsáveis pela captura de gases e o aumento na capacidade de transpiração que podem facilitar a entrada de metais pesados na planta pelas folhas (MARTINS, 2005).

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 (MARTINS, 2005).

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.

As várzeas naturais são habitadas por diferentes tipos de plantas adaptadas para o crescimento na água e em solos saturados. Existem vários termos para definir estas plantas devido à ambigüidade nas definições e à complexidade de sua classificação, sendo os termos usuais: hidrófitas, macrófitas aquáticas, hidrófitas vasculares, plantas aquáticas e plantas aquáticas vasculares (GUNTENSPERGEN et al., 1988).

A distribuição e a presença dos diversos tipos de macrófitas são determinadas por: concentração dos nutrientes na água, tipo de sedimento onde estão fixadas, profundidade da lâmina d'água, presença ou não de correnteza, turbidez, ataque de herbívoros e atividades humanas (APHA, 1995; WOOD & MCATAMNEY, 1996).

A intensa proliferação destes vegetais produz elevada quantidade de biomassa, a qual, quando se decompõe, libera nutrientes para o meio, aumentando, conseqüentemente, a velocidade do processo de fertilização das águas (THOMAZ & BINI, 2003).

2.5.1 *Pistia stratiotes*

Planta aquática muito rústica e pouco exigente. Muitas vezes torna-se até uma planta daninha, devido à sua rápida multiplicação. No paisagismo é utilizada em aquários, fontes, lagos e espelhos d'água.

Na planta adulta as folhas são dispostas em rosetas e as radicais tem o pecíolo maior e mais largo do que as outras; são espatuladas, obtusas, com a face superior de cor verde aveludada, pulverulentas, tendo 7 nervuras simples e longitudinais; a face inferior é de cor verde pálida esbranquiçada e cutanilhosa; as folhas radicais tem 9 cm de comprimento sobre 2 cm de largura na base e 6 cm no ápice; as outras folhas são de tamanho variável atingindo as vezes 12 cm de comprimento sobre 9 cm de largura no ápice (VALITUTTO, 2004).



Figura 2.3 – *Pistia stratiotes*

A inflorescência é em espádice com as flores unissexuais protegidas por pequenas espatas de 15 mm de comprimento. As raízes são fibrosas de 20-30 cm de comprimento, em grande número formando como que uma longa trança de cabelos dispostas na água verticalmente. Na Figura 2.3 é apresentada esta macrófita.

A multiplicação desta planta é curiosa. Geralmente desenvolve-se no indivíduo um pequeno rebento em forma de pecíolo que atinge as vezes 7 cm de comprimento sobre 5 mm de largura, emitindo na parte superior uma ou mais folhas que se desenvolve a medida que a planta cresce até atingir seu tamanho natural, e assim por diante vão constituindo outros indivíduos em várias direções, aos quais se acham ligados formando um conjunto de muitas plantas o que contribui na formação de verdadeiros bancos de macrófitas.

Thomaz & Bini (2003) cita que a *Pistia sp.* apresenta espaços intracelulares que chegam a ocupar até 71% do volume da planta. Normalmente, os tecidos mecânicos e condutores apresentam-se reduzidos ou mesmo ausentes, enquanto que os estômatos são poucos ou atrofiados, não funcionais. A taxonomia da macrófita *Pistia stratiotes* é descrita na tabela 2.4.

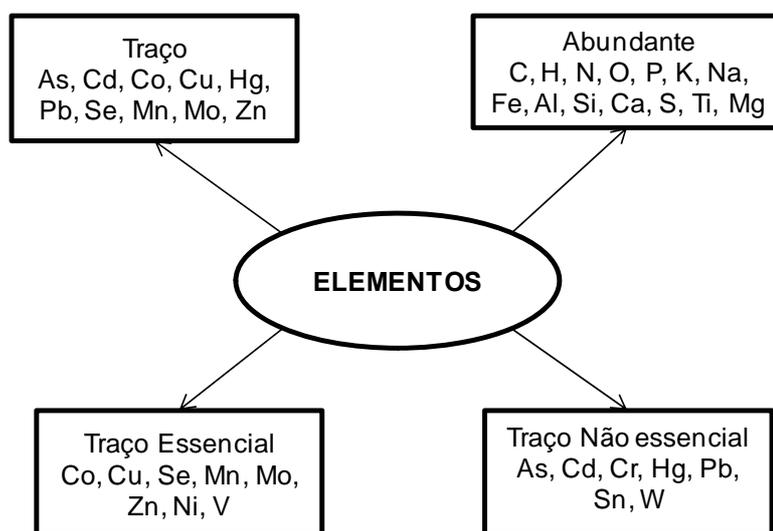
Tabela 2.4 – Taxonomia da macrófita *Pistia stratiotes*

Reino	Plantae
Sub Reino	<i>Viridaeplantae</i>
Filo	<i>Tracheophyta</i>
Subfilo	<i>Spermatophytina</i>
Infrafilo	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Liliopsida</i>
Super Ordem	<i>Harane</i>
Ordem	<i>Arales</i>
Família	<i>Araceae</i>
Subfamília	<i>Coliadae</i>
Gênero	<i>Pistia</i>
Espécie	<i>stratiotes</i>
Nome	<i>Pistia stratiotes</i>

2.5.2 Nutrição mineral nos vegetais

Os elementos minerais são adquiridos pelas plantas na forma de íons inorgânicos, presentes no meio em que vivem, sendo removidos através da grande área superficial de suas raízes.

Somente certos elementos são essenciais ao crescimento da planta para completar seu ciclo de vida. Esses elementos são classificados, de acordo com a quantidade necessária para o vegetal, em macronutrientes (N, K, Ca, Mg, P, S e Si) e micronutrientes (Cl, Fe, B, Mn, Na, Zn, Cu, Ni e Mo). A Figura 2.4 representa a importância metabólica e nutricional dos elementos e sua classificação.



Fonte: VALITUTTO, 2004

Figura 2.4 - Importância metabólica e nutricional dos elementos e sua classificação.

A maioria dos micronutrientes, listados na Tabela 2.6, são constituintes de regiões muito específicas de enzimas (como o centro de reação), tornando-se essenciais a baixas concentrações; já os macronutrientes (Tabela 2.5) são constituintes naturais de proteínas – e, assim de todas as enzimas, de ácidos nucléicos, e de outras macromoléculas – ou atuam como agentes osmóticos, sendo necessários em maiores quantidades. Os elementos minerais tais como N, K, Ca, Mg, P e S aparecem em maiores concentrações e podem atingir até 5% do peso

seco; enquanto que, os micronutrientes são encontrados em quantidade reduzidas dentro do corpo do vegetal (menos de 0,01%) (EPSTEIN, 1975).

Tabela 2.5 - Principais macronutrientes em plantas

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

Fonte: EPSTEIN (1975).

Tabela 2.6 - Principais micronutrientes em plantas

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

Fonte: EPSTEIN (1975).

2.5.3 Fatores que influenciam no crescimento vegetal

Os vegetais evolutivamente menos desenvolvidos (algas, fungos, musgos) crescem mediante mitoses não localizadas. Nas plantas superiores (vasculares), o crescimento ocorre a partir de tecidos jovens em que as unidades celulares ainda não se diferenciaram e denominam-se meristemas. O processo é determinado por fatores externos, como o clima ou a disponibilidade de nutrientes, e por fatores endógenos, como a produção de hormônios vegetais (por exemplo, auxina ou ácido giberélico) (VÁLIO, 1979).

Segundo Esau (1974), em todas as plantas se registra um crescimento primário longitudinal em que intervêm os meristemas situados nas extremidades de raízes e brotos. À medida que se forma um novo tecido, por divisão das células meristemáticas, as partes mais afastadas dessa zona terminal se diferenciam em tecidos especializados como o lenho ou xilema, que transporta água das raízes para as folhas, e o líber ou floema, que carrega alimentos no sentido inverso.

Em determinados vegetais, produz-se ainda um crescimento secundário em espessura, em que se geram células no sentido lateral a partir de um meristema de segunda ordem denominado câmbio, do qual existem dois tipos: o vascular e o suberígeno. O câmbio vascular, situado entre o xilema e o floema primários, produz por sua vez xilema secundário, para dentro, e floema secundário, para fora, constituído de caules e raízes (VÁLIO, 1979).

A taxa de crescimento, produção de biomassa e a composição dos tecidos das macrófitas aquáticas dependem de vários fatores. Entre estes estão a quantidade de luz que atinge a superfície das plantas, a disponibilidade de nutrientes na coluna d'água e no sedimento, as concentrações de CO₂ e O₂, o pH, a temperatura, o tipo de substrato e a velocidade de corrente, entre outros.

O crescimento do vegetal pode ser influenciado tanto por fatores do meio, como por substâncias reguladoras de crescimento denominadas hormônios vegetais (fitoreguladores).

2.5.3.1 Fatores internos – Fitormônios

Segundo Salisbury & Ross (1969), os principais fatores internos que regulam o crescimento e o desenvolvimento das plantas são de natureza química. Os hormônios vegetais, ou fitormônios, são substâncias orgânicas que desempenham a principal função no regulamento do crescimento. Alguns hormônios são produzidos em um tecido e transportados para outro tecido, onde produzem respostas fisiológicas específicas. Outros hormônios agem dentro do mesmo tecido onde são produzidos. Em ambos os casos, esses sinais químicos carregam informações sobre o desenvolvimento ou estado fisiológico das células, dos tecidos e, em alguns casos, de sistemas de órgãos extensamente separados.

Para Válio (1979) as auxinas são os fitormônios mais importantes das plantas. Dentre as auxinas a mais comum é o ácido indolilacético, que atua facilitando a distensão das paredes celulósicas das células vegetais. Este fitormônio é sempre sintetizado nos ápices das plantas (pontas da raiz e caule). Tem um movimento polar, ou seja, flui sempre numa direção, a ápice-base. As principais ações desse fitormônio são:

- Crescimento: As auxinas têm uma relação direta com crescimento e conseqüentemente curvatura de plantas. Concentrações acima de determinado ponto inibem totalmente o crescimento. Em geral as raízes são muito mais sensíveis à ação das auxinas, dessa forma a concentração ótima para a raiz, não é suficiente para o crescimento do caule. Por analogia, concentrações ótimas para o caule inibem fortemente o crescimento de raízes.
- Abscisão foliar: Dependendo da relação existente entre os teores de auxina nas folhas e no caule, o hormônio pode causar a abscisão foliar (queda das folhas).
- Dominância apical: em geral, a auxina elaborada pelas gemas apicais, inibe o desenvolvimento de gemas laterais do caule. Esse comportamento é conhecido como dominância apical.
- Tropismos: São movimentos orientados, induzidos por algum fator ambiental. Se esse fator for a luz, temos um fototropismo; se for a força

gravitacional, fala-se em geotropismo que manifestam-se por curvaturas de caule e raízes.

As giberelinas foram descobertas na década de 20, por pesquisadores japoneses. Hoje, conhece-se mais de 20 tipos de giberelina e sabe-se que elas são produzidas tanto por fungos quanto por vegetais.

São produzidas no embrião das sementes, meristema apical do caule e em folhas jovens. E em maior parte em sementes imaturas e frutos. A giberelina promove o alongamento e distensão celular. São muito conhecidas por estimular e promover o crescimento de plantas geneticamente anãs. Servem para induzir a floração, e promovem a quebra da dormência de sementes, possibilitando a germinação. Atuam também em conjunto à auxina, gerando um maior crescimento do caule de certas plantas (ESAU, 1974).

As citocininas pertencem ao grupo de substâncias reguladoras do crescimento e desenvolvimento vegetal, descoberto mais recentemente. Em 1955, Carlos Miller conseguiu isolar a substância ativa, e chamou-a de cinetina. Vários compostos sintéticos foram sendo produzidos e o grupo formado por eles chamado de citocininas. São predominantemente encontradas em sementes em germinação e frutos jovens. Estimula a divisão celular; retarda a senescência foliar; libera a dominância apical nas gemas; auxilia no desenvolvimento de frutos e na germinação de sementes.

Outros fitormônios como o etileno e o ácido absísico atuam de modo conjunto com as auxinas, complementando a ação das mesmas.

2.5.3.2 Fatores externos

São os fatores associados as condições do meio no qual os indivíduos se encontram. Em síntese os fatores abióticos envolvidos são a radiação solar, a umidade, o pH e a temperatura.

2.5.3.2.1 Radiação solar

O efeito de radiação é o determinante básico do crescimento das plantas através dos seus efeitos sobre a fotossíntese e outros processos fisiológicos, como a transpiração e a absorção de água e de nutrientes. No entanto, a capacidade fotossintética das plantas pode ser severamente reduzida quando exposta a altos níveis de radiação que excedem os requeridos para saturar a fotossíntese (KYLE & OHAD, 1987), fenômeno este denominado fotoinibição.

Num determinado instante, os elementos fotossintéticos da comunidade de plantas compreendem uma série de estruturas de diferentes idades que estão sujeitas não somente aos efeitos do clima, mas também a outras restrições do ambiente, como o sombreamento (LEMAIRE, 1997).

Segundo Clark (1981), estudos pioneiros já demonstraram que a luz não exerce papel direto na composição mineral das plantas, contudo exerce pronunciado efeito sobre os diversos processos biológicos, como a fotossíntese, transpiração, respiração, síntese de clorofila, síntese da rubisco, síntese de cloroplastos, fotomorfogênese, dentre outros, que, em conjunto, podem afetar acentuadamente a composição mineral das plantas. Provavelmente, a função mais importante da luz, em relação aos nutrientes minerais, seja o fornecimento de energia para os processos envolvidos com sua absorção e metabolização (SMITH, 1968; RAVEN, 2001).

2.5.3.2.2 Temperatura

Os fatores de ambiente atuam promovendo a deposição ou o esgotamento das reservas da planta. Fatores que estimulam o crescimento das plantas, geralmente levam ao esgotamento das reservas e à deposição de tecidos estruturais. A resposta é diferenciada dependendo da espécie.

Assim, a temperatura constitui-se como um importante fator abiótico determinante da distribuição, da adaptabilidade e do crescimento das plantas. A adaptabilidade das plantas a altas temperaturas pode ser medida em função de

capacidade destas em manter a fotossíntese líquida sob temperaturas supra-ótimas, ou acima do ótimo requerido (LARCHER, 1975).

A temperatura determina a atividade específica de meristema por meio de seu efeito coordenado tanto na divisão celular como nas taxas de expansão de células (GATES, 1968).

As vias metabólicas são catalisadas por enzimas, que tem sua ação afetada pela temperatura. Com isso, taxas de crescimento e acúmulo de matéria seca, além de diversos outros processos, irão variar com a temperatura.

O crescimento é, em geral, mais sensível às temperaturas baixas do que a fotossíntese, o que pode permitir o acúmulo de fotoassimilados em órgãos de reserva quando o crescimento é reduzido, até uma temperatura crítica, abaixo da qual a fotossíntese é altamente afetada.

Toda a planta tem uma temperatura mínima, abaixo da qual não sobrevive; uma temperatura ótima, onde se crescimento é maior, e uma temperatura máxima, que lhe causa a morte.

2.5.3.2.3 Umidade

Dos muitos tipos de moléculas que circulam e estão contidas dentro da célula, a mais comum é a água. Esta move-se de uma região onde o maior potencial hídrico é maior para uma região onde o potencial hídrico é menor.

Uma grande quantidade de água passa pela planta durante a estação de crescimento e somente uma fração muito pequena é usada no processo metabólico. A água é perdida para a atmosfera, pela transpiração, através dos estômatos (SMITH, 1975).

Segundo Kaiser (1987), o estresse hídrico causa severa inibição da fotossíntese, tanto como consequência do fechamento dos estômatos, como em razão de efeitos deletérios diretos, em nível de cloroplastos.

2.5.3.2.4 pH

O efeito do pH sobre a absorção de íons, principalmente dos cátions, dá-se pela sua influência no funcionamento das bombas de prótons existentes na membrana plasmática (FURLANI, 2001). Estas bombas desempenham um papel decisivo para a absorção de nutrientes, pois são responsáveis pelo influxo de íons para dentro das células vegetais.

Também há influência do pH no desenvolvimento de microorganismos como fungos e bactérias, (TAIZ & ZIEGER, 1998), influenciando assim a população de microorganismos benéficos, importantes para a otimização da absorção de nutrientes.

Outro ponto importante da influência do pH sobre a absorção de nutrientes diz respeito à solubilidade. Alguns micronutrientes apresentam alta solubilidade em faixas de baixo pH, podendo causar fitotoxidez às plantas.

2.5.4 Mecanismos de remoção de íons metálicos em plantas

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

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

Segundo Larcher (2000), a absorção de elementos metálicos pelas células, particularmente pelas raízes, é facilitada por mecanismos próprios de transporte e acumulação, pois vários metais pesados são realmente necessários às plantas

como micronutrientes, no entanto, a planta não pode evitar a entrada de elementos tóxicos pelos mesmos mecanismos.

As angiospermas submersas, as macroalgas e as macrófitas podem ativar o transporte de sódio, potássio e íons clorídricos para dentro de canais associados com plasma lemas invaginados contendo várias mitocôndrias. Eles também podem ativar a exclusão de sais com mecanismos de transporte de íons que requerem ATP (molécula de trifosfato de adenosina). Essa permuta de íons permite manter estáveis os potenciais de membrana (ESTEVES, 1998; MURPHY et al., 1962). Todos esses mecanismos e adaptações facilitam a captura de metais pesados pelas macrófitas.

A absorção de metais na superfície externa das macrófitas envolve a formação de complexos que pode ser acompanhada por uma troca de íons presentes nos sítios de ligação da parede da célula por íons metálicos. Pode haver também a adsorção física através de interações íon-dipolo ou de ligações por pontes de hidrogênio.

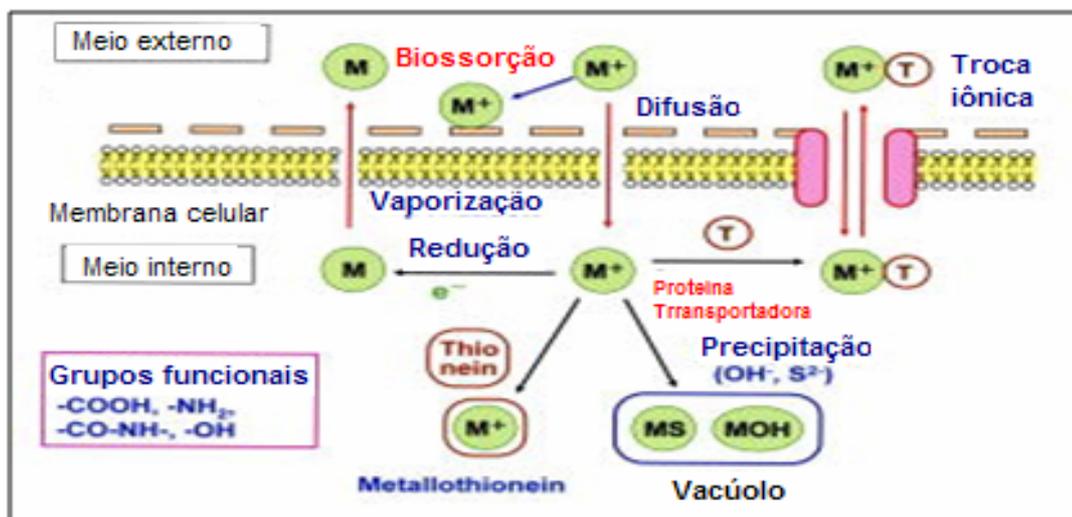
O grupo carboxila (COOH), abundante em carboidratos, proteínas e lipídios das estruturas celulares, foi o primeiro a ser proposto como sítio de troca iônica. É interessante observar que é justamente o grupo carboxila, o responsável pelo fenômeno de troca iônica, em resinas catiônicas fracas. Sendo que no caso das resinas sintéticas o grupo está ligado a uma estrutura polimérica inerte e, portanto sua disponibilidade para trocas iônicas é maior.

Atualmente são aceitos como sítios de adsorção de íons metálicos em biomassa os grupos: carboxila, fosfato, amina, sulfidril, tioéter, carbonila, imidazol, fenol, e hidroxila (GARDEA-TORRESDEY et al., 1990).

Naturalmente, grupos funcionais tão diversos, manifestam mecanismos de adsorção metálica diversos. Assim, alguns dos grupos propostos seriam responsáveis por ligações de caráter iônico, por exemplo, carboxilas e fosfatos. Enquanto outros grupos seriam responsáveis por ligações de caráter covalente, por exemplo, sulfidrilas e aminas.

Os metais podem penetrar nas células por diferentes sistemas de transporte existentes nas membranas, como difusão e osmose (HAIDER et al., 1983) e se distribuir entre os vários compartimentos intracelulares, em geral no vacúolo central (CLEMENS, 2001).

O mecanismo de passagem dos metais através da membrana plasmática das células das plantas se dá através da formação de complexos entre íons metálicos com os ligantes biológicos (fitoquelatinas e ácidos orgânicos) presentes nos organismos que conseguem capturar e acumular metais essenciais ou tóxicos, como pode ser observado na Figura 2.5.



Fonte: Disponível *on line* em <<http://www.miyazaki-med.ac.jp/MMCCHEM/ResourceRecycle.html>> acesso em 05/06/07 10h20min

Figura 2.5 - Mecanismos de bioabsorção e bioacumulação de espécies metálicas nas células

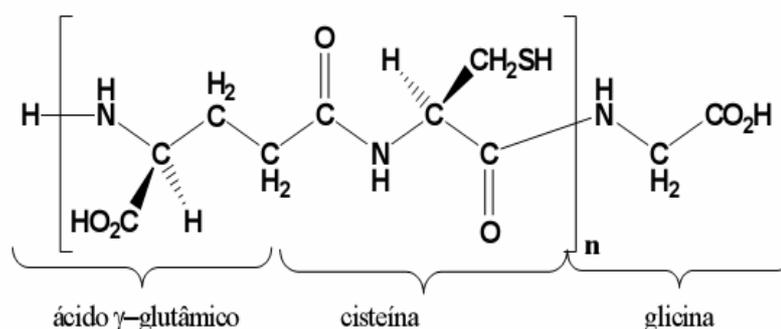
As proteínas são as responsáveis pelas ligações de vários metais em plantas, segundo estudos realizados por Reddy & Prasad (1990). Essas proteínas têm sido isoladas e caracterizadas em vários organismos, sendo encontrado três principais aminoácidos - ácido glutâmico, cisteína, e glicina, que formam peptídeos com estrutura geral $(\gamma\text{-glutamil-cisteinil})_n\text{-glicina}$, conforme Figura 2.6, onde $n = 2-11$.

A cisteína é um aminoácido que possui grupos sulfidril (SH) que têm alta afinidade pelos metais, conferindo as fitoquelatinas a capacidade de ligação com os íons metálicos, formando complexos e assim, destoxificando as células pela diminuição dos íons livres no citoplasma (GRILL et al., 1985; HAIDER et al., 1983; SOLTAN; RASHED, 2003 e MAITANI et al., 1996).

Esses γ -glutamil peptídeos já foram identificados em algas, fungos e plantas, e são chamados de fitoquelatinas, que são compostos orgânicos de alto peso

molecular, cuja produção é induzida pelo excesso de metais pesados, segundo WEIS & WEIS (2004).

As plantas produzem ácidos orgânicos como ácido málico e ácido cítrico e outros ácidos de baixo peso molecular (CLEMENS, 2001) que também são quelantes de íons metálicos, pois formam complexos com os mesmos, e estes, são compartimentalizados no vacúolo das células (TAIZ, 1998).



Fonte: Adaptado de VALITUTTO, 2005

Figura 2.6 - Estrutura da fitoquelatina

Ainda com relação à natureza das ligações existentes no processo de remoção de metais por biomassa, é reconhecido que o grau de covalência em interações entre metal e parede celular, é muito maior em células vivas que em células mortas, e é provável que aqui, ligações covalentes a células intactas sejam conseqüência da complexação metálica com aminas e sulfídricas, ligantes adicionais, que são ativos nas superfícies celulares de microrganismos vivos (AVERY & TOBIN, 1993).

