



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

**ESTUDO DA DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS-TRAÇO EM
LIQUENS PARA MONITORAÇÃO AMBIENTAL**

DANIELA MARIA BERTERO COCCARO

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau
de Mestre em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Aplicações

Orientadora:
Dra. Mitiko Saiki

**São Paulo
2001**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**ESTUDO DA DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS-TRAÇO EM
LIQUENS PARA MONITORAÇÃO AMBIENTAL**

Daniela Maria Bertero Coccaro



**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do grau
de Mestre em Ciências na área de
Tecnologia Nuclear – Aplicações.**

Orientadora:

Dra. Mitiko Saiki

São Paulo

2001

Ao meu avô Paulino, uma lembrança eterna na minha vida

AGRADECIMENTOS

São muitas as pessoas que, com suas variáveis contribuições, me auxiliaram na realização deste trabalho: ora transformando o mero esforço em resultado útil e eficiente, pela lembrança do rigor técnico; ora estimulando o desenvolvimento pessoal e intelectual pela lembrança da existência de um permanente degrau a ser galgado; ora tão somente pela afeição cotidiana e palavras singelas de apoio.

Todos os agradecimentos revelam auxílios importantes, na variedade de sua natureza; mas há alguns que se mostram diferentes, pela simples consciência que me conduziu a escrevê-los. Certamente há outras pessoas, que muito me ajudaram e que farão brotar tardio voto de desculpas, porque aqui não figuraram.

Porém, há pessoas que assumiram a especial característica da solidariedade e unicidade da conquista, a quem dirijo agradecimentos que posso, sem qualquer receio, definir como especiais.

Desses, o primeiro se dirige à Doutora Mitiko Saiki, a quem devo a oportunidade da concretização deste trabalho, agradeço pelo estímulo, pela tolerância com meus desvios de rota e pela orientação sempre cuidadosa.

Agradeço a inestimável colaboração do Dr. Marcelo Marcelli, do Instituto de Botânica de São Paulo, que acima de tudo me sensibilizou para a beleza dos líquens.

A todos os integrantes da Radioquímica, em especial às doutoras Ana Maria, Marina, Déborah, Maria José, Rose e Vera e aos amigos Roberto, Ricardo, Amilton, Regina, Carla T., Edson A. e Cláudia, agradeço pela gostosa convivência nestes anos.

Aos amigos Sheila, Rubens e Marília, agradeço pelas discussões, pelo estímulo, auxílio e, principalmente pela amizade.

Aos meus pais, que são para mim exemplos de vida, e ao meu irmão, agradeço pelo carinho e confiança.

Ao Celso, grande incentivador e amigo, agradeço pela paciência, auxílio e principalmente por seu amor.

Gostaria ainda de agradecer ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos e ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), que permitiu a realização deste trabalho.

ESTUDO DA DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS-TRAÇO EM LIQUENS PARA MONITORAÇÃO AMBIENTAL

Daniela Maria Bertero Cocco

RESUMO

A poluição do meio ambiente é um problema de crescente importância mundial. Conseqüentemente, a avaliação dos contaminantes assim como, a identificação de suas fontes poluidoras e áreas contaminadas são de grande interesse para o controle ambiental.

Dentre os diversos tipos de matrizes que podem ser analisadas para estudos de poluição ambiental, destacam-se os líquens, que apresentam vantagens relacionadas, inicialmente, à sua ampla ocorrência, facilidade de amostragem e capacidade de acumular diversos elementos de interesse sob o ponto de vista ambiental.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi analisar líquens epífitos pelo método de análise por ativação com nêutrons para posterior aplicação deste biomonitor no estudo da poluição ambiental.

Neste trabalho foram analisados os elementos: Al, As, Br, Ca, Cd, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Cu, Eu, Fe, K, La, Lu, Mg, Mn, Mo, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Tb, Th, Ti, U, V, Yb e Zn. Os líquens foram coletados dos troncos das árvores e o tratamento das amostras consistiu na limpeza, lavagem com água destilada, liofilização e moagem. As amostras e padrões foram irradiados no reator nuclear IEA-R1m, por 5 minutos e 16 horas, sob um fluxo de nêutrons térmicos de aproximadamente $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. A atividade foi medida utilizando um detector de Ge hiperpuro conectado a um microcomputador e eletrônica associada.

A exatidão e precisão do método analítico foram avaliadas pelas análises dos materiais de referência certificados: IAEA 336 Lichen, IAEA 359 Cabbage, NIST 1572 Citrus Leaves e W-1 (USGS). Os resultados obtidos nessas análises apresentaram, em geral, uma boa precisão e exatidão para a maioria dos elementos com desvios padrão relativos e erros relativos abaixo de 15%.

O procedimento adotado no tratamento das amostras de líquens foi avaliado pela análise em replicata de *C. texana* e estes resultados indicaram boa reprodutibilidade, com desvios padrão relativos, em geral, abaixo de 15%.

Para avaliar a influência da idade do líquen *C. texana* nas suas concentrações elementares, as partes centrais e periféricas das amostras foram analisadas separadamente. Os resultados mostraram valores de concentração levemente superiores para as partes centrais, indicando que o acúmulo de elementos é maior nas frações mais velhas.

As concentrações elementares para amostras da espécie *C. texana* coletadas em diferentes pontos de uma área de amostragem mostraram uma variabilidade significativa para vários elementos.

Os resultados obtidos nas análises dos líquens *Canoparmelia texana*, *Canoparmelia caroliniana*, *Parmotrema tinctorum*, *Parmotrema sancti-angeli* e *Usnea* sp. mostraram, para vários elementos, diferenças significativas entre os teores determinados. O tratamento estatístico aplicado para análise dos resultados de concentrações obtidos mostraram que há uma correlação positiva entre as espécies analisadas.

STUDY OF THE TRACE ELEMENT DETERMINATION IN LICHENS FOR ENVIRONMENTAL MONITORING

Daniela Maria Bertero Cocco

ABSTRACT

Environmental pollution is a problem of increasing concern and the evaluation of contaminants as well as the identification of polluted areas and pollution sources are of great interest for environmental control.

Among the several matrices that can be analyzed for such studies, lichens present advantages related primarily to their occurrence, ease of sampling and the accumulation of trace elements.

Thus, the objective of this research was to analyze epiphytic lichens by neutron activation analysis for their future use as biomonitors in environmental pollution studies.

The analyzed elements were Al, As, Br, Ca, Cd, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Cu, Eu, Fe, K, La, Lu, Mg, Mn, Mo, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Tb, Th, Ti, U, V, Yb and Zn. The lichen samples were collected from tree barks. The preparation of lichen samples consisted of cleaning, washing with water, lyophilization and grinding. Samples and standards were irradiated at the IEA-R1m nuclear reactor for 5 minutes and 16 hours, under a thermal neutron flux of about 10^{12} n cm⁻² s⁻¹. Radioactivity measurements were performed using a hyperpure Ge detector, connected