2.6 FITORREMEDIÇÃO

A fitorremediação, que pode ser definida como a seleção e utilização de espécies de plantas para assimilar, transformar e também decompor certos contaminantes, é um processo natural que oferece a possibilidade de uma ação eficaz na remediação de solos, sedimentos e sistemas aquíferos contaminados. É

uma técnica de descontaminação que utiliza as plantas para remover poluentes do ambiente ou transformá-los em formas menos nocivas para os seres vivos, sendo que o impacto ambiental e os custos de implementação são muito inferiores àqueles alcançados pelos métodos físico-químicos (SALT et al., 1998).

Quando comparada com técnicas tradicionais como bombeamento e tratamento, ou remoção física da camada contaminada, a fitorremediação tem sido considerada vantajosa, principalmente por sua eficiência na descontaminação e pelo baixo custo (PERKOVICH, 1996; CUNNINGHAM et al., 1996).

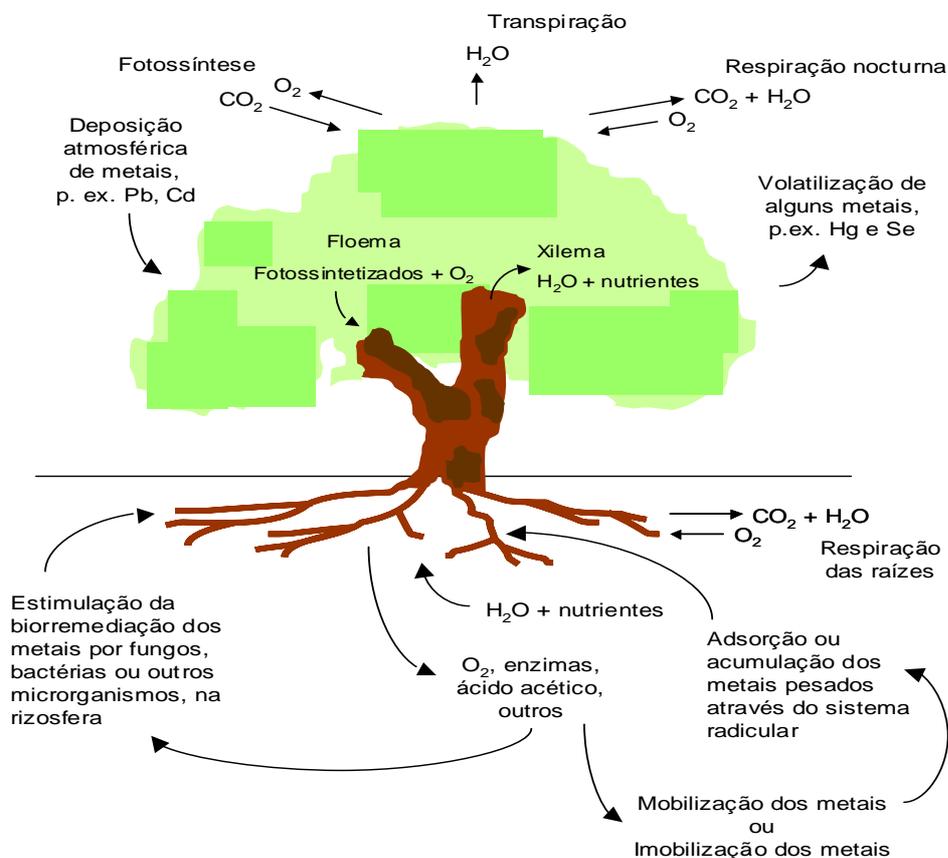
O princípio da técnica da fitorremediação se baseia nos mecanismos de tolerância à acumulação de metais existentes nas plantas, de forma a manter as funções celulares mesmo na presença de grandes quantidades de metais. Estes mecanismos incluem a compartimentalização dos metais em estruturas sub-celulares; exclusão ou diminuição do transporte através da membrana; e a formação de peptídeos quelantes, ricos em cisteínas, como as fitoquelatinas e as metalotioneínas, que auxiliam direta ou indiretamente, a acumulação de metais pelas plantas, (COBBETT & GOLDSBROUGH, 2002).

Uma cultura para ser utilizada com sucesso na recuperação de áreas contaminadas, deve ser eficiente na acumulação de metais, produzir grandes quantidades de biomassa e ser capaz de se adaptar às condições do ambiente impactado (ANDERSON & WALTON, 1993).

Lima & Viegas (2002) citam que as plantas utilizam alguns mecanismos para remediar solos contaminados, conforme a Figura 2.7, dentre os quais destacam-se a fitoextração, absorção e acumulação dos metais pesados nos tecidos das plantas; fitoadsorção, adsorção dos metais no sistema radicular, imobilizando os contaminantes; fitoestabilização, liberação para o solo de oxigênio e outros compostos, que podem imobilizar os metais pesados e rizorremediação, estimulação da biorremediação por fungos ou outros microrganismos localizados no sistema solo-raiz.

Segundo Providenti (1993), antes da implantação das diversas técnicas de fitorremediação, com o objetivo de remediar água e solos contaminados, é fundamental que se conheça as características físico-químicas do solo, dos contaminantes, bem como sua distribuição na área impactada.

Para que se tenha alta eficiência no processo é preciso identificar possíveis fatores que possam intervir negativamente no processo de remediação, a fim de que esses sejam controlados e minimizados.



Fonte: OLIVEIRA et al., 2006

Figura 2.7 - Mecanismo de fitorremediação de solos metálicos pesados

Os vegetais que serão empregados na fitorremediação devem apresentar características específicas, conforme a Tabela 2.7.

Tabela 2.7 - Pré-requisitos para a aplicação da fitorremediação

Alta taxa de crescimento e produção de biomassa	Fácil aquisição ou propagação de propágulos.
Capacidade de adsorção, concentração e/ou metabolização e tolerância ao contaminante.	Capacidade de desenvolver em sistemas diferenciados.
Retenção do contaminante nas raízes.	Ocorrência natural em áreas poluídas.
Sistema radicular profundo.	Fácil controle ou erradicação.
Elevada taxa de exsudação radicular.	Resistência a pragas e doenças.

Adaptado de PIRES et al. (2003).

2.6.1 Técnicas de fitorremediação

2.6.1.1 Fitoextração

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, 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).

2.6.1.2 Fitoestimulação

A fitoestimulação é o estímulo à atividade microbiana, promovido pela liberação de *exsudatos* radiculares, tais como aminoácidos e polissacarídeos que atuam na degradação de compostos no solo. Além disso, as plantas podem secretar elas próprias enzimas biodegradativas. A aplicação da fitoestimulação limita-se aos contaminantes orgânicos (BROOKS, 1998).

2.6.1.3 Fitotransformação

A fitotransformação se dá pela absorção com a subsequente volatilização, ou degradação parcial ou completa, com transformação em compostos menos tóxicos, combinados e/ou ligados aos tecidos da planta.

Alguns íons de elementos dos subgrupos II, V e VI da Tabela Periódica, mais especificamente, mercúrio, selênio e arsênio, são absorvidos pelas raízes,

convertidos em formas não tóxicas e depois liberados na atmosfera. Este mecanismo é empregado também para compostos orgânicos (BROOKS, 1998).

2.6.1.4 Fitoestabilização

A fitoestabilização se refere à manutenção de solos e sedimentos contaminados através da utilização de sistemas vegetais, através da imobilização de contaminantes no solo. Os contaminantes orgânicos ou inorgânicos são incorporados à lignina da parede vegetal ou ao húmus do solo precipitando os metais sob formas insolúveis, sendo posteriormente aprisionados na matriz. Objetiva evitar a mobilização do contaminante e limitar sua difusão no solo, através de uma cobertura vegetal (CUNNINGHAM, 1996).

2.6.1.5 Rizofiltração

A rizofiltração é uma técnica que utiliza sistemas vegetais com o objetivo de promover a remoção dos contaminantes de um meio aquoso. Nesse processo, é utilizado um sistema hidropônico, no qual as raízes dos vegetais permanecem em contato com o efluente através das quais os contaminantes são absorvidos e concentrados (GLASS, 1998).

A intensa absorção de nutrientes, o rápido crescimento, as facilidades de retirada das lagoas e as possibilidades de aproveitamento da biomassa escolhida, justificam a utilização de plantas aquáticas em sistemas de hidroponia, plantas aquáticas, hidrófitas, como as macrófitas providas de rizomas, têm sido utilizadas visando a melhoria da qualidade de efluentes e no tratamento de águas residuais (GRANATO, 1995).

2.7 BIOSORÇÃO E BIOACUMULAÇÃO

Os estudos envolvendo biomassas para a remoção de metais pesados de soluções aquosas tiveram seu início na década de 80. As primeiras pesquisas apresentaram uma grande variedade de materiais biológicos que poderiam ser utilizados para a remoção de metais pesados, baseados na capacidade de captação das biomassas ou seus derivados a um baixo custo e até mesmo em baixas concentrações (VIEIRA & VOLESKY, 2000).

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

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

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.

Para Vidotti & Rollemberg (2004) bioacumulação é o nome genérico do processo de captação e retenção de uma substância (contaminante) por um organismo a partir de qualquer fonte (água, sedimento, outro organismo), via qualquer rota (dieta, pele), e se constitui em efeito nocivo quando induz resposta biológica adversa. O termo bioacumulação tem sido aplicado quando envolve organismos vivos, e biossorção é o termo mais adotado para o uso de organismos mortos.

O processo de bioacumulação varia grandemente entre os diferentes organismos, e é particularmente importante nos níveis tróficos inferiores; devido a processos metabólicos e à alimentação, resulta em enormes fatores de concentração. Os invertebrados têm uma capacidade particularmente alta de

concentrar metais e outros materiais encontrados no seu ambiente ao filtrarem o plâncton, durante a alimentação (BAIRD, 1999).

Assim, a bioacumulação está ligada ao sistema de defesa do microrganismo, que reage na presença da espécie metálica tóxica. A interação entre o metal e o microrganismo se dá através do metabolismo deste.

Por sua vez, na bioissorção, 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 & VOLESKY, 1988). Para Cotoras (1995) o processo baseia-se em diferentes mecanismos que não são afetados pelo metabolismo da biomassa. É um processo relativamente rápido, podendo ser reversível, e por isso mostra-se adequado para a remoção de íons metálicos.

Volesky (2001) cita que o desenvolvimento da bioissorção de metais foi devido ao reconhecimento do fato de que a concentração de um determinado metal por um bioissorvente baseia-se em suas propriedades químicas mais do que na sua atividade biológica.

Assim, a bioissorção compreende a ligação de metais à biomassa por um processo que não envolva energia metabólica ou transporte, embora tais processos possam ocorrer simultaneamente quando biomassa viva for usada, pois a bioissorção pode ocorrer com biomassa viva ou morta (TOBIN et al., 1994).

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

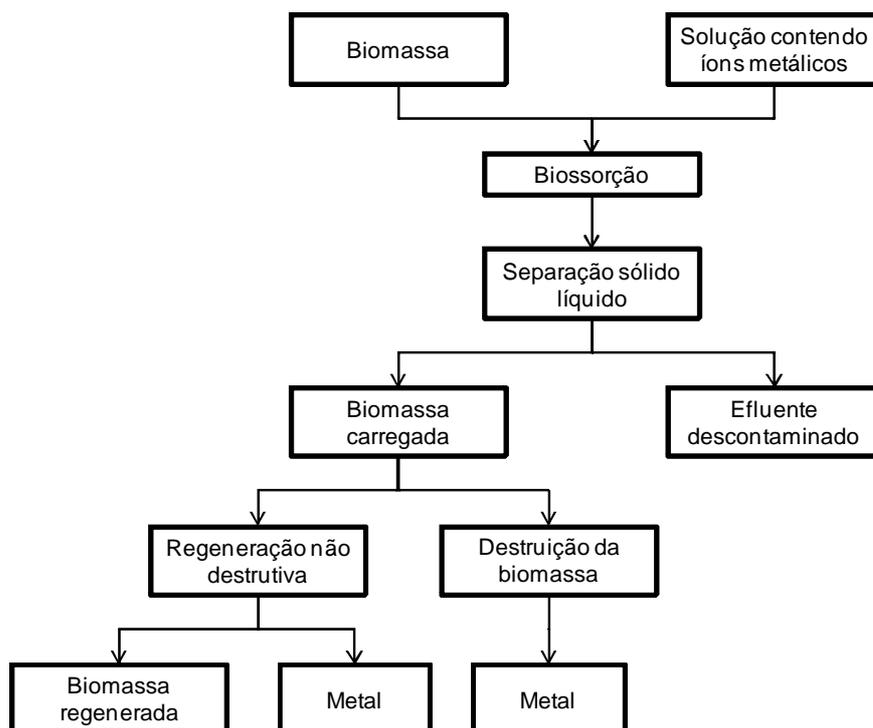
Churchill et al. (1995) ressalta que a bioacumulação de metais em organismos vivos não é fácil por causa do efeito tóxico, que geralmente inibe o crescimento dos indivíduos. A separação dos estágios de propagação da biomassa e bioissorção do metal geralmente são adotadas como solução para este problema, o que tem tornado mais comum o desenvolvimento de materiais bioissorventes inativos. Além do efeito do próprio metal poluente, as condições ótimas requeridas para a captação de metais, principalmente no que se refere a pH, podem ser muito hostis a células ativas.

Volesky (2004) indica que a captura dos íons das espécies metálicas pode acontecer por diferentes mecanismos, tais como: Complexação, Coordenação, Quelação de metais, Troca iônica, Adsorção, Microprecipitação inorgânica.

Conforme Volesky (2001) qualquer um destes mecanismos ou mesmo uma combinação destes pode estar ocorrendo, captando uma ou várias espécies metálicas na biomassa. Os íons são atraídos pelos sítios ativos na superfície da partícula, onde existem diferentes grupos funcionais responsáveis pela união destes e a superfície da partícula, tais como fosfato, carboxila, sulfeto, hidroxila e amina.

O processo de bioadsorção de metais pesados é afetado por diferentes fatores operacionais como: pH, força iônica, concentração da biomassa, temperatura, tamanho de partícula, presença de outros íons na solução, etc. (ESPÓSITO *et al.*, 2001).

A aplicação da tecnologia da bioadsorção envolve várias etapas e está representada na Figura 2.8.



FONTE: Adaptado de LUZ (2002, p. 658).

Figura 2.8 – Diagrama esquemático de um processo de bioadsorção

Quanto aos bioadsorventes com capacidade de remoção de metais, Feng & Aldrich (2000) destacam: Partes ou tecidos específicos de vegetais: Cascas, bagaço

ou sementes; Microrganismos: bactérias, microalgas e fungos; Vegetais macroscópicos tais como as algas, gramíneas e plantas aquáticas.

Na Tabela 2.8 são apresentadas algumas das vantagens e desvantagens na utilização de bioissorventes inativos e ativos

Tabela 2.8 – Vantagens e desvantagens da utilização de bioissorventes

Biomassa inativa	Biomassa ativa
Vantagens	
Independente do crescimento, não sujeita a limitações de toxicidade, não precisa de nutrientes na alimentação.	Embora uma célula possa se saturar, o sistema pode se auto-restabelecer devido a produção de novas células em condições de crescimento.
Os processos não estão governados por limitações biológicas.	Os metais são transformados biologicamente para um estado químico de menor toxicidade, e é menos sensível à dessorção.
São rápidas e eficientes na remoção de metais pesados.	Pode-se melhorar as cepas por meio de manipulação genética.
Os metais podem ser liberados facilmente e logo recuperados.	Pode-se utilizar dois ou mais organismos, degradação de compostos organometálicos.
Resíduos de processos industriais para serem utilizados como bioissorventes (baixo custo).	
Desvantagens	
Rápida saturação dos sítios ativos.	Deve se trabalhar a concentrações baixas, dos íons metálicos, devido à toxicidade.
A adsorção é sensível ao pH.	Precisa de nutrientes para as necessidades metabólicas.
O estado de valência do metal não pode ser alterado biologicamente.	Os produtos metabólicos podem formar complexos com os metais impedindo a precipitação.
As espécies organometálicas não são biodegradáveis.	A recuperação dos metais por dessorção é limitada.
	A modelagem de um sistema apresenta grandes dificuldades matemáticas.

Fonte: Adaptado de CAZIÑARES (2000) e MESQUITA (1995).

Assim, quanto a prática econômica, a bioissorção é uma técnica de baixo custo já que a sua matéria-prima pode ser encontrada em abundância em todo o planeta. As fontes desses materiais podem ser provenientes de rejeitos da agricultura e de processos de fermentação de larga escala ou simplesmente estar disponíveis na natureza (ECKENFELDER, 1989; EPA, 1997; LUZ et al., 2002; BOULDING, 2004).

2.7.1 Mecanismos de bioacumulação e bioissorção

Segundo Veglio & Beolchini (1997) devido à complexidade da estrutura dos organismos, os processos de bioissorção/acumulação implicam na existência de muitos caminhos para as células capturarem o metal. Quando há dependência do metabolismo celular a captação envolve o transporte ativo de metais através do envoltório celular para o interior da célula. Do contrário, os metais são capturados na superfície da célula.

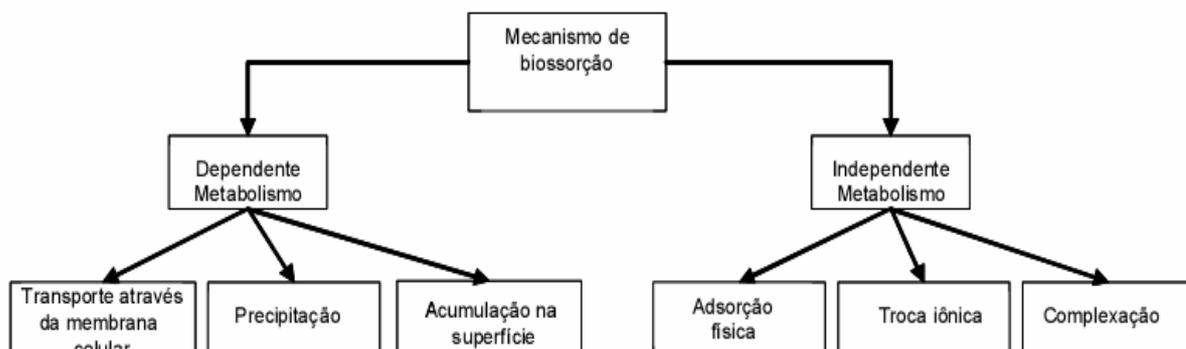
De acordo com o sítio onde o metal é removido, o processo pode diferenciar-se como um mecanismo de acumulação extracelular por sorção na superfície da célula acompanhada de precipitação e a acumulação intracelular, sendo esta, dependente do metabolismo celular e toma lugar nas células viáveis; normalmente isto se associa com o sistema de defesa de microrganismos os quais reagem na presença de metais tóxicos. Neste caso, a bioissorção não é imediata, é um processo lento (VEGLIO & BEOLCHINI 1997).

No caso onde ocorrem interações entre o metal e os grupos funcionais presentes na superfície celular, baseada na adsorção química, troca iônica e complexação, tem-se uma sorção na superfície da célula onde às vezes não depende do metabolismo (VEGLIO & BEOLCHINI, 1997).

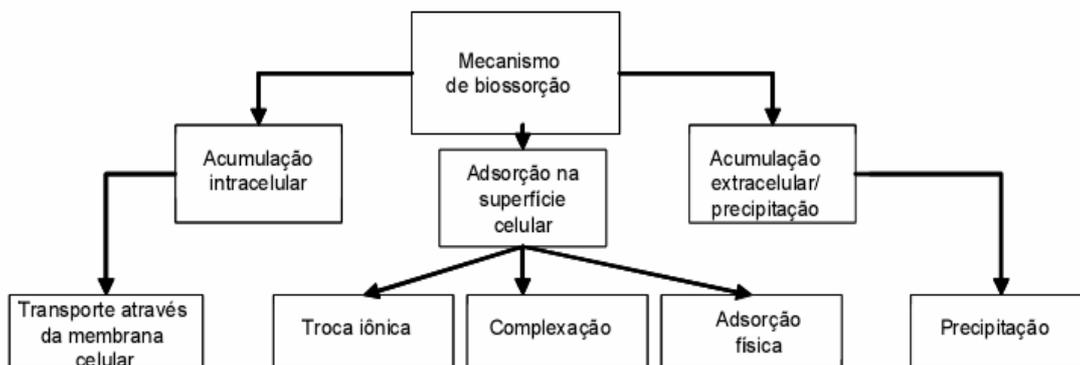
A parede celular da biomassa é composta principalmente por polissacarídeos, proteínas e lipídeos que oferecem abundantes grupos funcionais para se ligarem com os íons metálicos tais como grupos carboxilas, fosfatos, hidroxilas, sulfatos e grupos amino. O fenômeno físico-químico na bioissorção metálica é um mecanismo

não dependente do metabolismo celular, é relativamente rápido e pode ser reversível permitindo a dessorção e reuso da biomassa.

Na Figura 2.9 pode-se observar um esquema da classificação dos mecanismos de remoção.



(a) Classificação de acordo com a dependência do metabolismo celular.



(b) classificação de acordo com o sítio onde o metal é removido.

Fonte: VEGLIO & BEOLCHINI, 1997

Figura 2.9 – Mecanismos de Bioissorção e Bioacumulação

2.7.1.1 Transporte através da membrana celular

Como se mencionou anteriormente, este é um fenômeno associado com o metabolismo celular. A toxicidade dos metais não permite trabalhar com altas concentrações, por isso o processo é dificilmente estudado e empregado.

O mecanismo exato é difícil de ser identificado, pois o metal é transportado através da membrana celular e pode sofrer o mesmo processo que os metais essenciais tais como o potássio, magnésio e sódio.

2.7.1.2 Adsorção

Dentre os mecanismos anteriormente mencionados, o mais comum para a explicação do fenômeno de bioadsorção é a adsorção. A adsorção é um processo no qual substâncias solúveis presentes em solução são captadas em uma interface apropriada, ou seja, há uma transferência seletiva de um ou mais solutos de uma fase fluida para uma fase sólida. Em geral, a adsorção inclui a acumulação de moléculas de soluto em uma interface, neste caso, líquido-sólido (TOBIN, WHITE & GADD, 1994).

Se a adsorção ocorre, implica que os sítios ativos devem estar livres para aceitar íons metálicos. Basicamente, dois tipos de interações podem existir entre o bioadsorvente e os íons metálicos; interações do tipo covalente e do tipo iônico.

2.7.1.3 Troca iônica

Em geral, a troca iônica ocorre em todas as dimensões da biomassa. Os compostos com cargas positivas, cátions, ou negativas, ânions, presentes na fase fluida, deslocam íons não semelhantes com o mesmo tipo de carga que inicialmente se encontravam na fase sólida. O trocador iônico contém permanentemente pares iônicos (VOLESKY, 1990).

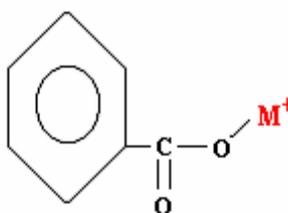
Na parede celular encontram-se polissacarídeos que são basicamente blocos que contêm os ânions e cátions responsáveis pela troca iônica. Neste mecanismo não é necessário que os sítios ativos para a bioadsorção estejam livres, pelo contrário, este é baseado na troca de íons com diferentes afinidades pelo bioadsorvente.

Existem íons de maior e menor afinidade que se encontram ligados ao bioadsorvente. Dependendo das condições do meio, o íon de maior afinidade é capaz de trocar de posição com o íon do sítio ativo, realizando-se assim a troca de íons. Igualmente na adsorção, podem apresentar-se dois tipos de interações, tanto covalentes como iônicas entre a biomassa e o metal.

2.7.1.4 Complexação e precipitação

A remoção do metal da solução pode tomar lugar através da formação de um complexo na superfície da célula depois da interação entre o metal e grupos ativos (VEGLIO, 1997).

Este mecanismo envolve a coordenação de um íon metálico com um grupo funcional da parede celular como, por exemplo, o ácido carboxílico. Este fenômeno pode trocar os estados de oxidação dos metais tanto para torná-los solúveis como insolúveis. Na Figura 2.10 se apresenta a complexação de um íon metálico mediante um ácido carboxílico



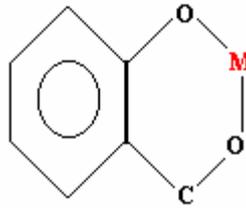
Fonte: MANAHAN, 1991

Figura 2.10 – Formação de um complexo entre um ácido carboxílico e um íon metálico

2.7.1.5 Quelação

É baseado na existência de um agente quelante, o qual é um composto que tem a facilidade de ter dois átomos diferentes coordenados com o íon metálico, facilitando a formação de um semi-anel que seqüestra o íon de interesse. Alguns exemplos de agentes quelantes são: citrato de sódio, politrifosfato de sódio, NTA e EDTA.

Na Figura 2.11, tem-se a formação de um anel entre um grupo carboxílico, uma hidroxila e um íon metálico.



Fonte: MANAHAN, 1991

FIGURA 2.11 - Formação de um quelato entre uma hidroxila, um grupo carboxílico e um íon metálico

2.7.2 Aplicação de algas e macrófitas na remoção metais

Maine et al. (2004) verificaram a capacidade de remoção de íons Cr^{+3} pelas macrófitas aquáticas *P. stratiotes* e *S. herzogiff* em meio a um cultivo composto por cerca de 100 g da planta, 5 L da água de um lago acrescidas com concentrações de 1, 2, 4 e 6 mg L^{-1} do íons Cr^{+3} durante 31 dias. Os resultados mostraram uma remoção de 1,55 mg g^{-1} e 0,123 mg g^{-1} em termos de biomassa seca na parte radicular e foliar respectivamente para a concentração inicial de 2 mg L^{-1} .

Skinner et al. (2007) avaliaram a capacidade de remoção de íons Hg^{+2} nas raízes de quatro espécies macrófitas, entre elas a *P. stratiotes*, cultivadas durante 30 dias em meio a concentrações de 0; 0,5 e 2 mg L^{-1} . Verificou-se o acúmulo de 83,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ de massa seco no cultivo contendo 2 mg L^{-1} de Hg^{+2} .

Miretzky et al. (2004) verificou a remoção de metais por três espécies de macrófitas flutuantes, entre elas a *Pistia stratiotes*, durante 15 dias em duas soluções com 1 mg L^{-1} e 2 mg L^{-1} de íons Pb^{+2} . Os resultados mostraram valores máximos acumulados na planta de 0,203 mg g^{-1} e 0,227 mg g^{-1} respectivamente.

Fritioff & Greger (2006) estudaram a aplicação de leitões cultivados compostos por *Potamogeton natans* para a acumulação de metais pesados, entre eles Pb^{+2} , presentes e efluentes. Após a análise da massa foliar e das raízes foi verificada a remoção máxima de 0,217 mg g^{-1} e 0,123 mg g^{-1} respectivamente.

Loukidou et al.(2004) estudou a remoção de Cr (VI) através da utilização de musgos, casca de milho e algas. A alga ativada *Sargassum* apresentou uma capacidade de remoção de 40 mg g^{-1} . Algumas biomassas, como o *Streptomyces noursei*, *Rhizopus arrhizus* e *Chlorella vulgaris* apresentam, respectivamente,

remoções de 10,6; 8,8 e 24,0 mg g⁻¹. Uma casca de árvore (*Pinus sylvestri*) foi estudada com um máximo de adsorção de 201,81 mg g⁻¹. Em todos os casos a remoção ótima do Cr (VI) foi realizada na faixa de pH entre 1 e 3.

Gomes (2000) verificou-se a capacidade de remoção de metais para uma série de biomassas inativas, incluindo algas verdes (*Codium taylori* e *Halimeda opuntia*), algas marrons (*Macrocystis pyrifera*, *Undaria sp.*, *Laminaria sp.*, *Ascophyllum nodosum*, *Sargassum fluitans* e *Sargassum natans*), algas vermelhas (*Chondrus crispus*, *Sargassum fluitans* e *Porphyra tenera*), fungos (*Aspergillus Rhizopus sp.*, *Endothia parasítica* e *Trichoderma reesi*) e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A biomassa ativa da levedura *cerevisiae* apresentou resultados inferiores aos da biomassa inativa para: urânio, zinco e cádmio. Todas as biomassas inativas com exceção da alga *Porphyra tenera* tiveram desempenho igual ou superior aos do carvão ativado e a resina de troca iônica avaliados para comparação.

Aldrich & Feng (2004) estudaram a adsorção do cobre, chumbo e cádmio utilizando a alga marinha *Ecklonia maxima* o que mostrou uma remoção de 85 a 94 mg Cu⁺², 227 a 243 mg Pb⁺² e 83,5 mg Cd⁺² por grama de biomassa. Neste estudo, submeteu-se a biomassa a um processo de ativação que ajuda a manter o alginato presente na biomassa. O mecanismo da biossorção observado foi a complexação do alginato com os íons dos metais pesados. A faixa de pH adequada foi de 5,8 a 8,5. O tamanho de partícula se mostrou um ponto importante, já que em partículas menores a adsorção acontece mais rapidamente. Segundo o autor estes valores são maiores ou iguais aos apresentados por resinas comerciais.

Schneider et al.,(1995), propuseram a utilização das partes secas de *E. crassipes* como sorventes de baixo custo para remoção de metal pesado proveniente da contaminação química de indústrias de mineração. A raiz, em particular, foi o compartimento que apresentou a maior taxa de acumulação de íons de metais pesados bivalentes, embora o conjunto da biomassa tenha também sido considerado como um bom sorvente para Zn, Cu, Cd e Pb.

A absorção de metais pesados através da utilização de plantas aquáticas submersas (*Typha latifolia*, *Scirpus sylvaticus* e *Equisetum fluvialite*), foi estudado por Hozhina et al. (1999). Foram analisados Cu, Pb, Cd, Zn, As e Sb e os resultados

demonstraram alta concentração de metal pesado no sedimento, água e planta, especialmente nas raízes. A concentração dos metais nas plantas excedeu em dez mil vezes seus teores na água, o que caracteriza as plantas estudadas como hiperacumuladoras.

A planta aquática *Lemna minor* foi estudada por Axtell et al., 2003, sendo avaliada, sob várias condições, a capacidade de remoção de Pb e Ni assim como o potencial de competição entre esses metais na absorção. A concentração inicial de Pb^{+2} foi 0,0; 5,0 e 10,0 mg L⁻¹ e a concentração de Ni foi 0,0; 2,5 e 5,0 mg L⁻¹ no experimento, sendo que o resultado demonstrou remoção de 76% para Pb^{+2} e 82% para Ni^{+2} . A remoção ocorreu muito rapidamente, nas primeiras 24h. A concentração usada nesse estudo não interfere na absorção de outros metais nessa planta. Segundo os autores, essa tecnologia (fitorremediação) é mais eficiente no tratamento de baixo volume de água poluída com baixa concentração de metais.

A capacidade de remoção de Cd^{+2} , por um grupo de macrófitas flutuantes, também foi estudada (MAINE et al., 2000). Apesar da alta eficiência apresentada por todas as espécies os melhores resultados foram obtidos com a *P. stratiotes*, que apresentou remoção de até 74% nas primeiras 24 horas, sendo observado que o aumento da concentração de Cd^{+2} no tecido da planta ocorreu especialmente pela raiz e foi relatada linearidade em função da quantidade de Cd^{+2} adicionado. Além disso, os autores observaram que o Cd^{+2} é translocado para a parte aérea da planta principalmente nas primeiras 24 horas.

Outro estudo com Cd^{+2} foi realizado por Oliveira et al. 2001, quanto à absorção, acúmulo e crescimento da *E. crassipes* e *S. auriculata*. A quantidade de Cd^{+2} foi maior na *E. crassipes* do que na *S. auriculata*, e ampliou-se com o tempo de exposição a este elemento. Quanto maior o tempo de exposição das plantas em níveis tóxicos de Cd^{+2} , maiores serão os danos sobre seus sistemas metabólicos, resultando assim em um rápido declínio na capacidade de absorção e acumulação desse elemento, e quase sempre resulta em forte interferência sobre o crescimento das plantas. A maior parte do Cd^{+2} ao se ligar às cargas negativas das paredes celulares do sistema radicular é complexado com fitoquelatinas (pequenos peptídeos ricos em cisteína) e armazenado nos vacúolos das células das raízes.

No trabalho de Soltan et al., 2003, foi estudado um grupo de plantas, entre as quais *E. crassipes*, observando-se a sua sobrevivência e comportamento em diversas concentrações de íons metálicos, tais como: Cd^{+2} , Co^{+2} , Cr^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2} , Ni^{+2} , Pb^{+2} e Zn^{+2} . Foram analisados também pH e condutividade antes, durante e ao término do experimento. Os resultados obtidos demonstraram que esta planta pode sobreviver em uma mistura de metais pesados em concentrações de até 3 mg L^{-1} , e em 100 mg L^{-1} de Pb^{+2} e 100 mg L^{-1} de Cd^{+2} .

Em 1975, a Agência Espacial Norte Americana (NASA), em suas pesquisas, emitiu um memorando técnico contendo informações referentes à utilização de *E. crassipes* na remoção de Pb^{+2} e Hg^{+2} de águas poluídas. Esse documento relatava a capacidade dessa planta em remover $0,176 \text{ mg}$ de Pb^{+2} e $0,150 \text{ mg}$ de Hg^{+2} por grama de planta seca por dia, concluindo que um acre da *E. crassipes* era potencialmente capaz de remover $105,6 \text{ gramas}$ de Pb^{+2} e 90 gramas de Hg^{+2} por dia (NASA, 1975 *apud in* VALITUTTO, 2004).

2.8 MODELAGEM DA CINÉTICA DE BIOACUMULAÇÃO E BIOSSORÇÃO

A cinética de bioissorção e/ou bioacumulação é fundamental para avaliar a eficiência da remoção ou efeitos tóxicos do metal nas macrófitas e também para o projeto de sistemas de tratamento de efluentes, desta forma pode-se determinar o tempo de residência do efluente no sistema de tratamento para que se atinja os níveis de concentração estabelecidos pela legislação.

As análises da cinética da bioissorção/bioacumulação são realizadas por meio de modelos matemáticos que relacionam a taxa de variação de captação de metal pela biomassa no tempo, uma vez que os dados cinéticos auxiliam na identificação do mecanismo da bioissorção.

Para avaliar os modelos cinéticos são necessários dados experimentais. Existem na literatura diversos modelos cinéticos para representar a cinética de adsorção e bioissorção utilizando biomassa morta, sendo que os modelos cinéticos

mais utilizados são o de pseudo-primeira ordem e o de pseudo-segunda ordem (HO, 2004).

Entretanto, deve-se destacar que são escassas as publicações da cinética de bioacumulação de metais por organismos vivos, pois neste caso, deve-se também levar em consideração a população dos indivíduos, bem como seu desenvolvimento no meio o que dificulta a modelagem matemática. Alguns autores, como Aldrich & Feng (2004), Oliveira et al. 2001, Fritioff & Greger (2006), Skinner et al. (2007), Miretzky et al. (2004) e Maine et al. (2004) têm empregado os modelos desenvolvidos para cinética de adsorção para representar a bioacumulação de metais por biomassa viva, neste caso, são desprezados o efeito da população de microrganismos na remoção dos metais pesados.

A quantificação dos parâmetros cinéticos é de grande importância para um processo industrial, pois neste caso permite a determinação da velocidade do processo de bioacumulação e a forma como as variáveis influenciam na sua eficiência. Com o aprofundamento deste conhecimento, amplia-se o estudo e torna-se possível a aplicação desta técnica para a despoluição de efluentes reais contaminados por metais pesados.

Os modelos cinéticos aplicados neste estudo foram o de Langmuir, todos estes modelos estão descritos na seção 4.5.

2.9 ESPECTROMETRIA ATÔMICA DE RAIOS X

Para Skoog *et al.* (2002, p. 252) a espectrometria atômica de raios X, da mesma forma que a espectrometria óptica, está baseada nas medidas de emissão, absorção, espalhamento, fluorescência e difração da radiação eletromagnética. Os métodos de fluorescência de raio X e de absorção de raios X são largamente usados para análises qualitativas e quantitativas de todos os elementos da tabela periódica com número atômico superior ao do sódio.

Os raios X constituem uma radiação eletromagnética de comprimento de onda curta produzida pela aceleração ou desaceleração de elétrons de alta energia ou pela transição de elétrons dos orbitais internos dos átomos. O intervalo de comprimento de onda dos raios X vai de cerca de 10^{-5} Å até 100 Å.

2.9.1 Raios X

Os raios X, descobertos por Röntgen em 1895, fazem parte do espectro eletromagnético e cobrem uma região que vai desde 0,1 até 100 keV quando sua origem for puramente atômica. Outras fontes de raios X, por exemplo, de origem cósmica, podem atingir faixas de energia bem maiores. As primeiras experiências e aplicações usando raios X surgiram nos inícios da mecânica quântica e da relatividade, auxiliando a corroborar os postulados das novas concepções da física.

Em 1895, Max Planck propôs o quanto de energia com o intuito de explicar o fenômeno da radiação de corpo negro. Em 1905, tal conceito foi logo aplicado por Einstein para explicar de uma maneira simples e elegante o efeito fotoelétrico, resgatando-se que a transferência de energia durante a interação da radiação com a matéria se dá por meio de pacotes de energia ou fótons. Ou seja, a radiação eletromagnética em certos casos se comporta com uma partícula e é chamado de fóton cuja energia é descrita pela Equação 2.2.

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

Equação 2.2 - Energia de um fóton

Sendo h a constante de Planck ($h = 4,1357 \times 10^{-18} \text{ keV} \cdot \text{s}$); c a velocidade da luz ($c = 0,29979 \times 10^{18} \text{ nm/s}$); e λ o comprimento de onda (em nm). A conversão de energia em comprimento de onda ou vice versa é logo feita pela Equação 2.3

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

Equação 2.3 – Conversão entre o comprimento de onda e a energia de um fóton.

Em 1924, De Broglie acrescentou a esta idéia o princípio da reciprocidade, postulando a dualidade onda-partícula que estabelece o caráter ondulatório também às partículas materiais (elétrons, prótons, etc.) através do relacionamento do momentum da partícula e o seu comprimento de onda associado segundo a Equação 2.4

$$p = \frac{h}{\lambda} = \frac{h\nu}{c}$$

Equação 2.4 – Equivalência entre o momento linear da partícula e comprimento de onda associado.

Em certas interações com a matéria, os raios X podem ser descritos como uma onda eletromagnética e em outros processos, tais como de colisão, eles se comportam como se fossem uma partícula transferindo energia com outras partículas, por exemplo, elétrons do átomo. Embora os raios X não possuam aparentemente massa, eles a tem na forma de energia pura, segundo a equivalência entre a massa e energia postulada de Einstein e descrita pela Equação 2.5

$$E = mc^2$$

Equação 2.5 - Equivalência massa - energia

Sendo m a massa em repouso da partícula e c a velocidade da luz.

Os raios X podem ser produzidos por vários tipos de fontes baseado na aceleração de cargas elétricas de forma tangencial, como no caso de Tubo de raios X, ou de forma centrípeta, no caso da radiação síncrotron; ou na excitação de átomos por feixes ionizantes tais como raios X, partículas carregadas (elétrons, prótons, alfas, etc.).

Por fim, para Silva (2002) a mais importante contribuição vem da pesquisa científica. Os raios X são empregados nas mais variadas linhas de pesquisa, sendo algumas delas:

- A difratometria de raios X, responsável pela análise da estrutura e constituição de muitas substâncias químicas complexas, possibilitando a identificação da composição mineralógica da amostra.
- A fluorescência de raios X, possibilitando a determinação da composição química de elementos presentes em amostras, permitindo uma análise qualitativa e principalmente quantitativa.

Por outro lado, a microscopia eletrônica de varredura, além da composição química do elemento na amostra, esta técnica possibilita uma micro-análise

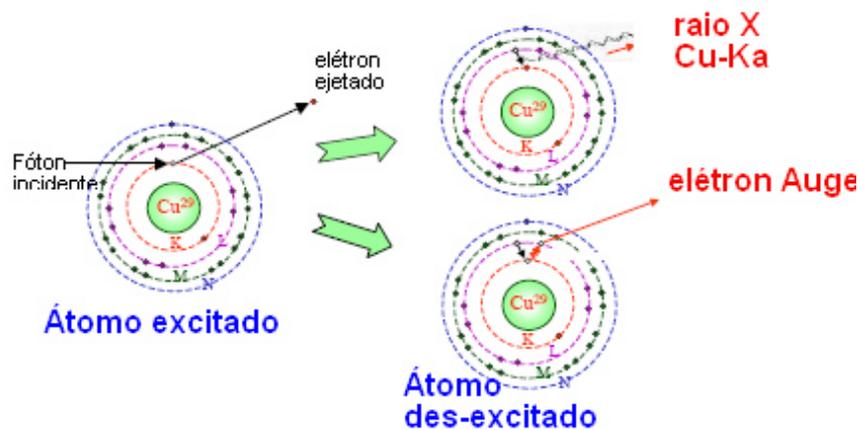
qualitativa e semiquantitativa, e uma análise morfológica de superfícies de materiais e particulados.

2.9.2 Fundamentos da Fluorescência de Raios X

A análise multi-elementar instrumental por fluorescência de raios X (XRF) é baseada na medida das intensidades dos raios X característicos emitidos pelos elementos químicos componentes da amostra, quando devidamente excitada. Até 1966 a XRF era realizada unicamente por espectrômetros por dispersão por comprimento de onda (WD-XRF, abreviação de *wave-length 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, 1981 *apud in* SILVA, 2002).

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 & KLOCKENKÄMPER, 1989). Os raios X emitidos por tubos de raios X, ou raios X ou gama por uma fonte radioativa, excitam os elementos que constituem, 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 elemento de uma amostra é excitado, conforme a Figura 2.12, 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 e bem definida para cada elemento.



Fonte: QUIÑONES (2007)

Figura 2.12 – Excitação e dêsexcitação atômica

Assim, de modo resumido, a análise por fluorescência de raios X consiste de três fases: excitação dos elementos que constituem a amostra, dispersão dos raios X característicos emitidos pela amostra e detecção desses raios X.

Para Costa, et al. 2003, Sansoni, 1992, o método analítico da fluorescência de raios X, dependendo da origem dos raios X ou do sistema de detecção, pode ser dividido em:

- Fluorescência de raios X por comprimento de onda (WD-XRF);
- Fluorescência de raios X por dispersão em energia (ED-XRF);
- Fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF);
- Emissão de raios X induzida por partícula (PIXE);
- Fluorescência de raios X induzida por Radiação Síncrotron (SR-XRF) e
- Fluorescência de raios X por emissão em baixo ângulo (GE-XRF).

2.9.3 Técnicas espectroscópicas de raios X

A determinação de elementos presentes em concentrações da ordem de parte por milhão ($\mu\text{g mL}^{-1}$ ou $\mu\text{g g}^{-1}$) ou mesmo inferior, os chamados elementos-traço, é importante em vários ramos da tecnologia, da medicina e da ciência em geral (DE PINHO et al. 1979).

Informações sobre a qualidade do meio ambiente dependem, muitas vezes, da identificação de elementos, no nível de ppm ($\mu\text{g g}^{-1}$) ou até ppb (ng g^{-1}), no ar, na água, em plantas e animais. A pesquisa e identificação de elementos traço no meio ambiente tem se tornado um vasto campo da ciência moderna.

O crescente interesse no estudo de elementos-traço em materiais biológicos ou ambientais é apenas mais um indicador do crescimento da moderna ciência biológica e ambiental. É reconhecido que a diversidade de elementos-traço é essencial para a vida e grande esforço tem sido feito no sentido de entender sua ação. Sabe-se, por exemplo, que os elementos-traço são essenciais à vida, ou, quando em excesso, podem também ser tóxicos. Nestes tipos de pesquisa, em que se procura integrar métodos da biociência com de pesquisas físicas, os primeiros passos são correlacionar a concentração de elementos-traço com vários tipos de disfunções orgânicas ou patológicas, mesmo sem compreender, no início, os mecanismos subjacentes.

Vários métodos são tradicionalmente empregados na determinação de micro-quantidades de elementos. Métodos colorimétricos e espectroscópicos (absorção atômica, espectrometria de emissão, espectroscopia de massa) sobrem a faixa de 10^{-2} a 10^2 ppm. Cada um desses métodos apresenta, dentro de sua faixa de aplicabilidade, vantagens e desvantagens.

Desde a década de 70, algumas técnicas nucleares foram incorporadas ao vasto arsenal de técnicas analíticas cabendo citar a ativação por fótons e partículas carregadas e o retroespalhamento de prótons, além do já bastante difundido uso de radioisótopos radioativos como traçadores (DE PINHO et al. 1979).

Do ponto de vista da determinação simultânea de um grande número de elementos, foram desenvolvidos métodos analíticos baseados na fluorescência de raios X induzida por um agente ionizante. Assim, os agentes ionizantes mais constantemente empregados são fótons, elétrons, prótons ou outras partículas carregadas que trouxeram grandes vantagens tanto na precisão, acurácia e sensibilidade.

Em amostras de material biológico ou ambiental, a identificação dos elementos-traços se dá pela observação dos seus raios X característicos, dos quais, muitas vezes, basta uma série (K ou L), ou mesmo algumas linhas espectrais

principais para identificá-los. Esses raios X são produzidos no bombardeio da amostra por um feixe ionizante (fótons, elétrons, prótons, íons em geral), capaz, portanto de produzir vacâncias eletrônicas nos átomos presentes na amostra.

Para que o processo se torne quantitativo, é preciso relacionar a quantidade de raios X, emitidos e registrados pelo sistema de detecção, com a quantidade de átomos capazes de emitir tais fótons. Para tanto, é essencial conhecer detalhes da interação entre o feixe ionizante e os átomos de cada elemento, bem como os efeitos de atenuação da radiação seja incidente ou emitida pela amostra.

2.9.4 Fluorescência de Raios X por Reflexão total – TXRF

A reflexão total é um fenômeno óptico no qual raios X incidentes são totalmente refletidos pela superfície de um material. Um diagrama esquemático da geometria da reflexão total é mostrado na Figura 2.13. Assim como no caso de outras ondas eletromagnéticas, os raios X exibem reflexão total para um particular ângulo de incidência quando passa de um material de alto índice de refração para um de menor índice de refração. Isto é satisfeito pelos raios X quando eles passam do vácuo (ou ar) para qualquer outro material. Para um meio absorvente, o índice de refração é uma quantidade complexa descrito pela Equação 2.6 (KLOCKENKÄMPER, 1992).

$$\eta = 1 - \delta - i \cdot \beta$$

Equação 2.6 - Índice de refração complexo para meio absorvente.

A componente real δ é uma medida da dispersão dos raios X e é da ordem de 1×10^{-6} . A componente imaginária β é uma medida da absorção da radiação e ainda é bem menor que δ para qualquer meio. Ambos os parâmetros δ e β podem ser reduzidos para parâmetros físicos (KLOCKENKÄMPER, 1992) como condensados pela Equação 2.7 e 2.8.

$$\delta = \frac{N_{\text{Avo}}}{2\pi} r_0 \frac{\sum_{i=1}^n Z_i}{\sum_{i=1}^n A_i} \rho \cdot \left(\frac{hc}{E} \right)^2$$

Equação 2.7 - Componente real do índice de refração.

Sendo r_0 o raio clássico do elétron ($r_0 = 2,818 \times 10^{-13} \text{ cm}$); h a constante de Planck ($h = 4,1357 \times 10^{-18} \text{ keV} \cdot \text{s}$); E a energia da radiação (em keV); ρ a densidade do refletor; Z_i o número atômico e A_i a massa atômica relativa às frações elementares no refletor; N_{Avo} o número de Avogadro ($N_{\text{Avo}} = 6,023 \times 10^{23} \cdot \text{at/mol}$).

$$\beta = \frac{hc}{4\pi \cdot E} \left(\frac{\mu}{\rho} \right) \cdot \rho$$

Equação 2.8 - Componente imaginária do índice de refração.

Sendo μ/ρ o coeficiente de atenuação de massa dos raios X no refletor.

A reflexão Total de raios X ocorre em ângulos de incidências muito pequenos. Para um meio transparente, para o qual $\beta/\delta \approx 0$, existe um limite muito nítido, o ângulo crítico Φ_c . Abaixo deste ângulo a reflexão total ocorre e este ângulo pode ser calculado segundo a lei de Snell e expresso pela Equação 2.9.

$$\Phi_c = \sqrt{2\delta} = \frac{hc}{E} \sqrt{\frac{N_{\text{Avo}} \rho \cdot r_0 \sum_{i=1}^n Z_i}{\pi \sum_{i=1}^n A_i}}$$

Equação 2.9 - Ângulo crítico para a reflexão total de raios X.

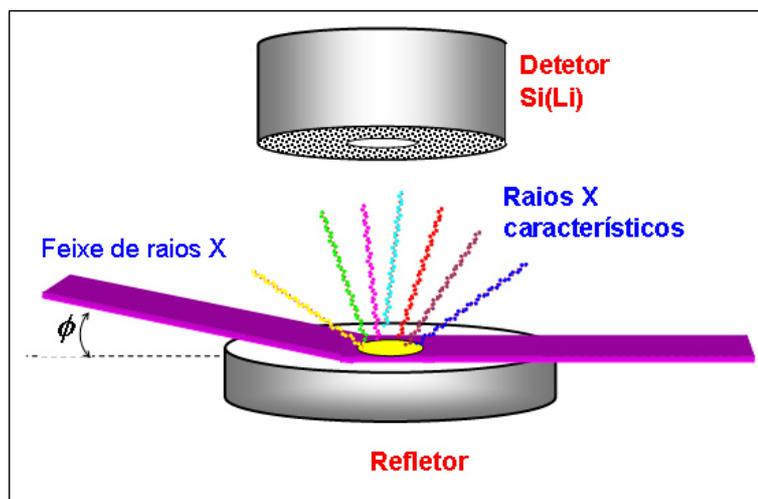
Para um refletor de quartzo (SiO_2 ; $\rho = 2,5 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$; $\sum_{i=1}^3 Z_i = 30$; $\sum_{i=1}^3 A_i = 60,0843 \cdot \text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$), o ângulo crítico é resumido à Equação 2.10.

$$\Phi_c(\text{quartzo}) = \frac{3,2197 \times 10^{-2} \text{ keV}}{E(\text{keV})}$$

Equação 2.10 - Ângulo crítico no refletor de quartzo como função da energia do raio X incidente.

Nas energias das linhas espectrais $K\alpha$ -Cu ($8,05 \cdot \text{keV}$), e $K\alpha$ -Zr ($15,78 \cdot \text{keV}$), os ângulos críticos são $8,72 \times 10^{-3} \text{rad}$ e $2,04 \times 10^{-3} \text{rad}$, respectivamente.

Para raios X de Mo- $K\alpha$ passando do vácuo para o vidro de quartzo ($\delta = 1,5 \times 10^{-6}$), corresponde um ângulo crítico $\Phi_c = 1,715 \times 10^{-3} \text{rad}$. Isto quer dizer que para os raios X serem totalmente refletidos pela superfície refletora de quartzo, ou qualquer outro material similar, o ângulo de incidência deve ser muito pequeno; isto é, menor que $1,716 \times 10^{-3} \text{rad}$.



Fonte: QUIÑONES (2007)

Figura 2.13 – Representação esquemática da reflexão total.

2.9.4.1 Equação Fundamental da TXRF

Nas condições de reflexão total de raios X, pequenas quantidades (nanogramas) de amostra (líquidas ou sólidas) serão depositadas sobre a superfície de um refletor (quartzo, plexiglass, etc) limpo. Não havendo o efeito matriz (absorção e reforço da radiação) da amostra ou suporte dela no espectro de TXRF, não há necessidade de correção do efeito matriz na obtenção da equação fundamental da TXRF, resultando numa maior sensibilidade analítica (WOBRAUSCHEK, 1998).

A criação do número de vacância dentro do átomo pela incidência de fótons suficientemente energéticos (2 a 20 keV) para excitar átomos leves (camada K) como pesados (camada L) pode ser calculada através da seção de choque de ionização, que leva em conta a probabilidade que ocorra o efeito fotoelétrico e a probabilidade de retirar os elétrons da camada K em relação a todas as camadas, chamado de “*jump ratio*” ($1 - 1/j$). A seção de choque de ionização é definida pela Equação 2.11

$$\sigma_{\text{ion}}(Z, E) = \tau_{\text{foto}} \cdot \sigma_{\text{jump}} = \frac{k_{\text{foto}}}{\rho_{\text{alvo}}} \frac{Z^3}{E^{8/3}} \cdot \left[1 - \frac{1}{j} \right]$$

Equação 2.11 – Seção de choque de ionização ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) da matéria por raios X.

Após o átomo ter sido ionizado, a desexcitação dele pode ser dar de forma radiativa (fluorescência) ou não radiativa (Auger). Na desexcitação há a competição entre os processos Fluorescentes e Auger (Equação 2.12)

$$\omega_F + \omega_A = 1$$

Equação 2.12 - Competição entre os processos fluorescentes e Auger.

Para cada série de linhas de raios características pode ser definido o seu rendimento fluorescente (Equação 2.13 e 2.14) como o número de fótons emitidos de uma dada camada (K ou L) na unidade de tempo dividido pelo número de vacâncias formadas no mesmo tempo.

$$\omega_K = \frac{n_{K\alpha_1} + n_{K\alpha_2} + n_{K\beta_1} + \dots}{N_{\text{vac},K}}$$

Equação 2.13 - Rendimento fluorescente para a série K

$$\omega_L = \frac{n_{L\alpha_1} + n_{L\alpha_2} + n_{L\beta_1} + \dots}{N_{\text{vac},L}}$$

Equação 2.14 - Rendimento fluorescente para a série L

A probabilidade de ocorrer a transição $K\alpha$ em relação a todas as transições eletrônicas a preencherem as vacâncias é definida pela Equação 2.15.

$$f_{K\alpha} = \frac{n_{K\alpha}}{\sum_i n_{K,i}}$$

Equação 2.15 - Fração de transições da série k ser do tipo $K\alpha$.

A probabilidade de que ocorra a emissão de um raio X do tipo $K\alpha$ (Equação 2.16) leva em conta a probabilidade do ocorrer o processo fluorescente e a fração de fótons K emitidos como $K\alpha$.

$$p_{K\alpha} = \omega_K \cdot f_{K\alpha} = \left[\frac{n_{K\alpha_1} + n_{K\alpha_2} + n_{K\beta_1} + \dots}{N_{vac,K}} \right] \cdot \frac{n_{K\alpha}}{\sum_i n_{K,i}}$$

Equação 2.16 - Probabilidade de ocorrer um transição do tipo $K\alpha$.

Valendo-se das Equação 2,11, 2.15 e 2.16 pode-se estimar a probabilidade de emitir um raio X quando um feixe de raios X incide na amostra sobre o refletor.

$$P_{K\alpha}(Z,E) = \frac{k_{foto}}{\rho_{alvo}} \frac{Z^3}{E^{8/3}} \cdot \left[1 - \frac{1}{j} \right] \omega_K \cdot \left[\frac{n_{K\alpha}}{\sum_i n_{K,i}} \right]$$

Equação 2.17 - Probabilidade (em $cm^2 \cdot g^{-1}$) do alvo emitir um raio X - $K\alpha$.

Na amostra sobre o refletor, a densidade de átomos do elemento de número atômico Z (Equação 2.18), pode ser relacionada com a quantidade de massa deste elemento por unidade de área do alvo que emitiu os raios X $K\alpha$.

$$n_{at}(Z) = \frac{\rho_Z}{A_Z} N_{Avo}$$

Equação 2.18 - Densidade de átomos no suporte refletor.

Se o alvo é irradiado por um feixe de raios X, cujo fluxo de raios X é Φ_{feixe} , a quantidade de raios X que podem ser emitidos pelo alvo, na unidade de tempo, é dada pela Equação 2.19.

$$I_{K\alpha} = \Phi_{\text{feixe}} \cdot n_{\text{at}}(Z) \cdot P_{K\alpha}(Z, E) = \Phi_{\text{feixe}} \cdot \left[\frac{\rho Z}{A_Z} N_{\text{Avo}} \right] \cdot \left\{ \frac{k_{\text{foto}}}{\rho_{\text{alvo}}} \frac{Z^3}{E^{8/3}} \cdot \left[1 - \frac{1}{j} \right] \omega_K \cdot \left[\frac{n_{K\alpha}}{\sum_i n_{K,i}} \right] \right\}$$

Equação 2.19 - Intensidade de raios x fluorescentes emitida pelo alvo.

Uma fração dessa intensidade de raios X - $K\alpha$ emitido deve passar por um colimador antes de atingir o detector. Essa fração é ângulo sólido subtendido (Ω_{col}) pelo colimador (geralmente feito de Tântalo) em frente da janela do detector de Si(Li), relativo ao ângulo sólido total de emissão (4π), como mostrado na Figura 2.14.

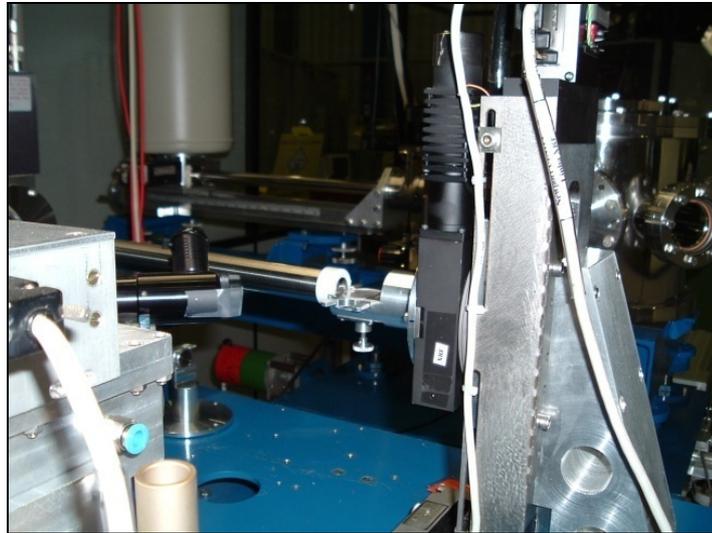


Figura 2.14 - Sistema SR-TXRF na linha de luz D09-XRF do LNLs.

Logo, a intensidade de raios X - $K\alpha$ que passa pelo colimador do detector é dada pela Equação 2.20.

$$I_{K\alpha}^C = \frac{\Omega_{\text{col}}}{4\pi} \Phi_{\text{feixe}} \cdot \left\{ \frac{N_{\text{Avo}}}{A_Z} \cdot k_{\text{foto}} \cdot \frac{Z^3}{E^{8/3}} \cdot \left[1 - \frac{1}{j} \right] \omega_K \cdot \left[\frac{n_{K\alpha}}{\sum_i n_{K,i}} \right] \right\} \cdot \frac{\rho Z}{\rho_{\text{alvo}}}$$

Equação 2.20 - Intensidade de raios X fluorescentes que passam pelo colimador

Uma fração destes raios X colimados pode ser processada pelo detector, e é quantificada através da eficiência do detector. A eficiência do detector Si(Li) pode ser calculada a partir das especificações técnicas do desenho do fabricante representando a probabilidade de transmissão dos raios X pelas camadas

superficiais do detector e a probabilidade de absorção dos raios pela região ativa da estrutura atômica do silício.

$$\varepsilon(E) = P_{\text{trans}} \cdot P_{\text{abs}} = \left[\sum_i \exp(-\mu_i(E) \cdot \rho_i \cdot x_i) \right] \cdot [1 - \exp(-\mu_{\text{Si}}(E) \cdot \rho_{\text{Si}} \cdot x_{\text{Si}})]$$

Equação 2.21 - Representação matemática da eficiência do detector de silício.

Sendo μ_i , ρ_i , e x_i o coeficiente de atenuação de massa dependente da energia do fóton, a densidade de cada uma das camadas de material absorvedor, e a espessura de cada camada; e μ_i , ρ_i , e x_i os mesmos parâmetros para a camada ativa do detector.

Levando em conta a eficiência de detecção (ε) do detector semiconductor (Si(Li) ou HP-Ge), pode-se calcular a intensidade de raios X - $K\alpha$ registrada pelo detector (Equação 2.22) relativa a concentração do elemento em estudo C_Z .

$$I_{K\alpha}^D = \Phi_{\text{feixe}} \cdot \left\{ \frac{\Omega_{\text{col}}}{4\pi} \cdot \varepsilon(E_{K\alpha}) \cdot \frac{N_{\text{Avo}}}{A_Z} \cdot k_{\text{foto}} \cdot \frac{Z^3}{E^{8/3}} \cdot \left[1 - \frac{1}{j} \right] \omega_K \cdot \left[\frac{n_{K\alpha}}{\sum_i n_{K,i}} \right] \right\} \cdot C_Z$$

Equação 2.22 - Intensidade fluorescente detectada

A sensibilidade do espectrômetro SR-TXRF (Equação 2.23) é uma grandeza instrumental que engloba todos os parâmetros físicos da fluorescência no alvo, das condições do feixe de irradiação, da geometria e da eficiência na detecção.

$$S(E_{K\alpha}) = \Phi_{\text{feixe}} \cdot \left\{ \frac{\Omega_{\text{col}}}{4\pi} \cdot \varepsilon(E_{K\alpha}) \cdot \frac{N_{\text{Avo}}}{A_Z} \cdot k_{\text{foto}} \cdot \frac{Z^3}{E^{8/3}} \cdot \left[1 - \frac{1}{j} \right] \omega_K \cdot \left[\frac{n_{K\alpha}}{\sum_i n_{K,i}} \right] \right\}$$

Equação 2.23 - Sensibilidade elementar da técnica TXRF.

Por outro lado, a concentração elementar (quantidade de gramas do elemento de interesse por unidade de massa total no alvo) pode ser determinada pela Equação 2.24.

$$C_Z = \frac{I_{K\alpha}^D}{S(E_{K\alpha})}$$

Equação 2.24 - Determinação da concentração elementar pela técnica TXRF.

Nestes termos, a sensibilidade permite a correção de erros sistemáticos dentre os quais destacam-se os relacionados as condições energéticas do feixe, que vai reduzindo ao longo do tempo; a geometria da amostra, relativa a posição e a irregularidade superficial da mancha após seca sobre o disco e os critérios de eficiência no que tange a detecção.

2.9.4.1.1 Determinação da sensibilidade elementar do SR-TXRF

Da Equação 2.23, observa-se que a sensibilidade elementar da técnica TXRF é um parâmetro complicado a se determinar experimentalmente. A flutuação do fluxo de raios X incidentes levaria a erros sistemáticos enormes. O posicionamento do alvo (gota de amostra no centro do refletor) pode variar de uma medida a outra, alterando o ângulo sólido. Outro problema experimental pode ser a não distribuição uniforme dos elementos no alvo. A fim de contornar tais problemas experimentais é necessária a introdução de um padrão interno na amostra aquosa antes de depositar uma gota (5 µL) no refletor, de modo que permita corrigir os erros sistemáticos no instrumental.

A sensibilidade elementar pode ser determinada relativa ao padrão interno (Equação 2.25). Com o intuito de melhorar a precisão e exatidão da sensibilidade elementar do instrumental, é necessário usar padrões multi-elementares em várias concentrações e com o maior número de réplicas de cada padrão multi-elementar. Os elementos padrões são escolhidos de modo a cobrirem uma ampla região de interesse em energia (ou número atômico) para as séries K e L.

$$S_{rel}(Z) = \frac{S_Z}{S_P} = \frac{\left\{ \frac{\varepsilon(E_{K\alpha}^Z)}{A_Z} \cdot k_{foto} \cdot \frac{Z^3}{E^{8/3}} \cdot \left[1 - \frac{1}{j_Z} \right] \omega_K^Z \cdot \left[\frac{n_{K\alpha}}{\sum_i n_{K,i}} \right] \right\}}{\left\{ \frac{\varepsilon(E_{K\alpha}^P)}{A_Z^P} \cdot k_{foto} \cdot \frac{Z_P^3}{E_P^{8/3}} \cdot \left[1 - \frac{1}{j_P} \right] \omega_K^P \cdot \left[\frac{m_{K\alpha}}{\sum_i m_{K,i}} \right] \right\}}$$

Equação 2.25 – Sensibilidade elementar relativa ao padrão interno pela técnica TXRF

Usando a sensibilidade relativa ao padrão interno, podem-se corrigir os erros sistemáticos e experimentais e conseqüentemente determinar a concentração elementar na amostra com maior confiabilidade, segundo a Equação 2.26.

$$C_Z = \left[\frac{I_{K\alpha}^Z \cdot C_P}{I_{K\alpha}^P} \right] \cdot [S_{rel}(Z)]^{-1}$$

Equação 2.26 - Determinação da concentração elementar relativa à concentração do padrão interno.

2.9.4.1.1.1 Curva de sensibilidade elementar da Série K

A partir de padrões mono elementares líquidos referenciados de Si, K, V, Co, Cu, Ga, Se e Zr (10^3 mgL^{-1}), podem ser feitas misturas, diluindo os padrões e adicionando água Milli-Q até completar 100 mL, em cinco concentrações diferentes; por exemplo, Si, K e Zr nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 mg L^{-1} ; e V, Co, Cu, Ga, e Se nas concentrações de 1, 3, 5, 7 e 10 mg L^{-1} . Podem ser feitas várias réplicas de discos-padrões, depositando 5 μL de solução multipadrão no centro de um refletor de acrílico, secos a temperatura ambiente. Na Figura 2.15, mostra-se um espectro típico de Fluorescência de Raios X por Reflexão Total, obtido no instrumental instalado na linha de luz D09-XRF do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, Campinas, SP.

A resposta do instrumental, mantendo todos os parâmetros físicos e geométricos fixos, deve ser linear com o aumento da concentração elementar. A partir da Equação 2.26 essa função resposta pode ser definida na forma da Equação 2.27, para cada um dos elementos padrões, de concentração bem conhecida, e relativa ao padrão interno, como por exemplo, Gálio.

$$R \equiv \left[\frac{I_{K\alpha}^{\text{pad}} \cdot C_{\text{Ga}}}{I_{K\alpha}^{\text{Ga}}} \right] = S_{rel}^{\text{pad}} \cdot C_{\text{pad}}$$

Equação 2.27 - Função resposta do instrumental como função da concentração.

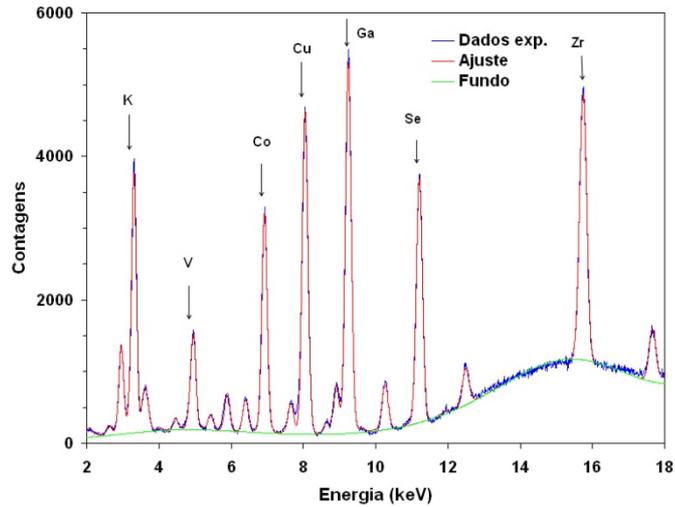


Figura 2.15 - Espectro típico SR-TXRF de padrão multielementar para a série K.

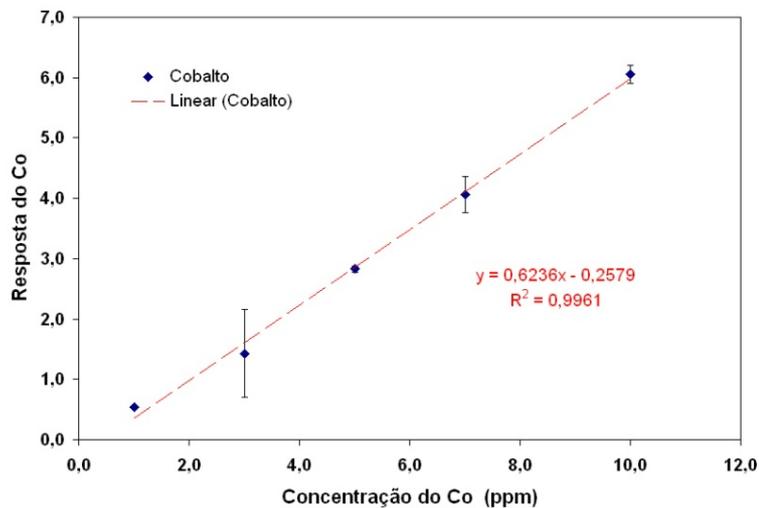


Figura 2.16 - Resposta do instrumental SR-TXRF como função da concentração do cobalto, relativo ao padrão interno gálio ($s_{Co} = 0,6236 s_{Ga}$).

Para cada elemento padrão da série: Si, K, V, Co, Cu, Se e Zr, pode-se então construir a relação linear entre o parâmetro resposta e a concentração do padrão de interesse. O fator de proporcionalidade entre a função resposta e a concentração do padrão é a própria sensibilidade do instrumento para o elemento químico de interesse, relativo ao padrão interno (Gálio). Segundo a Equação 2.23 a sensibilidade é uma função do número atômico (Z) ou da energia da linha espectral principal ($K\alpha$) do elemento químico.

2.9.4.1.1.2 Curva de sensibilidade elemental da Série L

A partir de padrões monoelementares líquidos referenciados de Zr, Mo, Cd, Ba, Pb e Ga (10^3 mg L^{-1}), podem ser feitas misturas, diluindo os padrões e adicionando água Milli-Q até completar 100 mL, em cinco concentrações diferentes; por exemplo, Zr e Mo nas concentrações de 100, 200, 300, 400 e 500 mg L^{-1} ; e Cd, Ba, Pb e Ga nas concentrações de 1, 3, 5, 7 e 10 mg L^{-1} . Na Figura 2.17, mostra-se um espectro típico contendo as linhas espectrais da série L (padrões referenciados) e K, obtido pela técnica SR-TXRF. Os espectros apresentam elementos químicos indesejáveis vindos dos reagentes utilizados e dos próprios padrões mono elementares empregados.

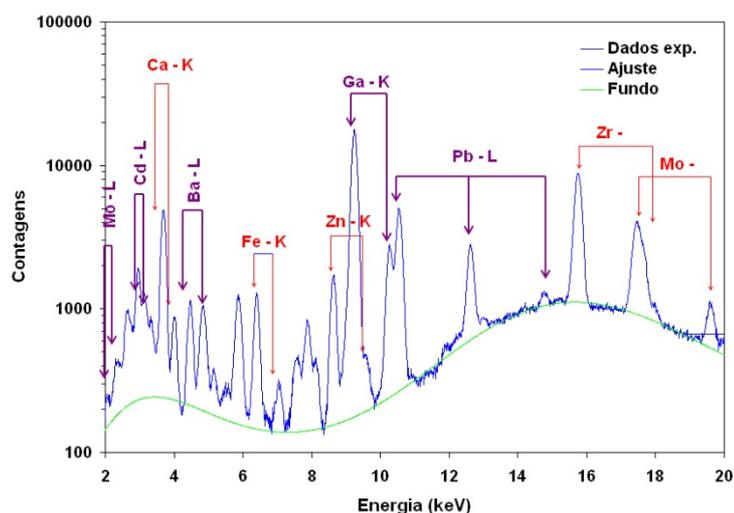


Figura 2.17 – Espectro típico SR-TXRF de padrão multielementar para a série L

De maneira análoga à Equação 2.27, pode-se construir a função resposta do instrumental SR-TXRF com o aumento de concentração dos padrões referenciados e obter por ajuste linear da função resposta as sensibilidades elementares de cada elemento-padrão (Zr, Mo, Cd, Ba e Pb) relativo ao padrão interno (Gálio), como mostrada na FIGURA 2.18 para o caso do padrão de chumbo.

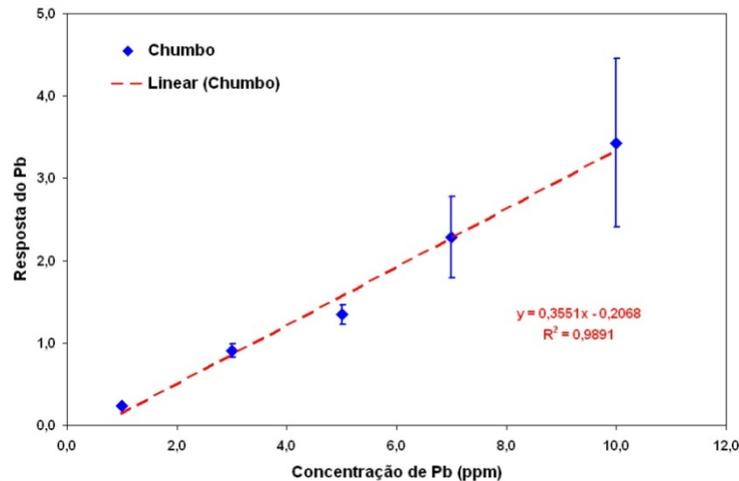


Figura 2.18 - Resposta do instrumental SR-TXRF como função da concentração do chumbo, relativo ao padrão interno gálio ($s_{pb} = 0,3551 s_{ga}$).

O instrumental SR-TXRF possui baixa sensibilidade para energias menores que 2 keV. Nessas energias ou linhas espectrais $K\alpha$ ou $L\alpha$ dos 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⁻¹, de modo a garantir boa confiabilidade da obtenção das sensibilidades elementares.

2.9.5 A técnica de Fluorescência de raios X por reflexão total - TXRF

As duas primeiras reuniões internacionais para discutir esta técnica foram realizadas em 1986 e 1988 na Alemanha, a terceira em 1990 na Áustria e a quarta novamente na Alemanha, em 1992. 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.

De acordo com Klockenkämper (1993), 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.

A técnica de TXRF foi inicialmente utilizada para análises de ultra traços em soluções aquosas. A comparação da análise de amostras de águas residuais por TXRF e ICP indica que o primeiro método oferece em geral, limites de detecção mais baixos que o segundo.

Sendo uma das variantes da fluorescência de raios X é denominada Reflexão Total (TXRF) e vem sendo bem desenvolvida nos últimos anos por apresentar algumas características particulares na análise de amostras: atmosféricas, sedimentos, água, solo, plantas e outros materiais de interesse ambiental (COSTA, et al., 2003).

As características são: I) análise de elementos traços, concentração na faixa de parte por bilhão $\mu\text{g L}^{-1}$; II) amostras líquidas em pequeno volume (microlitros); III) simplicidade no preparo das amostras.

Além desses fatores a TXRF é um método rápido para a determinação simultânea de elementos com número atômico maiores que 11 e para níveis abaixo de $\mu\text{g L}^{-1}$ (KLOCKENKÄNPER, 1993). Este método tem sido muito usado na análise de amostras de águas (rios, chuva e mar) para monitoramento de metais a níveis de traços no ambiente aquático, porém para análise na água do mar há a necessidade de separação dos metais por complexação.

2.9.5.1 Análise Quantitativa por TXRF

Segundo Oliveira (2004) na técnica de TXRF uma alíquota de 5 a 50 μL da amostra líquida in natura ou digerida é colocada no centro de um suporte de quartzo ou germânio e seca. O filme fino obtido, com massa entre 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 10 g L^{-1} , cobrindo um círculo com aproximadamente 5 mm de diâmetro, está pronto para ser analisado por TXRF.

Quando a amostra apresentar elementos voláteis como Hg e As estes devem ser convertidos em formas químicas mais estáveis pela adição de uma pequena quantidade de solução quelante, por exemplo, ditiocarbamato de pirrolidina de

amônia (APDC), colocada na superfície do suporte da amostra antes da evaporação do solvente (GIRARDI, et al., 1967).

Devido à ausência do efeito matriz, pode-se determinar a sensibilidade elementar de modo simultâneo para vários elementos, utilizando-se uma solução padrão multi-elementar, 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 e erros operacionais e sistemáticos já mencionados.

Então com base nas sensibilidades elementares dos elementos contidos na solução padrão multi-elementar, pode-se estimar a sensibilidade para um elemento detectado na amostra e, conseqüentemente, estimar a sua concentração, mesmo que o padrão não contenha este elemento.

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

A função do padrão interno é eliminar o efeito de geometria, porque o filme fino formado sobre o suporte não possui geometria regular. Desta forma, a contagem obtida na irradiação da amostra depende da posição em que esta for colocada no suporte. Com a adição do padrão interno, o resultado obtido será sempre em relação a este padrão, não importando a posição da amostra.

Oliveira (2004) ressalta que existe uma alta correlação matemática entre sensibilidade elementar e o número atômico dos elementos. Assim, com base nas sensibilidades elementares dos elementos contidos na solução padrão multi-elementar, pode-se estimar a sensibilidade para um elemento detectado na amostra não contido na solução padrão e conseqüentemente estimar a sua concentração na amostra de interesse.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CONDIÇÕES DE CULTIVO

O experimento foi conduzido em estufa, durante o outono de 2007, junto ao departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, situado na cidade de Toledo, estado do Paraná, Brasil.

A experimentação foi realizada em recipientes plásticos de 6 litros, durante 35 dias. Todos os recipientes e vidrarias usados nos biotestes e nos experimentos cinéticos foram limpos com detergente, enxaguados com água provinda de poço artesiano que abastece as instalações e deixados de molho por 12 horas em solução do HNO_3 de 10% e novamente enxaguados com água deionizada antes do uso.

3.2 REAGENTES

A solução padrão contendo Pb^{+2} foi preparada na concentração de 1000 mg L^{-1} a partir do nitrato de chumbo II ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$).

Soluções 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) foram preparadas em balões volumétricos a partir da dissolução em água deionizada, do mesmo modo que a solução multi-elementar 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.

Soluções estoque diluídas (1:1000 v/v), contendo os elementos indicados na Tabela 3.1 foram usadas no preparo da solução do hidropônica de Clark (CLARK, 1975), contendo macro e micro nutrientes para o cultivo das macrófitas.

Para obter-se a curva de sensibilidade elementar para a análise SR-TXRF, diversos padrões multi-elementares foram preparados a partir de soluções certificadas de P, K, V, Co, Cu, Ga, Se e Zr nas concentrações de 1000 mg L^{-1} por

diluição em água ultrapura na faixa de concentração de 1 a 10 mg L⁻¹, com exceção da concentração de P e de Zr preparadas entre 10 e 50 mg L⁻¹.

Na digestão foram usadas soluções comerciais de HNO₃ 65% e H₂O₂ com grau de pureza analítica.

3.3 OBTENÇÃO E SELEÇÃO DAS MACRÓFITAS

As plantas utilizadas foram coletadas manualmente em um rio da região de Toledo e transportadas até LAPA – Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais. Após lavagem e separação, foram acondicionadas em estufa até a montagem do experimento.

3.4 BIOTESTES DE RESISTÊNCIA

Com a finalidade de obter uma faixa ideal de concentrações para o desenvolvimento das plantas em meio a soluções contendo espécies metálicas realizaram-se alguns biotestes tanto a nível de bancada quanto na própria estufa destinada ao experimento cinético.

A princípio, tais testes foram conduzidos em bancada por meio de 51 recipientes plásticos com 500 ml de água destilada e solução Clark. Após a reserva de três recipientes para o branco foram adicionadas nos demais a solução a base de Pb⁺² em concentrações de 2, 5, 8 e 10 mg L⁻¹, em triplicatas, onde foram acrescentadas cerca de 10 g de plantas previamente higienizadas.

A partir das observações do aspecto físico e do ganho de biomassa nas amostras ao longo de duas semanas convencionou-se a trabalhar com as concentrações menores que 2 mg L⁻¹ para o Pb⁺², sendo os demais desconsiderados devido a elevada toxicidade apresentada.

3.5 EXPERIMENTO DE BIOACUMULAÇÃO DO Pb^{+2}

Inicialmente fez-se a higienização de 28 baldes com ácido nítrico a 10% seguido de três enxágües com água destilada. Após a secagem foram adicionados, por meio de balões volumétricos, 5 litros de água destilada e vedados com papel filme a fim de que se evitassem contaminações.

Depois de completar todos os baldes foram organizados de modo que facilitassem a adição dos demais componentes, conforme a Figura 3.1.

Coleta	01			02			03			04			05			06			07		
Triplic.	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Pb																					
Branco																					

Figura 3.1 – Esquema de organização do experimento

Na seqüência, passou-se para a etapa de adição das soluções. Primeiramente pipetou-se os componentes da solução hidropônica de Clark (CLARK, 1975), adaptada para o experimento, conforme os volumes da Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – componentes da solução hidropônica de Clark usados no experimento

Componente	C (mg L ⁻¹)	V (mL)
Micronutriente	1,0	5,0
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	2,5	12,7
KNO ₃	1,3	6,5
KCl	0,5	2,5
NH ₄ NO ₃	0,9	4,5
MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,6	3,0
Ca(HPO ₄) ₂ . 2H ₂ O	1,5	7,5

Fonte: Adaptado de CLARK, 1975

Fez-se a homogeneização por meio de um bastão de vidro e adicionou-se as soluções contendo íons Pb^{+2} 1000 mg L⁻¹ nos respectivos recipientes. A

concentração admitida para o teste foi de 2 mg L⁻¹ e o volume da solução padrão necessário para que esta condição se mantivesse, foi obtido por meio da Equação 3.1.

$$1000 \text{ mg L}^{-1} \times V_1 = 2 \text{ mg L}^{-1} \times 5 \text{ L} \Rightarrow V_1 = 0,01 \text{ L} = 10 \text{ ml}$$

Equação 3.1 – Cálculo de mistura para a determinação da concentração de 2 mg L⁻¹ de Pb⁺² no meio de cultivo

Feito isto, adicionou-se em 21 baldes, 10 ml de solução contendo Pb⁺² e os outros 7 baldes que sobraram foram reservados para o branco. Após a homogeneização do volume adicionou-se porções de macrófitas jovens com 3 indivíduos totalizando cerca de 30 g por balde, sendo que tais plantas permaneceram por 48 horas em ambientação apenas em água destilada.

Na Tabela 3.2 são apresentados os valores médios de biomassa em cada uma das coletas considerando as triplicatas experimentais para o Pb⁺² e o branco.

Tabela 3.2 –Biomassas de macrófitas distribuídas nas amostras

Coletas	Triplicatas	Pb ⁺² (g)	Branco (g)
1	A	33,73 ± 1,97	30,00 ± 5,48
	B		
	C		
2	A	30,73 ± 0,31	32,60 ± 5,71
	B		
	C		
3	A	32,47 ± 2,00	30,20 ± 5,50
	B		
	C		
4	A	32,67 ± 0,12	31,20 ± 5,60
	B		
	C		
5	A	31,87 ± 2,01	30,00 ± 5,48
	B		
	C		
6	A	31,47 ± 0,70	34,20 ± 5,85
	B		
	C		
7	A	32,87 ± 1,40	32,20 ± 5,67
	B		
	C		

Concluídos os procedimentos de montagem do experimento, todos os recipientes foram acondicionados na estufa de cultivo, permanecendo neste local durante toda a fase de acompanhamento e coleta de amostras sendo a data inicial o dia 25/04, admitido como o tempo zero e onde se fez a reserva das amostras do branco tanto para a água de cultivo quanto para as plantas usadas.

Como tempo de experimentação programado foi de 35 dias agendaram-se 7 coletas mais o branco inicial de acordo com os intervalos e datas apresentados na Tabela 3.3. Diariamente o volume era controlado através da adição de água destilada para amenizar as perdas por evaporação. Não fez-se a reposição de nutrientes de modo que a planta pudesse consumir apenas os disponibilizados no meio e o Pb^{+2} .

Tabela 3.3 – Datas e coletas estabelecidas para o experimento de bioacumulação

Coleta	t (d)	Data
0 (Branco)	0	25/04
1	1	26/04
2	2	27/04
3	4	29/04
4	7	02/05
5	12	07/05
6	21	16/05
7	35	30/05

Em cada coleta retirou-se da estufa três amostras e mais um recipiente do branco. No laboratório aferia-se individualmente o pH e a temperatura de cada balde, sendo estes dados e os demais obtidos registrados em uma planilha.

Removeu-se manualmente as plantas dos recipientes, permanecendo estas em um escorredor por cerca de 5 minutos com a finalidade de eliminar o excesso de água da parte radicular. Decorrido este tempo, em obteve-se massa úmida total de coleta em uma balança semi-analítica e ao final, acondicionou-se cada amostra em sacos plásticos.

Coletou-se 100 ml da água de cultivo para cada triplicata que eram acondicionadas em frascos âmbar juntamente com 300 μ L de ácido nítrico 65%

usado como conservante. Depois de devidamente identificadas e etiquetadas todas as amostras, tanto de água quanto de macrófitas, foram armazenadas em geladeira à temperatura de 3°C.

3.6 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras de plantas foram inicialmente lavadas, e manualmente, fez-se a separação das partes aéreas e radiculares que novamente foram pesadas, obtendo-se assim, as biomassas totais de raízes e folhas. Na seqüência, em separado, acondicionou-se cada parcela em papel Kraft para posterior secagem em estufa a 80°C por 72 horas. Uma vez finalizado este procedimento, pesava-se as amostras para a obtenção da biomassa seca.

As triplicatas foram trituradas de modo que ao final se obteve apenas uma amostra de raízes e folhas para cada coleta.

Do pó fino obtido retirou-se aproximadamente 0,5 g que depois de colocado em um tubo de ensaio recebeu 5 mL de ácido nítrico 65% e 0,5 mL de peróxido de hidrogênio 35%, onde, sobre chapa de aquecimento a 100°C ocorreu a digestão da matéria orgânica durante um período de 3 horas. Depois de resfriado o pequeno volume resultante em cada tubo foi transferido para um balão volumétrico que foi completado até 10 mL.

Das réplicas da água de cultivo, coletaram-se 20 mL de cada triplicata que uma vez reunidas num mesmo frasco resultaram em uma única amostra por coleta. Também se reservou amostras com o branco da digestão, da água destilada e da água ultra pura utilizada.

Totalizando as coletas, obteve-se 27 amostras. De cada uma retirou-se uma alíquota de 2 mL que após ser depositada, em um frasco cristal, recebeu 20 µL Gálio 1000 mg L⁻¹, como padrão para as análises, perfazendo uma concentração de 10 mg L⁻¹ de Ga.

Para os alvos finos, usados na determinação das concentrações, foram usinados discos de acrílico com 3 mm em espessura e 3 cm de diâmetro. Das

amostras contendo o padrão pipetou-se 5 μL na parte central da superfície do disco usando micropipeta. Depois da secagem sob a presença de luz artificial o residual originou uma película muito fina.

A fim de reduzir possíveis erros, para as amostras de água de cultivo, preparou-se uma quintuplicata analítica e para as demais triplicatas. Os discos foram acondicionados em estojos para posterior determinação da concentração de Pb^{+2} nas amostras recolhidas durante os experimentos utilizando-se a técnica de SR-TXRF no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS).

3.7 MEDIDAS DE SR-TXRF

As amostras foram analisadas no LNLS na linha de luz D09-XRF, 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.

O tempo de irradiação foi fixado em 100 s, exceto para os padrões que foi de 200 s. Os raios X foram captados por um detector HP-Ge, com 160 eV de resolução na linha espectral do $\text{Mn-K}\alpha$. De cada disco-amostra foi gerado um espectro SR-TXRF. O instrumental utilizado para as análises das concentrações de metais no LNLS esta representado na Figura 3.2.



Figura 3.2 – Equipamento D098B-XRF usado no LNLS

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 TESTES DE CRESCIMENTO E TOXICIDADE

Antes do experimento de adsorção foram realizados alguns biotestes para assegurar-se que as macrófitas aquáticas sobrevivessem sob as circunstâncias experimentais. Assim, dentre as faixas de concentrações de exposição, as plantas mostraram uma tolerância e um satisfatório crescimento na concentração de 2 mg L^{-1} de íons Pb^{+2} .

4.2 TEOR DE UMIDADE

Com o objetivo de se observar a composição da biomassa em relação a quantidade de água e a necessidade de desidratação da biomassa para a digestão fez-se a secagem das amostras de macrófitas a temperatura de 80°C durante 72 h em estufa.

A determinação da umidade possibilitou a verificação da quantidade de biomassa em termos de matéria sólida seca, onde os valores foram obtidos através da Equação 4.1

$$X = \frac{M_u - M_s}{M_s}$$

Equação 4.1 – Teor de umidade

Sendo X o teor de umidade ($\text{g H}_2\text{O g}^{-1}$ sólido seco); M_s a massa seca (g); e M_u a massa úmida (g).

Assim, os teores de umidade em cada coleta são apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Teor de umidade nas amostras de biomassa

t (d)	M _u (g)	M _s (g)	% de água	X (g H ₂ O g ⁻¹)
0	32,3 ± 0,9	1,5 ± 0,01	94,8 ± 0,01	18,4 ± 0,01
1	35,2 ± 1,6	2,1 ± 0,1	93,9 ± 0,5	15,5 ± 1,5
2	32,6 ± 0,7	1,9 ± 0,3	94,1 ± 0,9	15,9 ± 2,6
4	34,0 ± 4,6	2,0 ± 0,2	94,1 ± 0,2	15,9 ± 0,7
7	36,9 ± 1,5	2,2 ± 0,2	94,0 ± 0,4	15,6 ± 1,1
12	43,2 ± 1,3	2,6 ± 0,1	93,9 ± 0,1	15,5 ± 0,3
21	44,5 ± 1,4	2,8 ± 0,3	93,8 ± 0,1	14,8 ± 0,3
35	60,4 ± 0,3	3,9 ± 0,6	93,4 ± 0,4	14,2 ± 0,9

A relação entre biomassa seca e a biomassa úmida pode ser visualizada na Figura 4.1. O aumento da biomassa ocorreu pelo crescimento individual e pelo aumento da população de macrófitas. A porcentagem de umidade na planta oscilou durante o experimento, seu valor médio foi de 93,97 %.

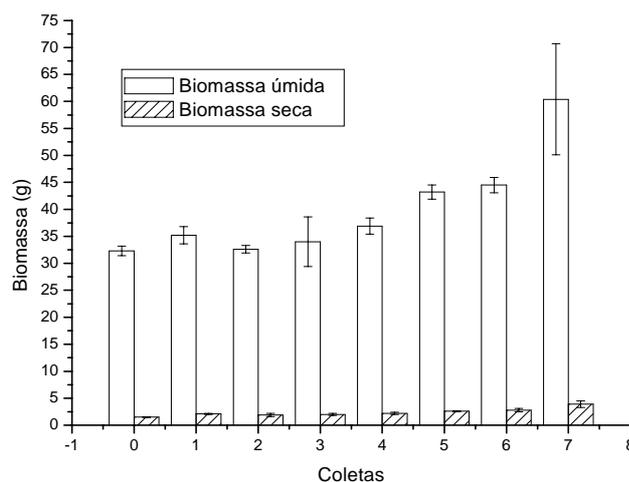


Figura 4.1 – Biomassa seca e massa de úmida das amostras

4.3 GANHO DE BIOMASSA E TAXA DE CRESCIMENTO

O aumento da biomassa, comparando os valores iniciais e finais, foi obtido utilizando a Equação 4.2.

$$\Delta M = M_f - M_i$$

Equação 4.2 – Aumento da biomassa

Sendo ΔM o Ganho de biomassa (g); M_i a biomassa no início do experimento (g) e M_f a biomassa coletada (g).

Na Figura 4.2 observa-se um comparativo entre o branco experimental e as amostras com Pb^{+2} onde o ganho médio por coleta considera a biomassa inicial e a biomassa aferida após pesagem. A Tabela 4.2 apresenta a biomassa inicial e final (M_i e M_f), a massa seca (M_s) o ganho de biomassa (ΔM) e taxa de crescimento (Tx) nas amostras em cultivo contendo Pb^{+2} .

Tabela 4.2 – Aumento da biomassa e taxa de crescimento das amostras em cultivo contendo íons Pb^{+2}

T (d)	M_i (g)	M_f (g)	M_s (g)	ΔM (g)	Tx ($g\ d^{-1}$)
0	$32,3 \pm 0,9$	$32,3 \pm 0,9$	$1,5 \pm 0,01$	$0,0 \pm 0,01$	$0,0 \pm 0,01$
1	$33,7 \pm 2,0$	$35,2 \pm 1,6$	$2,2 \pm 0,1$	$1,5 \pm 11,7$	$1,5 \pm 1,7$
2	$30,7 \pm 0,3$	$32,6 \pm 0,7$	$1,9 \pm 0,3$	$1,9 \pm 10,8$	$0,9 \pm 0,4$
4	$32,5 \pm 2,0$	$34,0 \pm 4,6$	$2,0 \pm 0,2$	$1,6 \pm 12,6$	$0,4 \pm 0,7$
7	$32,7 \pm 0,2$	$36,9 \pm 1,5$	$2,2 \pm 0,2$	$4,3 \pm 11,4$	$0,6 \pm 0,2$
12	$31,9 \pm 2,0$	$43,1 \pm 1,2$	$2,6 \pm 0,1$	$11,3 \pm 10,9$	$0,9 \pm 0,1$
21	$31,5 \pm 0,7$	$44,5 \pm 1,4$	$2,8 \pm 0,3$	$13,1 \pm 14,0$	$0,6 \pm 0,2$
35	$32,9 \pm 1,4$	$60,4 \pm 10,3$	$3,9 \pm 0,7$	$27,5 \pm 10,6$	$0,8 \pm 0,3$

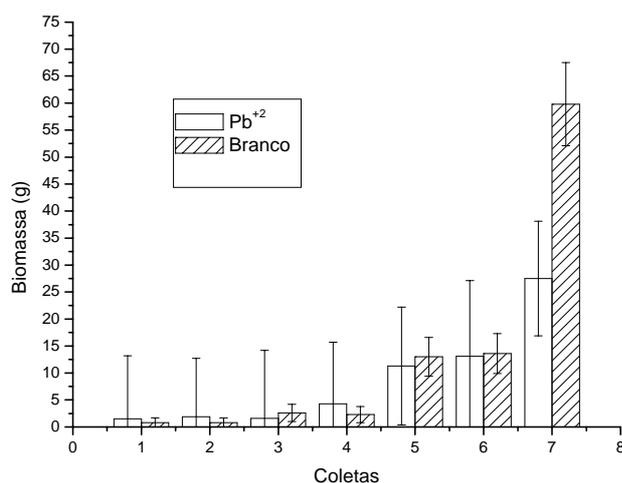


Figura 4.2 – Aumento da biomassa ao longo do tempo das amostras com Pb^{+2} e do branco experimental

A taxa de crescimento relacionada ao ganho de massa por unidade de tempo foi calculado pela Equação 4.3

$$Tx = \frac{\Delta M}{\Delta t_i}$$

Equação 4.3 – Taxa de crescimento

Sendo Tx a Taxa de crescimento (g d^{-1}); $\Delta M = M_f - M_i$ o Ganho de biomassa (g); e $\Delta t = t_f - t_i$ o Intervalo de tempo (d).

Na Figura 4.3 é expressa a taxa de crescimento do branco experimental e as amostras com Pb^{+2} .

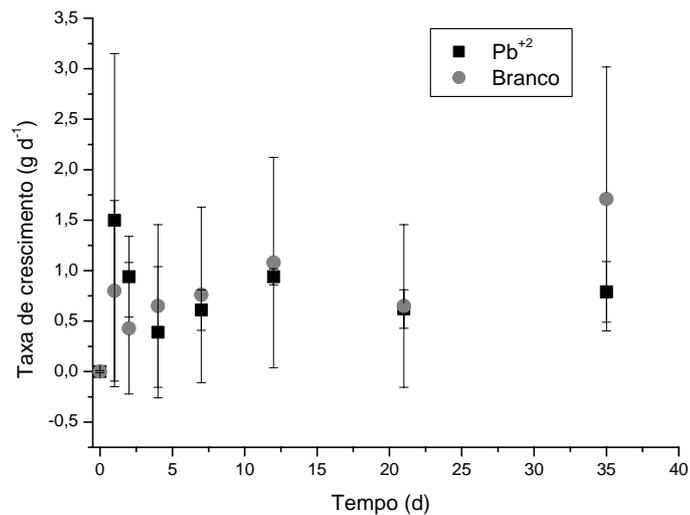


Figura 4.3 – Taxa de crescimento ao dia para as amostras com Pb^{+2} e o branco experimental

Pelo que se observa na Figura 4.3 os valores médios da taxa de crescimento da macrófita *Pistia stratiotes* tanto na presença de $2 \text{ mg Pb}^{+2} \text{ L}^{-1}$ quanto na ausência do mesmo permaneceram quase constantes dentro das respectivas barras de incertezas (obtidas de triplicatas experimentais), indicando, portanto que nessa concentração o metal é não tóxico o que justifica o uso desta concentração nos estudos de bioacumulação sem comprometer o desenvolvimento da planta.

4.4 CONCENTRAÇÕES DE Pb^{+2} NAS AMOSTRAS

Todas as análises dos espectros SR-TXRF foram realizadas usando o programa AXIL (Analysis X-ray interactive least square minimum), distribuído

gratuitamente pela Agência Internacional de Energia Atômica. Um espectro típico é apresentado na Figura 4.4, onde foi introduzido um fundo polinomial de ordem 6 que permite ser subtraído no cálculo das áreas das linhas espectrais das séries K, L e M dos elementos químicos presentes nas amostras. Através de uma curva de calibração usando padrões certificados pôde se converter o eixo das abscissas de canal para energia. Feito isto, o programa utiliza uma biblioteca interna com as informações das energias das linhas espectrais e suas respectivas intensidades relativas, permitindo a identificação de todos os elementos químicos.

As áreas das linhas espectrais das séries K e L dos elementos químicos presentes nas amostras foram extraídos por um ajuste iterativo baseado no método dos mínimos quadrados, impondo a condição de que a mínima área aceitável fosse a no mínimo três vezes o desvio padrão da área total. Ao final do ajuste o programa fornece as informações das linhas principais $K\alpha$ (elementos leves) $L\alpha$ (elementos pesados) tais como o número atômico do elemento, a energia (keV) da linha e sua respectiva intensidade fluorescente (área do pico principal).

A intensidade de uma linha fluorescente de um dado elemento é proporcional a concentração do mesmo na amostra. O fator de proporcionalidade é a função resposta do instrumental SR-TXRF que depende com o número atômico (energia da linha espectral) do elemento a ser quantificado.

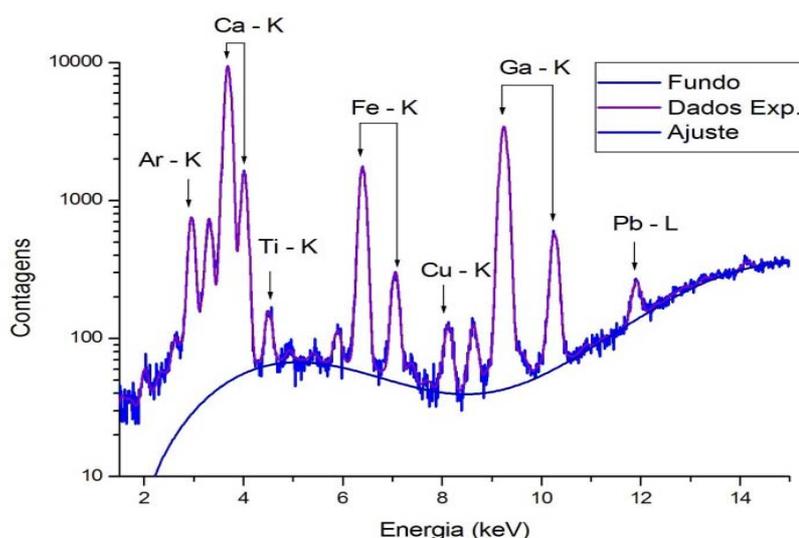


Figura 4.4 – Exemplo de espectro obtido na análise do branco da água de cultivo

Antes da determinação da concentração, calculou-se a função sensibilidade elementar do instrumental. Para tanto, foram analisados pelo AXIL os espectros dos padrões multielementares preparados, conforme a Tabela 4.3, tanto para a série K quanto para a série L, contendo em todos eles um padrão interno de Ga.

Tabela 4.3 – Concentração dos elementos nas amostras padrão

Padrões (mg L ⁻¹)																	
Linhas K									Linhas L								
-	K	Sc	V	Co	Cu	Ga	Se	Zr	-	Pb	Ba	Zr	Cd	Ga	-	W	Ga
A	10	1	1	1	1	1	1	10	F	1	1	10	10	1	K	1	1
B	20	3	3	3	3	3	3	20	G	3	3	20	20	3	L	3	3
C	30	5	5	5	5	5	5	30	H	5	5	30	30	5	M	5	5
D	40	7	7	7	7	7	7	40	I	7	7	40	40	7	N	7	7
E	50	10	10	10	10	10	10	50	J	10	10	50	50	10	O	10	10

Usando as concentrações conhecidas dos elementos padrões e as intensidades fluorescentes dos mesmos, extraídas do AXIL, foram obtidas a sensibilidade elementar de cada padrão relativa ao padrão interno de Ga. A partir destes dados experimentais foi feito um ajuste não linear para a obtenção da curva de sensibilidade elementar como mostrado nas Figuras 4.5 e 4.6, para as linhas K e L, respectivamente.

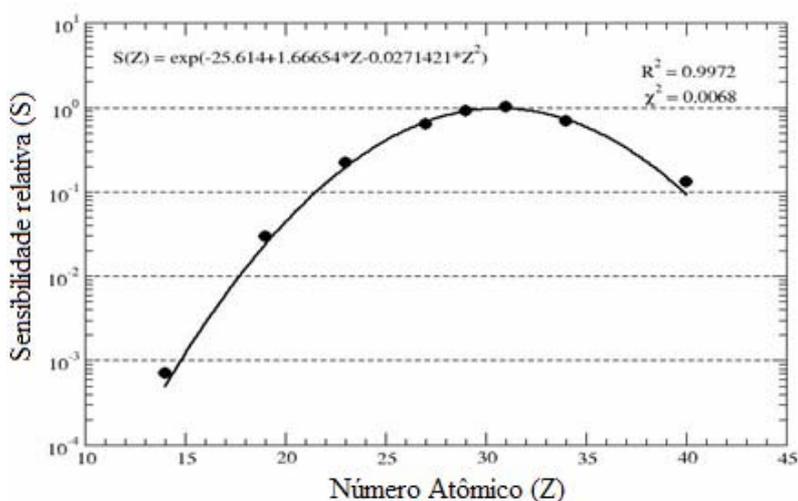


Figura 4.5 – Sensibilidade elementar da análise SR-TXRF para as linhas K

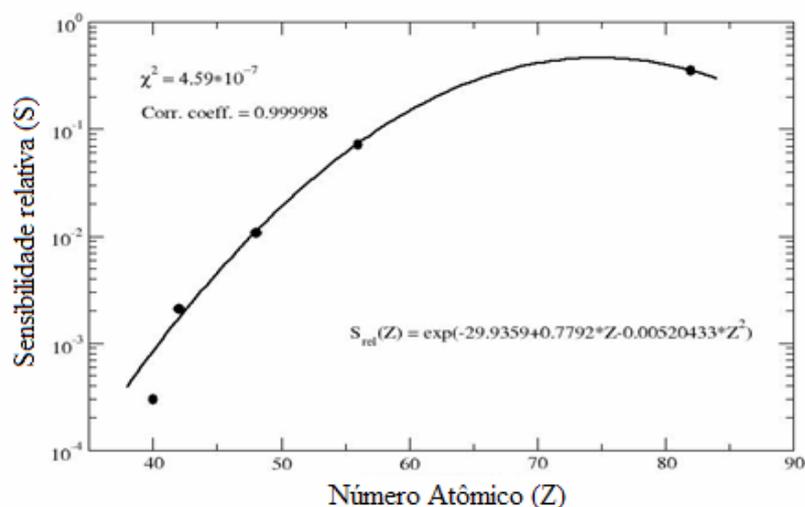


Figura 4.6 – Sensibilidade elemental da análise SR-TXRF para as linhas L

A técnica SR-TXRF permite a determinação simultânea de vários elementos, usando uma solução padrão elemental, contendo tais elementos em baixas concentrações e linhas de raios X característicos de energias não muito próximas, evitando a ocorrência de superposição ou interferência de picos.

Unindo tal fato a curva de sensibilidade calculou-se a concentração do Pb^{+2} em cada uma das replicas das amostras utilizando a Equação 4.4.

$$C_{Pb} = \frac{A_{Pb}}{A_{Ga}} \times \frac{C_{Ga}}{S}$$

Equação 4.4 – Cálculo das concentração de Pb^{+2} nas amostras

Sendo C_{Pb} a Concentração de Pb^{+2} na amostra; A_{Pb}/A_{Ga} a relação entre as áreas da linha La do chumbo, e da linha Ka do gálio; e S a sensibilidade do chumbo relativa ao padrão gálio.

A Tabela 4.4 apresenta as concentrações medidas nas amostras calculadas pela Equação 4.4, sendo C_L é a concentração no líquido, C_R a concentração nas raízes e C_F a concentração nas folhas.

Tabela 4.4 - Concentrações de Pb⁺² medidas nas amostras de água e na biomassa seca digerida (folhas e raízes)

T (d)	C _L (mg L ⁻¹)	C _R (mg L ⁻¹) ¹	C _F (mg L ⁻¹) ¹
0	1,30 ± 0,08 ²	1,2 ± 0,2 ³	0,08 ± 0,04 ³
1	0,58 ± 0,03	124 ± 7	4,9 ± 0,9
2	0,65 ± 0,10	115 ± 9	7,8 ± 0,4
4	0,51 ± 0,05	182 ± 21	8,1 ± 0,6
12	0,34 ± 0,04	291 ± 81	12,1 ± 1,4
21	0,16 ± 0,05	261 ± 34	12,8 ± 0,7
35	0,27 ± 0,07	320 ± 83	15,1 ± 0,9

¹ Concentração na biomassa seca digerida

² Incertaza obtida de uma quintuplicata analítica

³ Incertaza obtida de uma triplicata analítica

Pelas concentrações determinados em cada uma das coletas pode verificar-se um acentuado decaimento da concentração na fase fluida nas primeiras 24 horas, assim como, uma elevação considerável na concentração da parte radicular e foliar, o que indica a remoção do Pb⁺² pela planta. Em ambas as fases a o processo é contínuo, porém a uma menor taxa ao longo do tempo, quando comparado com os valores iniciais.

4.5 BALANÇO DE MASSA

Para a realização do experimento cinético, foram admitidos como condição inicial de cultivo o valor de 1,3 mg L⁻¹ de íons Pb⁺², desta forma, a massa de Pb⁺², em cada réplica considerando 5 L de solução de cultivo, foi de 6,52 mg. Na Tabela 4.5 são expressas as massas de Pb⁺² retidas nas raízes e folhas, corrigidas pela Equação 4.5 em função da eliminação da umidade na secagem, seguida da diluição realizada durante a etapa de digestão, e na água de cultivo, ambas obtidas através da análise direta das amostras por SR-TXRF.

$$M_{Pb}(t) = C_A \times F_D \times M_S \cdot \frac{F_u}{M_T}$$

Equação 4.5 – Cálculo da massa total de Pb nas raízes e folhas

Sendo $M_{Pb}(t)$ a Massa de Pb^{+2} corrigida ($mg\ g^{-1}$); C_A a Concentração obtida através da área e sensibilidade relativa ($mg\ L^{-1}$); F_D o Fator de diluição na digestão (L/g); M_s a Massa seca total da amostra (g); F_u o Fator de umidade (% de água na biomassa); M_T a Biomassa total

Para melhor compreensão do balanço de massas representou-se os valores em termos de mg de Pb^{+2} na fase fluida, nas raízes e folhas.

Tabela 4.5- Massa de Pb^{+2} na água de cultivo e nas raízes e folhas planta obtidas experimentalmente

T (d)	Solução (mg)	Raízes (mg)	Folhas (mg)
0	$6,52 \pm 0,40$	$0,0100 \pm 0,0005$	$0,000 \pm 0,001$
1	$2,89 \pm 0,15$	$1,77 \pm 0,02$	$0,120 \pm 0,004$
2	$3,24 \pm 0,50$	$1,62 \pm 0,03$	$0,180 \pm 0,002$
4	$2,55 \pm 0,25$	$2,08 \pm 0,05$	$0,190 \pm 0,003$
12	$1,68 \pm 0,20$	$3,61 \pm 0,21$	$0,400 \pm 0,010$
21	$0,81 \pm 0,25$	$4,06 \pm 0,11$	$0,420 \pm 0,005$
35	$1,36 \pm 0,35$	$4,21 \pm 0,28$	$0,780 \pm 0,010$

Na Figura 4.7 é apresentado o balanço de massas relacionados as concentrações remanescentes na solução, a bioacumulada nas partes aéreas e radiculares e as perdas e/ou indisponíveis ao longo do tempo de experimento.

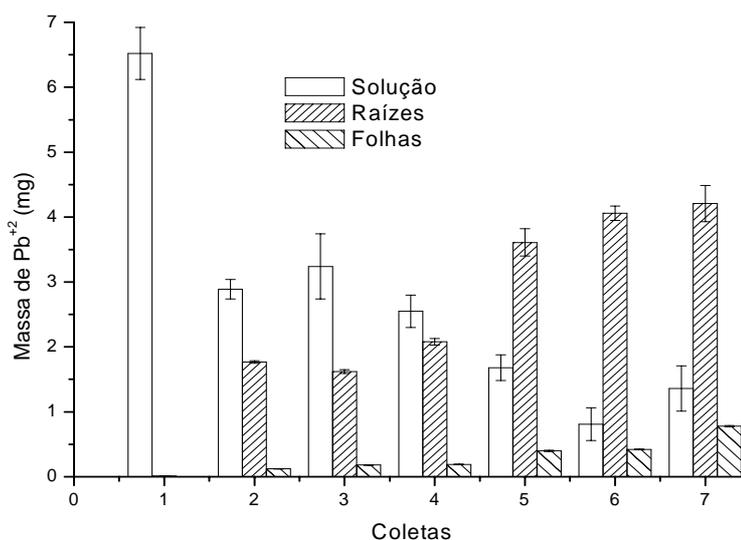


Figura 4.7 – Massa de Pb^{+2} na fase fluida, nas raízes e nas folhas

A massa total de Pb^{+2} em cada coleta foi calculada pela equação 4.6.

$$M_{\text{Pb total}} = (C(t) \times V) + (C_R \times M_R) + C_F \times M_F$$

Equação 4.6 – Cálculo da quantidade total de Pb^{+2} em cada coleta

Onde $M_{\text{Pb total}}$ é massa total de íons Pb^{+2} por coleta (mg); $C(t)$ a concentração na fase líquida ao longo do tempo (mg L^{-1}); V o volume da solução (L); C_R a concentração nas raízes (mg g^{-1}); M_R a biomassa de Raízes (g); C_F a concentração nas folhas (mg g^{-1}) e M_F a biomassa de folhas (g)

Analisando os dados das concentrações de Pb^{+2} , retidas nas raízes, na parte foliar e pelo balanço de massa, constatou-se que a concentração inicial de $1,3 \text{ mg L}^{-1}$ de íons Pb^{+2} foi respeitada, uma vez que em nenhuma das coletas a soma das massas da fase fluida de da planta ultrapassou $6,52 \text{ mg}$.

O fato de haver discrepâncias entre os valores inicial e das demais coletas que comprometem o fechamento total do balanço de massa pode ser devido as ocorrências de adsorção do metal nas paredes do recipiente, as reações entre o metal e os componentes da solução nutritiva, levando a uma possível precipitação do metal, e ao desprendimento de pequenos fragmentos de raízes durante o período experimental que podem ter absorvido metal.

Tais ocorrências não foram levadas em consideração no cálculo da massa total de Pb e que podem explicar a falta ou perda de metal.

4.6 BIOACUMULAÇÃO DE Pb^{+2}

Para compreensão do mecanismo de bioacumulação são necessários o desenvolvimento de modelos fenomenológicos, que neste caso foram obtidos a partir de balanços de massa no sistema.

O balanço de massa do íons Pb^{+2} na planta resulta na Equação 4.7.

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

Equação 4.7 - Dependência temporal da taxa de remoção de metal com a biomassa viva e a quantidade de sítios disponíveis nela.

O balanço de massa global do sistema é representado pela Equação 4.6.

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

Equação 4.8 - Balanço de massa entre a fase aquosa (solução nutritiva) e a sólida (biomassa).

Sendo $m(t)$ a massa úmida da macrófitas aquática no tempo t (g); C_0 a concentração média de Pb^{+2} na água no tempo inicial ($mg L^{-1}$); V o volume da fase líquida (L). Diferenciando-se Equação 4.6 e combinando com a Equação 4.5 obtém-se a Equação 4.9.

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

Equação 4.9 - Dependência da taxa de adsorção de metal com a biomassa e taxa de perda de concentração de metal na fase fluida

Os resultados apresentados na Tabela 4.2 mostraram que a massa da macrófitas modificou-se consideravelmente durante a realização do experimento, portanto, deve-se levar em consideração este efeito na remoção do Pb^{+2} pela planta, para isto foi ajustado um polinômio de grau 3 conforme a Figura 4.8 e a Equação 4.10. Deve-se ressaltar que para a modelagem da taxa de crescimento da macrófitas foi empregado um modelo empírico devido ao grande número de variáveis que estão envolvidos no crescimento da planta, dentre eles: luminosidade, concentração de nutrientes, temperatura, etc.

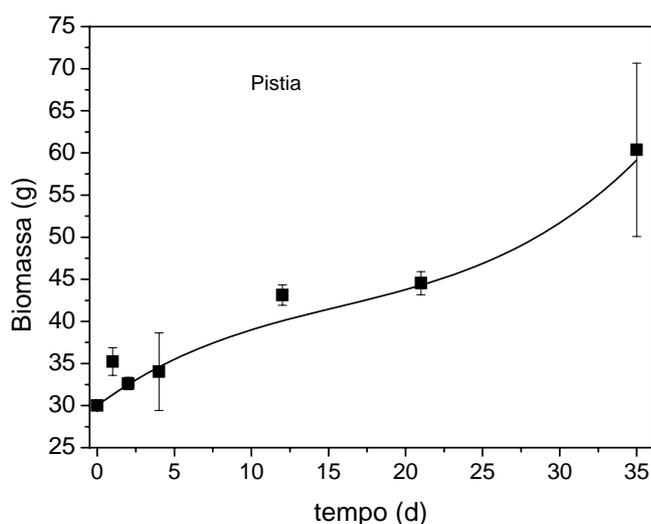


Figura 4.8 – Biomassa experimental ajustada ao polinômio de ordem 3

$$m(t) = 30,16 + 1,755t - 0,094t^2 + 0,002t^3$$

Equação 4.10 – Biomassa ajustada a um polinômio de ordem 3

A partir dos dados apresentados na Tabela 4.5, onde são apresentadas as concentrações da fase fluida (C(t)), a biomassa (m(t)) e a quantidade de metal por massa de planta (q(t)) obtida pela Equação 4.8, analisou-se o comportamento cinético da quantidade de metal presente na solução de cultivo e na planta ao longo do tempo empregando diferentes modelos cinéticos, modelo de Langmuir Reversível (subseção 4.6.1), Langmuir Irreversível (subseção 4.6.2), Modelo de Pseudo-primeira Ordem (subseção 4.6.3), e modelo de Pseudo-segunda Ordem (subseção 4.6.4), descritos a seguir.

Tabela 4.6 - Concentrações de Pb⁺² ao longo do tempo

T (d)	C(t) (mg L ⁻¹)	m(t) (g)	q(t) (mg g ⁻¹)
0	1,3±0,08	32,3±0,9	0,00±0,01
1	0,6±0,03	35,2±1,6	0,10±0,05
2	0,7±0,10	32,6±0,7	0,10±0,04
4	0,5±0,05	34,0±4,6	0,12±0,02
12	0,3±0,04	43,1±1,2	0,13±0,01
21	0,2±0,05	44,5±1,4	0,13±0,02
35	0,3±0,07	60,4±10,3	0,09±0,03

4.6.1 Modelo de Langmuir Reversível

Este modelo válida para adsorção em monocamada numa superfície que contém um número finito de sítios idênticos de adsorção (McKay, Blair & Gardner, 1982). O modelo assume energia de adsorção sobre a superfície uniforme e nenhuma transmigração do adsorbato sobre a superfície, sendo assim, quando são admitidas a remoção e a devolução parcial do adsorbato ao meio, este modelo é descrito matematicamente pela Equação 4.11 (DORNELLAS, 2000).

$$r(t) = k_a C(t)[q_{\max} - q(t)] - k_b C(t)$$

Equação 4.11 – Modelo cinético de Langmuir Reversível

Sendo $r(t)$ a taxa de bioacumulação de Pb^{+2} pela macrófita no tempo t ($mg\ g^{-1}\ d^{-1}$); $C(t)$ a concentração média na água no tempo t ($mg\ L^{-1}$); $q(t)$ a quantidade de Pb^{+2} acumulado por grama de macrófita ($mg\ g^{-1}$) no tempo t e q_{\max} quantidade máxima de Pb^{+2} acumulado por grama de macrófita ($mg\ g^{-1}$); k_a a taxa constante de bioacumulação ($L\ d^{-1}\ m\ g^{-1}$ na água) e k_b a taxa de devolução do metal ao meio de cultivo ($L\ d^{-1}\ m\ g^{-1}$ na água).

4.6.2 Modelo de Langmuir Irreversível

Embora derivada para explicar situações de adsorção reversíveis, o Modelo de Langmuir pode refletir adequadamente sistema de adsorção irreversível e está caracterizada pela formação de monocamada que indica a capacidade de saturação (KO et al., 2001).

O modelo da cinética irreversível de Langmuir, segundo Gomes (2000), usado para representar a taxa de bioacumulação de Pb^{+2} pela macrófita aquática *Pistia stratiotes* é expresso matematicamente pela Equação 4.12.

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

Equação 4.12 - Modelo cinético de Langmuir Irreversível

Sendo $r(t)$ a taxa de bioacumulação de Pb^{+2} pela macrófita no tempo t ($mg\ g^{-1}\ d^{-1}$); $C(t)$ a concentração média na água no tempo t ($mg\ L^{-1}$); $q(t)$ a quantidade de Pb^{+2} acumulado por grama de macrófita ($mg\ g^{-1}$) no tempo t e q_{\max} quantidade máxima de Pb^{+2} acumulado por grama de macrófita ($mg\ g^{-1}$); k_a a taxa constante de bioacumulação ($L\ d^{-1}\ mg^{-1}$ na água).

4.6.3 Modelo de Pseudo-primeira Ordem

O modelo de Lagergren foi o primeiro a ser desenvolvido para um processo de sorção de um sistema sólido-líquido. Este é o mais utilizado para determinar a taxa de sorção de um soluto em uma solução líquida, podendo ser representado pela Equação 4.13 (AKSU, 2001).

$$r(t) = k_1 [q_{\max} - q(t)]$$

Equação 4.13– Modelo cinético de remoção Pseudo-primeira Ordem

Sendo $q(t)$ a quantidade de Pb^{+2} acumulado por grama de macrófita ($mg\ g^{-1}$) no tempo t ; q_{\max} a quantidade máxima de Pb^{+2} acumulado por grama de macrófita ($mg\ g^{-1}$) e k_1 é a constante de velocidade da reação de pseudo-primeira ordem (d^{-1})

4.6.4 Modelo de Pseudo-segunda Ordem

O modelo de Pseudo-segunda Ordem baseia-se também na capacidade de sorção do sorvente e expresso pela equação 4.14 (AKSU, 2001).

$$r(t) = k_2 (q_{\max} - q(t))^2$$

Equação 4.14 - Modelo de Pseudo-segunda Ordem

Sendo $q(t)$ a quantidade de Pb^{+2} acumulado por grama de macrófita ($mg\ g^{-1}$) no tempo t ; q_{\max} a quantidade máxima de Pb^{+2} acumulado por grama de macrófita ($mg\ g^{-1}$) e k_2 a constante de velocidade de reação de pseudo-segunda ordem ($g\ mg^{-1}\ Pb\ d$).

Para cada modelo testado (modelo de Langmuir Reversível, Langmuir Irreversível, Modelo de Pseudo-primeira Ordem, modelo de Pseudo-segunda Ordem), exceto do Maine, obtém-se um sistema de equações algébrico/diferenciais, apresentado pelas Equações 4.5, 4.7, 4.8 e pelo modelo cinético correspondente.

Por exemplo, para o modelo cinético de Langmuir reversível obtém-se o seguinte sistema de equações:

$$\left\{ \begin{array}{l} r(t) = k_a C(t)[q_{\max} - q(t)] - k_b C(t) \\ m(t) \cdot \frac{dq}{dt} + q \cdot \frac{dm}{dt} = m \cdot r(t) \\ V \frac{dC}{dt} = m(t)r(t) \\ m(t) = 30,16 + 1,755t - 0,094t^2 + 0,002t^3 \end{array} \right.$$

Equação 4.15 – Sistema de Equações algébrico/diferenciais que representam o modelo cinético reversível de Langmuir

Com as seguintes condições iniciais: $t=0$; $m=m_0$; $q=0$ e $C=C_0$.

Os sistemas de equações obtidos para cada um dos modelos cinéticos testados foram resolvidos usando a sub-rotina DASSL code (Differential Algebraic System Solver) desenvolvido por (PETZOLD, 1982), codificado em FORTRAN. Esta sub-rotina resolve sistemas de equações algébricas/diferenciais e utiliza fórmulas de diferenciação para trás para o cálculo das derivadas no tempo.

Os parâmetros dos modelos cinéticos $\theta = (q_{\max}, k_a, k_b)$ referentes ao modelo de Langmuir reversível, $\theta = (q_{\max}, k_a)$ referentes ao modelo de Langmuir irreversível, $\theta = (q_{\max}, k_1)$ do modelo pseudo primeira ordem, $\theta = (q_{\max}, k_2)$ do modelo pseudo segunda ordem, foram estimados empregando o método de otimização SIMPLEX, desenvolvido por NELDER & MEAD (1965), também foi aplicado para minimizar a função objetivo, descrita pela Equação 4.16.

$$F = \sum_{i=1}^N (C_{\text{exp},i} - C_{\text{mod},i}(\theta))^2$$

Equação 4.16 – Função objetivo na otimização dos parâmetros cinéticos de Langmuir.

Sendo N o um número total de coletas, incluindo o branco experimental no tempo zero; C^{EXP} a concentração de metal medida na solução aquosa de crescimento, determinada experimentalmente; C^{MOD} a concentração calculada pelo modelo.

Os parâmetros cinéticos estimados pelo emprego da Equação 4.16 referentes ao modelo de cinética reversível de Langmuir, bem como os valores da função objetivo e do coeficiente de correlação estão apresentados na Tabela 4.6. O valor do

parâmetro k_a do modelo foi de uma ordem de grandeza de 7 para 1 em relação a k_b , portanto, isto mostra que este termo referente a dessorção é significativa e deve ser levada em conta na modelagem.

Tabela 4.7 – Parâmetros cinéticos de remoção do Pb^{+2} ao longo do tempo pelo modelo de Langmuir Reversível e análise estatística dos dados

Parâmetros cinéticos	
q_{max} ($mg\ g^{-1}$)	0,21
K_a ($L\ d^{-1}\ mg^{-1}$)	0,70
K_b (d^{-1})	0,11
Parâmetros estatísticos	
R^2	0,91
Função Objetivo	0,57

A cinética de bioacumulação, segundo o modelo de Langmuir reversível, bem como os dados experimentais referentes a concentração do Pb^{+2} na solução e na macrófita são apresentados nas Figuras 4.8 e 4.9, respectivamente.

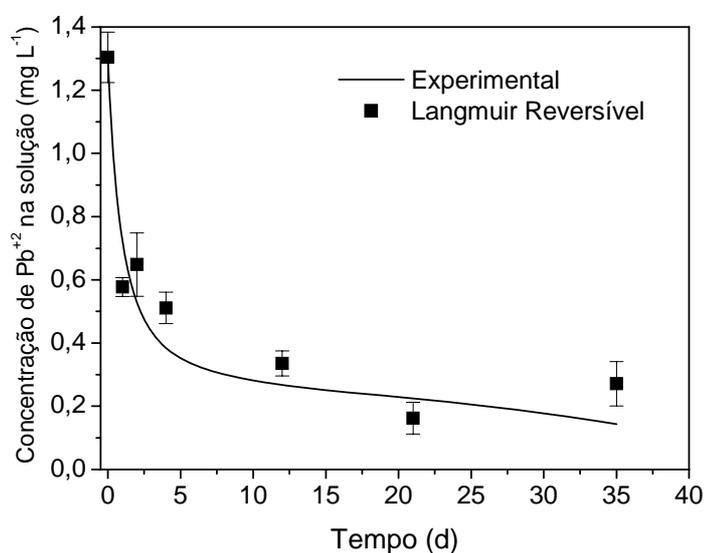


Figura 4.9 – Cinética da remoção de Pb^{+2} ao longo do tempo pela macrófita *Pistia stratiotes* segundo o modelo de Langmuir Reversível e os dados experimentais

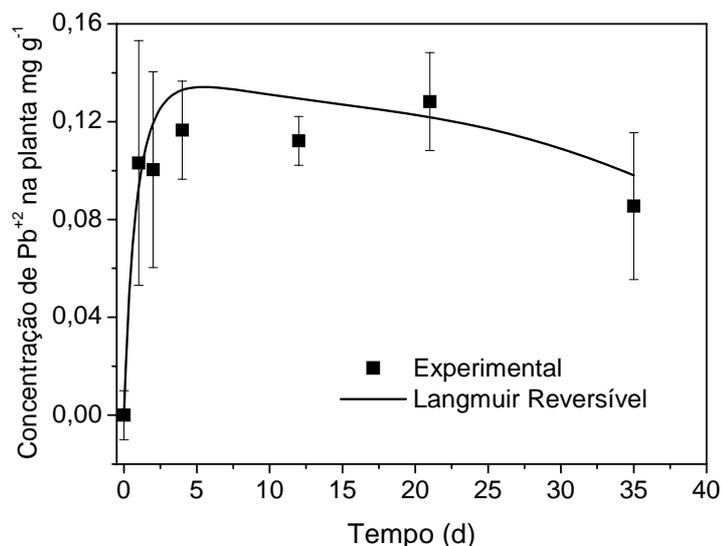


Figura 4.10 – Acúmulo de íons Pb^{+2} na macrófita ao longo do tempo pelo modelo de Langmuir Reversível e os dados experimentais

Neste modelo admite-se que ocorram mecanismos de devolução de íons Pb^{+2} para a fase líquida o que explicaria possíveis oscilações nas concentrações.

Na Tabela 4.7 são apresentados os parâmetros cinéticos e estatísticos referentes ao modelo da cinética irreversível de Langmuir.

Tabela 4.8 – Parâmetros cinéticos de remoção do Pb^{+2} ao longo do tempo pelo modelo de Langmuir Irreversível e análise estatística dos dados

Parâmetros cinéticos	
q_{max} ($mg\ g^{-1}$)	0,13
K_a ($L\ d^{-1}\ mg^{-1}$)	0,12
Parâmetros estatísticos	
R^2	0,89
Função Objetivo	0,97

Os resultados obtidos com o modelo irreversível de Langmuir e os dados experimentais da concentração do Pb^{+2} são apresentados nas Figuras 4.10 e 4.11.

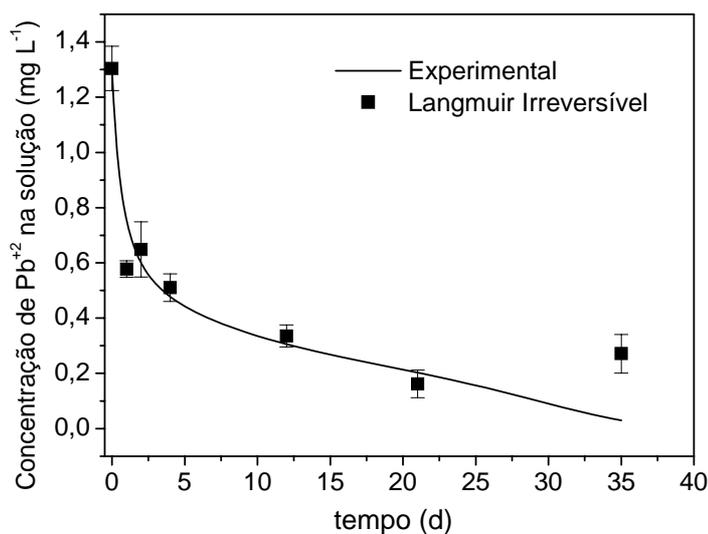


Figura 4.11 – Cinética da remoção de Pb^{+2} ao longo do tempo pela macrófita *Pistia stratiotes* segundo o modelo de Langmuir Irreversível e os dados experimentais

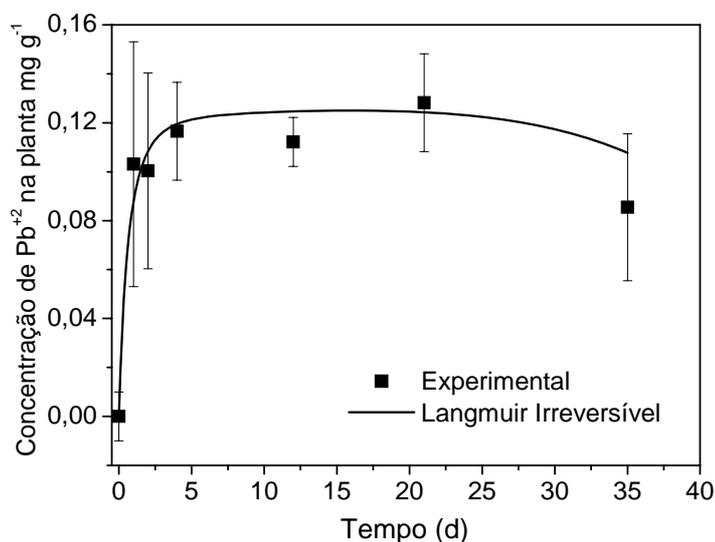


Figura 4.12 – Acúmulo de íons Pb^{+2} na macrófita ao longo do tempo pelo modelo de Langmuir Irreversível e os dados experimentais

Neste modelo cinético assume-se que exista um número finito de sítios, os quais são homogeneamente distribuídos sobre a superfície do bioissorvente. Este modelo não descreveu apropriadamente a parte final da cinética de bioacumulação do íon Pb^{+2} , neste período houve um crescimento acentuado da biomassa, conforme pode ser visto na Figura 4.7. Na Tabela 4.8 são apresentados os parâmetros cinéticos e estatísticos do modelo cinético de pseudo-primeira ordem.

Tabela 4.9 – PARÂMETROS cinéticos de remoção do íon Pb^{+2} ao longo do tempo pelo modelo de Pseudo-primeira Ordem e análise estatística dos dados

Parâmetros cinéticos	
q_{max} ($mg\ g^{-1}$)	0,11
K_a (d^{-1})	0,22
Parâmetros estatísticos	
R^2	0,85
Função Objetivo	2,08

Nas Figuras 4.12 e 4.13 representam-se o comportamento cinético do modelo de Pseudo-primeira Ordem e dos dados experimentais da concentração do íon Pb^{+2} na solução e na macrófita, respectivamente.

De forma análoga, ao modelo de Langmuir, o modelo de pseudo-primeira ordem não conseguiu representar bem a parte final da cinética de bioacumulação do íon Pb^{+2} pela macrófita.

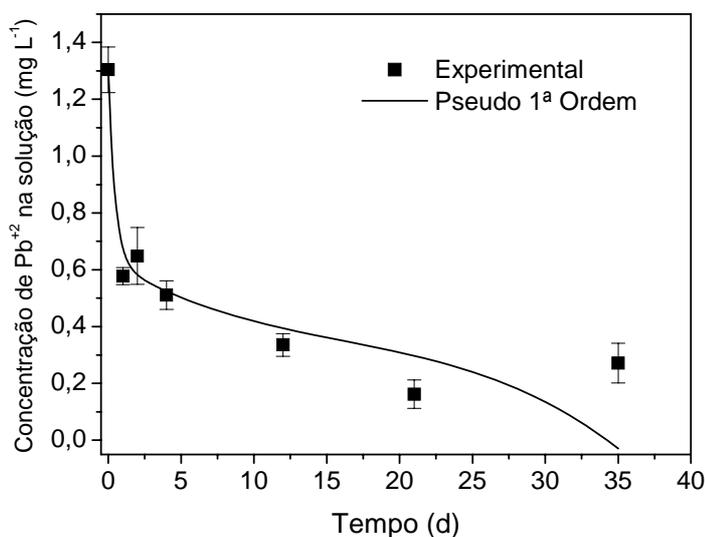


Figura 4.13 – Cinética da remoção de íons Pb^{+2} ao longo do tempo pela macrófita *Pistia stratiotes* segundo o modelo de Pseudo-primeira Ordem e os dados experimentais

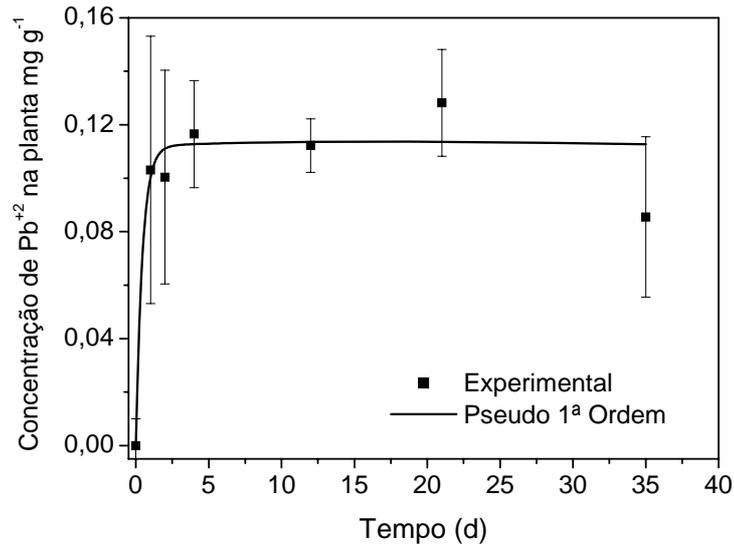


Figura 4.14 – Acúmulo de íons Pb²⁺ na macrófita ao longo do tempo pelo modelo de Pseudo-primeira Ordem e os dados experimentais

Os parâmetros estimados e análise estatística do modelo de pseudo-segunda ordem são apresentados na Tabela 4.9.

Tabela 4.10 – Parâmetros cinéticos de remoção do Pb²⁺ ao longo do tempo pelo modelo de Pseudo-segunda Ordem e análise estatística dos dados

Parâmetros cinéticos	
q_{\max} (mg g ⁻¹)	0,12
K_a (d ⁻¹)	0,22
Parâmetros estatísticos	
R^2	0,85
Função Objetivo	1,76

As Figuras 4.14 e 4.15 representam-se o comportamento cinético do modelo de pseudo-segunda ordem e os dados experimentais da concentração do íon Pb²⁺ na solução e na macrófita.

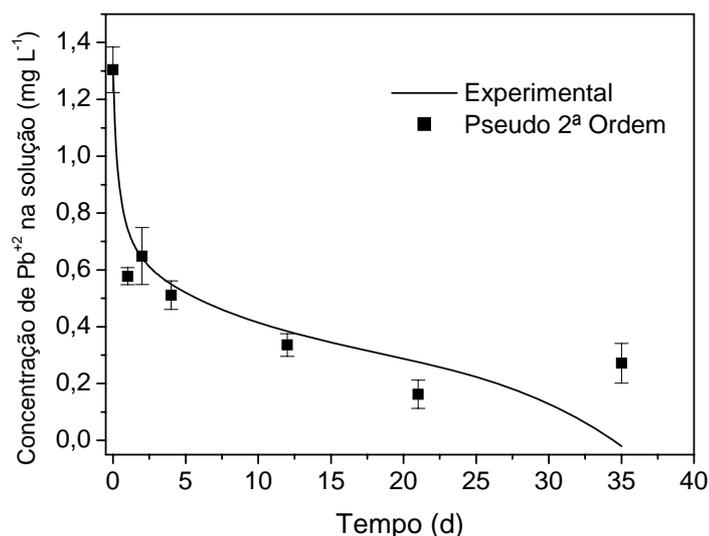


Figura 4.15 – Cinética da remoção de Pb⁺² ao longo do tempo pela macrófita *Pistia stratiotes* segundo o modelo de Pseudo-segunda Ordem e os dados experimentais

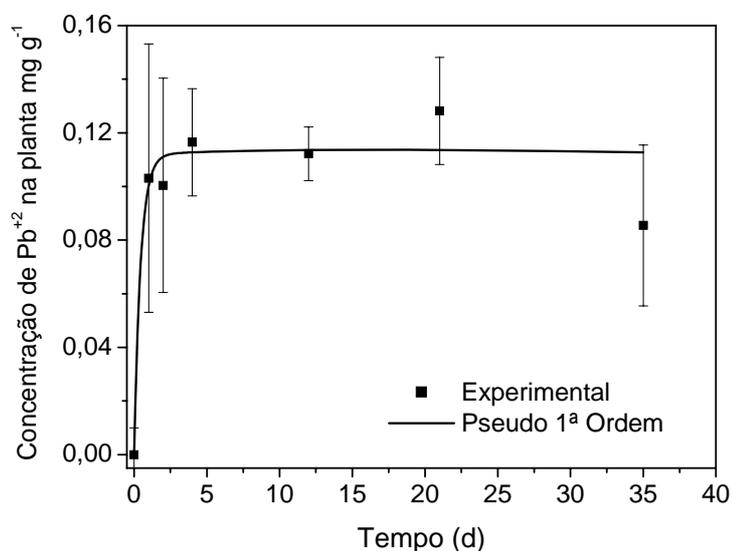


Figura 4.16 – Acúmulo de íons Pb⁺² na macrófita ao longo do tempo pelo modelo de Pseudo-segunda Ordem e os dados experimentais

De forma análoga, aos modelos de Langmuir e de Pseudo-primeira Ordem, o modelo de Pseudo-segunda Ordem não ajustou bem a parte final da cinética de bioacumulação do íon Pb⁺² pela macrófita.

Analisando-se os dados experimentais observa-se que a maior parte da remoção dos íons Pb⁺² ocorre nas primeiras 24 horas pelo processo de bioacumulação. Após isto, tende a aumentar de forma contínua, à uma menor taxa baseado na bioacumulação, o que pode ser considerado, uma vez que admite-se a saturação superficial pela bioacumulação como um processo rápido durante um determinado

período até que ocorra a liberação ou aumento no número de sítios em função da bioacumulação via metabolismo ou pelo crescimento vegetal da biomassa, ocorrendo assim, o transporte de Pb^{+2} para a parte foliar.

Os modelos de Pseudo-primeira e segunda ordem não apresentaram ajustes satisfatórios uma vez que representaram bem a parte final da cinética de remoção.

A quantidade máxima de íons Pb^{+2} bioacumulada por grama de macrófita (q_{max}) obtida pelos modelos não apresentaram grandes variações quando comparadas entre si, todavia são menores que aqueles verificados por ESPOSITO (2001) ($295,81 \text{ mg g}^{-1}$) num experimento de remoção de Cd^{+2} usando a biomassa seca de *Cocus nucifera*.

Considerada a umidade de 93,97% na biomassa total de *Pistia stratiotes* o valor de q_{max} corrigido para este tipo de massa, segundo o modelo de Langmuir Reversível, é de $2,16 \text{ mg de } Pb^{+2}$ por grama em massa seca da macrófita.

Através deste estudo constatou-se que o modelo que melhor descreve a cinética de bioacumulação do íon Pb^{+2} pela macrófita aquática estudada é o modelo de Langmuir reversível. Neste modelo é admitida a devolução do Pb^{+2} a fase fluida. Uma vez que no processo podem existir mecanismos cujos princípios se baseiam em uma maior afinidade e/ou seletividade dos sítios com outros íons de maior importância para o metabolismo (macro e micronutrientes), além disto, a decomposição de algumas estruturas da planta na solução durante seu desenvolvimento, tais como as raízes, também podem contribuir com tal retorno.

Schmitt et al. (2001) empregaram o modelo da cinética de Langmuir para representar a remoção de metais (Al, Zn, Hg, Cu, Cr, Pb) por microalgas vivas em todos os casos investigados o modelo representou apropriadamente os dados experimentais. Deve-se destacar que na modelagem os autores consideraram que a massa das algas é constante, neste caso é possível obter uma solução analítica.

Na modelagem utilizada neste trabalho considerou-se que a variação da biomassa com o tempo que foi ajustado por um polinômio, conforme a Figura 4.7 e a Equação 4.8. Além disso, os autores definiram a taxa de adsorção em função da concentração da fase fluida, esta abordagem não é apropriada, pois a remoção do metal ocorre devido a bioacumulação na planta, portanto, deve-se definir a taxa de remoção em função da concentração do metal na macrófita.

Na maioria dos ensaios visando a remoção de espécimes metálicas pela biomassa, o processo mais comum consiste na utilização da matéria seca, havendo dessa forma poucos trabalhos de remoção de metais usando biomassa viva.

Neste estudo aplicaram-se plantas vivas, que ao longo do tempo alteram sua biomassa e estão sujeitas à variáveis não controláveis, como é o caso da temperatura, incidência solar, efeito tóxico do metal, entre outros fatores, o que reforça a necessidade do ajuste da biomassa para a compreensão do processo.

Baseado nos resultados obtidos neste estudo e na literatura ressalta-se que o mecanismo predominante na remoção do metal pelas plantas aquáticas vivas, após a etapa rápida, foi a bioacumulação, pois valores altos da constante da cinética de adsorção são associados com processos de biossorção.

5 CONCLUSÕES

Dos testes toxicológicos, a plantas aquática estudada mostrou uma boa resistência para longos período de experimentação à concentrações menores que três miligramas por litro do íon chumbo.

Mesmo sob variações climáticas de temperatura e insolação devidas à mudança de estação, a planta respondeu satisfatoriamente ao experimento apresentado ganho de biomassa e aspecto físico adequado aos ensaios de remoção do metal em estudo.

A análise por SR-TXRF mostrou-se muito eficiente na detecção das concentrações do metal em estudo. A adição de um padrão interno à todas as amostras tem permitido atingir resultados muito confiáveis, pois muitos erros sistemáticos experimentais têm sido contornados ou excluídos. O levantamento de curvas de sensibilidade ou rendimento elementar de cada instrumental, com boa precisão e acurácia, têm garantido também confiabilidade aos resultados experimentais.

Alem disso, a técnica permite a detecção simultânea de vários elementos, aspecto este fundamental nos estudos de amostras contendo multimetals ou mesmo na verificação da absorção dos nutrientes.

As verificações dos teores acumulados de íons chumbo mostraram a capacidade da macrófita aquática em remover, além dos nutrientes necessários para sobrevivência, elementos não essenciais e tóxicos, tal como o metal em estudo, o que confirma a sua potencialidade e aplicabilidade.

Dos parâmetros da cinética de remoção do íon Pb^{+2} em todos os modelos testados foi observada que a taxa de remoção é rápida nos primeiros dias, tornando-se lenta ao longo do tempo, confirmando que os principais mecanismos de remoção pelas macrófitas são inicialmente a biosorção, até a saturação dos sítios na parte radicular, e posteriormente a bioacumulação através do transporte dos íons chumbo para a parte aérea por meio do metabolismo.

Dos modelos matemáticos empregados para a interpretação dos resultados experimentais, todos apresentaram ajustes aceitáveis, com R^2 na faixa de 0,85 a 0,91. O modelo de Langmuir Reversível foi o que apresentou melhor representação.

Em linhas gerais, a macrófita *Pistia stratiotes*, quando aplicada *in natura* pode ser considerada uma boa alternativa na remoção de metais por biosorção/bioacumulação sendo uma opção para tratamento de efluentes. A macrófita foi resistente no nível de concentração investigado e conseguiu remover boa parte do Pb^{+2} presente na fase fluida, ocorrendo a maior remoção nos primeiros dias de experimento.

Portanto, elas devem ser consideradas como um processo alternativo viável pelo menos em estágios intermediários ou finais visando a remoção complementar ou residual (baixas concentrações) de íons chumbo em sistemas de tratamentos para águas residuárias.

6 SUGESTÕES

Os efluentes contendo metais pesados possuem como características a grande variabilidade no que se refere aos tipos de íons metálicos existentes, geralmente em elevadas concentrações, sendo estes dependentes dos tipos de processo do qual provem o resíduo.

Assim, a simulação desta característica também se faz importante no estudo do potencial fitorremediador da macrófita *Pistia stratiotes*. O uso de uma solução contendo espécies metálicas com caráter multicomponente seria interessante do ponto de vista da verificação da especificidade da planta ou da própria possibilidade de competição nos sítios, o que ampliaria aplicabilidade da técnica de fitorremediação.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIGINGER, H.; WOBRAUSCHEK P. Total reflectance X-ray spectrometry. *Adv. X-Ray Anal*, v.28. p. 1, 1985.

AKHTAR, N. Removal and recovery of nickel (II) from aqueous solution by loofa sponge-immobilized biomass of *Chlorella sorokiniana*: characterization studies, *Journal of Hazardous Materials*, v 108, p. 85-94, 2004.

AKSU, Z., GONEN, F. Biosorption of phenol by immobilized activated sludge in a continuous packed bed: prediction of breakthrough curves, *Process Biochem.*, p. 1-16, 2003.

AKSU, Z. Equilibrium and kinetic modeling of cadmium (II) biosorption by *C. Bulgaris* in a batch system: effect of temperature *Separation and Purification Technology* v. 21, p. 285–294, 2001.

ALDRICH, C.; FENG, D.; Removal of heavy metals from wastewater effluents by biosorptive flotation, *Minerals Engineering*, v. 13, p. 1129-1138, 2000.

ALESSANDRETTI, T.; RABELO, A. P. B.; SOLER, J. G. M. Comparação do potencial de remoção de metais pesados por meio de adsorção usando algas e aguapés. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. 2005.

AMORIM, W. B. de. Estudo do processo de dessorção do cromo hexavalente presente em algas marinhas provenientes do processo de adsorção. UNICAMP, 2000. Dissertação de Mestrado.

ANDERSON, T.A.; WALTON, B.T. Fate of 14 C trichloroethylene in the root zone of plants from a former solvent disposal site. *Environ.Toxicol.Chem.*, v.14, n.12, p. 2041-2047, 1993.

APHA - American Public Health Association. Standard Methods for the examination of water and wastewater, 19 ed. Washington: APHA, 1995.

ATKINSON, B.W.; BUX F. and KASAN H.C. Considerations for application of biosorption technology to remediate metal-contaminated industrial effluents. *Water S.A.* v. 24, p. 129-135, 1998.

AVERY, S. V.; TOBIN, J. M. Mechanism of Adsorption of Hard and Soft Metal Ions to *Saccharomyces cerevisiae* and Influence of Hard and Soft Anions. *Applied and Environmental Microbiology* ,v. 59 , No 9. 1993-

AXTELL, N.R.; STERNBERG, S. P. K. and CLAUSSEN, K. Lead and nickel removal using *Microspora* and *Lemna minor*, *Bioresource Technology*, v. 89 p. 41-48, 2003.

BAIRD, C. Environmental chemistry, 2 ed. W.H. Freeman and Company, New York, EUA, p. 557.1999.

BLÁZQUEZ, G.; HERNÁINZ, F.; CALERO, M. and RUIZ-NÚÑEZ, L.F.. Removal of cadmium ions with olive stones: the effect of some parameters. *Process Biochemistry*. 2005.

BORBA, C. E. Modelagem da remoção de metais pesados em coluna de adsorção de leito fixo. UNICAMP, 2006. Dissertação de mestrado.

BOULDING J.R. EPA - Environmental Engineering Sourcebook. Edited by Boulding J.R. USA. p. 404, 2004

BOUMANS, P.; KLOCKENKÄMPER, R. Total reflection X-ray fluorescence spectrometry. *Spectrochimica Acta*. v. 44B. p. 433-549., 1989.

BRADY J. E.; Humiston G.E. Química Geral. 2ª ed Livros Técnicos e Científicos, RJ, Volume 1, 1986.

BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. A.. Manual de Tratamento de águas residuárias industriais . CETESB, 1993.

BRANCO, S. M. Água origem. Uso e preservação. São Paulo: Moderna. 3ª edição. 71 p.1993.

BRASIL, Resolução CONAMA nº357, de 17 de março de 2005. Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional. Publicado no D.O.U. Brasília. DF

BROOKS, R. R. Phytoremediation by volatilisation. In Brooks, R.R, Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals, CAB International, Walling-ford, p.289. 1998.

CAMPOS, M. A. Metais Pesados e seus efeitos. Disponível *on line em* http://www.mundodoquimico.hpg.ig.com.br/metais_pesados_e_seus_efeitos.htm acesso em 25/03/07 21:14

CAZIÑARES, R. O.; Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomassa microbiana, *Revista Latinoamericana de Microbiología*, v. 42, p. 131-143, 2000.

CHEN, J. P.; YIACOUMI, S., Biosorption of metal ions from aqueous solutions, *Separation Science and Technology*, v. 32, p. 51-69, 1997.

CHURCHILL, S. A.; WALTERS J.V. and CHURCHILL P.F. Sorption of heavy metals by prepared bacterial cell surfaces. *J. Envir. Eng. , Vol 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.

CLARK, R.B. Effect of light and water stress on mineral element composition of plants. *J. Plant Nutrit.*, v.3, n.5, p.853-885, 1981.

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

COBBETT, C.; GOLDSBROUGH, P. Phytochelatins and Metallothioneins: Roles in Heavy Metal Detoxification and Homeostasis. *Annual Review of Plant Biology*, v. 53, p.159-182, 2002.

COSSICH, E. S. Biossorção de cromo (III) pela biomassa de alga marinha *Sargassum* sp., ampinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2000, 147 p. Tese de Doutorado.

COSTA, A. C. M.; ANJOS, M. J.; MOREIRA, S.; LOPES, R. T.; de JESUS, E. F. O. Analysis of mineral water from Brazil using total reflection X-ray. fluorescence by synchrotron radiation. *Spectrochimica Acta*. v. 58B. p. 2199-2204, 2003.

COTORAS, D.; Biosorción de metales pesados, *Induambiente*, v. 13(14), p. 27-29 1995. disponível em *on line* em www.biohidrica.cl/biohidrica_NPublicación02.htm, acesso em 10/05/2007.

CUNNINGHAM, S. D.; ANDERSON, T. A.; SCHWAB, A. P. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv. Agron.*, v. 56, p. 55-114, 1996.

DABROWSKI, A. Adsorption from theory to practice. *Advances in Colloid and Interface Science* v. 93, p. 135-224, 2001.

DE PINHO, A. G.; MONTENEGRO, E. C.; BARROS LEITE, C. V.; BAPTISTA, G. B.; PASCHOA, A. S. Potencialidade e Possíveis Aplicações de um novo método analítico (PIXE). *Na. Acad. Brasil. Cienc.* v. 51, p. 365 – 393, 1979.

DORNELLAS, M.A.; et al.; Remoção de metais em água utilizando diversos adsorventes, *Revista Tecnológica, Ed especial*, p.65-72, 2000.

ECKENFELDER W. *Industrial water pollution control*. 2 ed., 1989.

EPA. Technology Alternatives for the Remediation of Soils Contaminated with As, Cd, Cr, Hg, and Pb. *Engineering Bulletin*. EPA, USA, august, p. 21. 1997

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

ESAU, K. *Anatomia das plantas com semente*. USP. p 293. 1974.

ESPOSITO, A.; PAGNANELLI, F.; LODI, A.; SOLISIO, C. AND VEGLIÒ, F.; Biosorption of heavy metals by *Sphaerotilus natans*: an equilibrium study at different pH and biomass concentration, *Hydrometallurgy*, v. 60 p. 129-141, 2001.

ESTEVEES, F. A. *Fundamentos de Limnologia*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência. 1998.

Exposição Ambiental ao Chumbo: Um Problema Global. *Bulletin of The World Health Organization*, 78, 2000.

FRITIOFF, A.; GREGER, M. Uptake and distribuitn of Zn, Cu, Cd, and Pb in aquatic plant *Potamogeton natans*. *Chemosphere*, v.63. 220-227.2006.

FURLANI, A.M.C. Absorção de nutrientes pelas plantas In: Curso de atualização em nutrição mineral de plantas perenes. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. p.2-13. resumos.

GADD, G. M. Biosorption. Chemistry & industry, v.2, p.421-426, 1990.

GARBISU, C.; ITZIAR, A. Phytoextraction: a cost-effective plantbased technology for the removal of metals from the environment, Bioresource Technology, Volume 77, Issue 3, May 2001. 229-236 p.

GARDEA-TORRESDAY, J. L. Effect of Chemical Modification of Algal Carboxil Groups on Metal Ion Binding. Environmental Science Technology. v.24 , No 9. 1990.

GATES, D. M. Transpiration and leaf temperature. Ann. Rev. Plant Physiol., v.19, p.211-238, 1968.

GLASS, D. J The 1998 United States Market for Phytoremediation, D. Glass Associates, Needham, p.139. 1998.

GIRARDI, F., PAULY, J.; SABBIONI, E.; VOS, G. Elemental analysis of a biological standard reference material by non-destructive methods. In: IAEA, ed. – Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences. Viena, p. 229, 1967.

GOMES, L.M.B. Remoção do cádmio de soluções aquosas utilizando fibra de coco da baía visando o tratamento de efluentes. UFRJ, 2000. Tese de Doutorado.

GRANATO, M. Utilização do aguapé no tratamento de efluentes com cianetos. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq, Série Tecnologia Ambiental, n. 5 p. 1-39, 1995.

GRILL, E.; WINNACKER, E. AND ZENK, M. H. Phytochelatins: the principal heavy-metal complexing peptides of higher plants, Science, 230 : 674-676, 1985.

GUNTENSPERGEN, G. R “Wetland vegetation”. Anais: 1st International Conference on Constructed Wetlands for Wastewater 5. Treatment, Chattanooga. Tennessee/USA, v. I. p. 73-88, 1988.

HAIDER, S. Z. Laboratory model experiments for the synthesis of some bio-inorganic complexes presumably involved in the metaluptake by water hyacinth, Conference on Water Hyacinth, 351-360,1983.

HINES, A. L., MADDOX, R. N., Mass Transfer: Fundamentals and Applications, Prentice-Hall PTR, New Jersey, p. 542, 1985.

HOMEM, E. M. Remoção de chumbo, níquel e zinco em zeólita utilizando sistema de leito fluidizado, Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2001, 112 p. Tese de Mestrado.

HO, Y.S.; CHIU, W.T.; HSU, C.S. and HUANG, C.T. Sorption of lead ions from aqueous solution using tree fern as a sorbent. Hydrometallurgy. 73, p. 55-61, 2004.

HOZHINA, E.I.; KHRAMOV, A.A.; GERASIMOV, P.A. and KUMARKOV A.A., Uptake of heavy metals, arsenic, and antimony by aquatic plants in the vicinity of ore mining and processing industries, *Journal of Geochemical Exploration*, 74: 153-162, 1999.

HÜSEYİN, B.; LALE, M. AND TÜRKER, R. Determination of Cu, Zn and Cd in water by FAAS after preconcentration by baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) immobilized on sepiolite. *Fresenius Journal Analytical Chemistry*. 363, p. 224–230, 1999.

IAEA - Radioisotope X-ray fluorescence Spectro-metry. Viena, International Atomic Energy Agency, Technical Reports series no.115, p.102, 1970.

IPCS, 1995. International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 165 for Inorganic Lead.

IYER, A.; MODY, K.; JHA, B. Biosorption of heavy metals by a marine bacterium. *Marine Pollution Bulletin*. 50, p. 340-343, 2005.

KAISER, W.M. Effect of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant*. v.71, p.142-149. 1987.

KEFALA, M.I.; ZOUBOULIS, A.I. and MATIS, K.A. Biosorption of cadmium ions by Actinomycetes and separation by Flotation. *Environmental pollution*.v.104, p. 283-293, 2005.

KLOCKENKÄMPER, R. Total reflection X-ray fluorescence spectrometry: principles and applications. *Spectr. Intern*.v. 2, p. 26, s/d.

KO, D.C.K.; PORTER, J.F.; MCKAY G. Film-pore diffusion model for the fixed bed sorption of copper and cadmium ions on to bone char, *Wat. Res.*, v.35, p. 3876-3886, 2001.

KRATOCHVIL, D.; VOLESKY, B.; DEMOPOULOS, G. Optimizing Cu removal/recovery in a biosorption column. *Water Resource*. v. 31, p. 2327-2339. 1997.

KUYUCAK, N. and VOLESKY, B. Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions. *Biotechnol Lett.*, v.10, n 2, p.137-142, 1988.

KYLE, D.J. and OHAD, I. The mechanism of inhibition in higher plants and green algae. In: STAEHELIN, L.A., ARNTZEN, C.J. (Eds.). *Encyclopedia of plant physiology*. Berlin, Springer-Verlag, v.19, p.468-475. 1987.

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

LARCHER, W. *Physiological plant ecology*. Berlin: Spring-Verlag, p. 252. 1975.

LEMAIRE, G. The physiology of grass growth under grazing:tissue turnover. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL. GOMIDE, J. A. (ed.). *Anais1997*, Viçosa, MG, p. 117-144. 1997.

LIMA, M.A. e VIEGAS, A. Fitorremediação. Série Fichas Temáticas 5 'Material Didático Multimédia de Genética e Biotecnologia Vegetal', p. 5. 2002.

LORA E.E.S. Prevenção e Controle da Poluição nos Setores Energético, Industrial e de Transporte. Ed Interciência, 2ªed. Rio de Janeiro 2002.

LOUKIDOU, M.X.; ZOUBOULIS, A.I.; KARAPANTSIOS, T.D. AND MATIS, K.A Equilibrium and kinetic modeling of chromium(VI) biosorption by *Aeromonas caviae*, Colloids and Surfaces A, v.242, p. 93-104, 2004.

LOW, K. S.; LEE, C. K., Removal of arsenic from solution by water hyacinth(*Eichhornia crassipes*). Ibid, 13(1): 129-131, 1990.

LUZ, A B. DA.; Tratamento de minérios, 3ra edição rev. e ampliada. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2002.

MACEDO, M.; Gestão ambiental empresarial, Pos-graduação em gestão ambiental, PUC; p 2-10, 2000.

MCGRATH, S.P. Phytoextraction for soil remediation. In Brooks, R. R, Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals, CAB International, Wallingford, p. 261, 1998.

MAINE, M. A.; DUARTE, M. V. and SUÑÉ, N. L., Cadmium Uptake by Floating Macrophytes, Water Research, v. 35 (11) p. 2629-2634, 2000.

MAINE, A. M.; SUÑE, N. L.; LAGGER, S. C. Chromium bioaccumulation: comparison of the capacity of two floating aquatic macrophytes. Water Research v. 38 p. 1494–1501. 2004.

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

MANAHAN, S. E. Environmental Chemistry. Michigan: Lewis Publishers, p. 583, 1991.

MARTINEZ, A. L.; DIAZ, J. Z.; CAÑIZARES, P. C. Equilíbrio de intercambio iônico em mezclas binárias: modelos para su caracterizacion. Anales de Química, v. 86, p. 875-885,1990.

MARTINS, A. P. L. Capacidade do *polygonum hydropiperoides* e *typha dominguensis* na fitorremediação de efluentes de tanques de piscicultura na região da bacia do Iraí. UFPR, 2005. Dissertação de Mestrado.

MASTERTON, W.L.; SLOWINSKI, E. J.; STANITSKI, C. L. Princípios de Química, 6 ed., Tradução Jossyl de Souza Peixoto, Editora Guanabara, p. 396-620; 1985.

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

MIRETZKY et al. Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina). Chemosphere. v. 54. 997-1005.2004.

MONSER, L.; ADHOUM, N. Modified activated carbon for the removal of cooper, zinc, chromium and cyanide from wastewater. Separation and Purification Technology. 26, p. 137-146, 2002.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta.*, v. 27, p. 31-36, 1962.

NELDER, J.A; MEAD. R.A. Simplex method for function minimization, *Comput. J.* 7 308–315. 1965.

OLIVEIRA, D. M.; CARA, D. V. C.; XAVIER, P. G.; SOBRAL, L. G. DOS; LIMA, R. DE B; ALMEIDA, A. L. DE. Fitorremediação: o estado da arte. Série Tecnologia Ambiental. CETEM / MCT. 2006.

OLIVEIRA, J. A., CAMBRAIA, J., CANO, M. A. O. e JORDÃO, C. P., Absorção e acúmulo de cádmio e seus efeitos sobre o crescimento relativo de plantas de aguapé e de salvinia, *R. Bras. Fisiol. Veg.*, v. 13, p. 329-241, 2001.

OLIVEIRA, R. W. M de, Avaliação da qualidade das águas do ribeirão Jacuba empregando a fluorescência de raios x por reflexão total com radiação Síncrotron (SR-TXRF). Campinas, SP, 2004.

PAGNANELLI, F.; TRIFONI, M.; BEOLCHINI, F.; ESPOSITO, A.; TORO, L. and VEGLIO, F.; Equilibrium biosorption studies in single and multimetal systems, *Process Biochemistry*, v. 37, p. 115-124, 2001.

PAGENKOPF, G.K. Introduction to Natural Water Chemistry, Environmental Science and Technology Series, Volume 3.1978.

PETZOLD, L.R., A description of DASSL: a differential/algebraic equation system solver, Livermore.STR, SAND 82-8637.1982

PEREIRA, E. S. Emprego da fluorescência de raios X por dispersão de energia na determinação de cromo (III) e cromo (IV) em águas naturais e residuárias. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Civil. Campinas. 1998. 89p. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). 1998.

PERKOVICH, B. S. Enhanced mineralization of [14C] atrazine in K. scoparia rhizosferic soil from a pesticidecontaminated site. *Pestic. Sci.*, v. 46, p. 391-396, 1996.

PROVIDENTI, M.A.; LEE, H.; TREVORS, J.T. "Selected Factors Limiting The Microbial Degradation of Recalcitrant Componds", *Journal of Industrial Microbiology*, vol. 12, p. 379-395, 1993.

PINO, G. A. H. Biossorção de Metais Pesados Utilizando Pó da Casca de Coco Verde (*Cocos nucifera*). Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. 2005. Dissertação de Mestrado.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A.; PROCÓPIO, S. O.; FERREIRA, L. R.; Seleção de planta com potencial para fitorremediação de Tebuthirion. *Planta Daninha*, Rio de Janeiro, v. 21, p. 451-458, 2003

QUIÑONEZ, F. R. E. Elementos traço na faixa de ppm até sub-ppb em amostras ambientais. Universidade Estadual do Oeste do Paraná.2007. Monografia

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *Biologia Vegetal*. Ed. Gunabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, p 906, 2001.

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

REED, B. E. and MATSUMOTO, M. R., Modeling cadmium adsorption by activated carbon using the Langmuir and Freundlich isotherm expressions, *Separation Science and Technology*, v. 28, n. 13&14, p. 2179-2195, 1993.

RUTHVEN, D. M. *Principles of adsorption and adsorption process*, John Wiley & Sons, New York, 1984, 432 p.

SALGADO, P. E. T. *Toxicologia dos metais*. In: OGA, S. *Fundamentos de toxicologia*. São Paulo, 1996. cap. 3.2, p. 154-172.

SALISBURY, F.B., ROSS, C. *Plant physiology*. Wadsworth Publishing Company, Inc., Belmont, California, p. 747. 1969.

SALT, D.E.; SMITH, R.D.; RASKIN I. *Phytoremediation*. *Annual Review of Plant Physiology. Plant Molecular Biology*, v. 49.p, 643-668, 1998

SANSONI, B. *Nuclear and Nuclear Related Analytical Techniques*. IAEA – Application of Conservation of the Environment. *Proceeding of a Isotopes and Radiation*. In: *Symposium*. Karlsruhe. Germany. 17, 1992.

SCHNEIDER, A. H.; MISRA, J.; RUBIO, M. and SMITH, R. W., *Eichhornia crassipes as Biosorbent for Heavy Metals Ions*, *Minerals Engineering*, 8 (9): 979-988, 1995.

SCHWENKE, H.; KNOTH, J.- A highly sensitive energy dispersive X-ray spectrometer with multiple total reflection of the exciting beam. *Nucl. Instr. Meth.*, 193: 239, 1982.

SILVA, E. A. *Estudo da remoção dos íons cromo (III) e cobre (II) em coluna de leito fixo Sargassum sp.*, Campinas: Faculdade de Engenharia Química, pela alga marinha Universidade Estadual de Campinas, 2001, 165 p. Tese (Doutorado).

SILVA, R. M. C. *Utilização da técnica de fluorescência de raios X com microsonda (μ -XRF) aplicada a amostras de interesse arqueológico*. Piracicaba. SP: USP. 2002. Tese de Doutorado.

SKINNER, K.; PORTER-GOFF, E.; WRIGHT, N. *Mercury uptake and accumulation by four species of aquatic plants*. *Environmental Pollution*, v. 145, p. 234e237. 2007.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. and NIEMAN, T. A.. *Princípios de Análise Instrumental*. Porto Alegre. RS: Bookman. 2002 5.ed.

SMITH, F.A. *Metabolic effects on ion fluxes in Tolypella intricata*. *J. Exp. Bot.*, v.19, n.3, p.442-451, 1968.

SOARES, R. A. R.; Adsorção em carbono ativado do ouro contido em lixívias de tiocianato, dissertação de mestrado, DCM, PUC-Rio 1996.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E., *Plant Physiology*, Sinauer Associates, Inc., Publishers, 2nd edition, Massachusetts, 1998.

TAIZ, L., ZEIGER, E. *Plant physiology*. The Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc. p. 565. 1991

THOMAZ, S. M.. BINI, L. M. *Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas*. Maringá: EDUEM, 2003. 341p.

TOBIN, J. M.; WHITE, C.; GADD, G. M. *Metal Accumulation by Fungi. Applications Environ. Biotech. J. Ind Microbiol.* 13, p. 126-130, 1994.

TREVORS, J. T., Cadmium transport, resistance, and toxicity in bacteria, algae, and fungi. *Can. J. Microbiol.*, 32: 447-460, 1986.

VÁLIO, I.F.M. Auxinas. In: FERRI, M.G. *Fisiologia Vegetal*. São Paulo: EPU, v.1. 1979.

VALITUTTO, R. S. *acumulação de poluentes inorgânicos por macrófitas aquáticas nos reservatórios de Santana e Vigário, Barra do Piraí-RJ. UFF, Niterói –RJ. 2004. Dissertação de Mestrado.*

VEGLIO, F., BEOLCHINI, F. *Removal of metals by biosorption: A review. Hydrometallurgy.*, v. 44: 301-316. 1997.

VIDOTTI, E. C; ROLLEMBERG, M. C E. *Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica*. Maringá – PR. *Quim. Nova*, Vol. 27, No. 1, 139-145, 2004

VIEIRA, R. H.; VOLESKY, B.; *Biosorption: a solution to pollution?*, *International Microbiology*, v. 3, p. 17-24, 2000.

VOLESKY, B. *Sorption and biosorption*, BV-Sorbex, Inc., St. Lambert, Quebec, 326 p, 2004.

VOLESKY, B.; *Biosorption of heavy metals*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 396 p, 1990.

VOLESKY, B.; *Detoxification of metalbearing effluents: biosorption for the next century*, *Hydrometallurgy*, v. 59, p. 203-216, 2001. [35]

WANADOO. 2004 Site institucional, disponível *on line* em: http://html.rincondelvago.com/aguas-residuales_3.html acesso em 25/11/2006.

WANG, J. et al. Parameters for Removal of Toxic Heavy Metals by Water Milfoil (*Myriophyllum spicatum*). *Environmental Contamination Toxicology*. 57, p. 779-786, 1996.

WANG, X. S.; QIN, Y.; Equilibrium sorption isotherms for Cu (II) on rice bran, *Process Biochemistry*, v. 40, p. 677-680, 2005.

WEBELEMENTS. Chemistry. Disponível *on line* em: <http://www.webelements.com/>. Acesso em 20/05/07 18:32

WEIS, J. S.; WEIS, P., Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration, *Environment International*, 30:685-700, 2004.

WOOD, R. B.; McATAMNEY, C. F. "Constructed wetlands for wastewater treatment: the use of laterite in the bed medium in phosphorus and heavy metal removal", Kluwer Academic Publishers, *Hidrobiologia*, vol. 340, pp. 323-331, 1996.

ZAMBON, G. A. Remoção de chumbo (Pb^{+2}) utilizando zeólita natural clinoptilolita, Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2003, 97 p. Tese (Mestrado).

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.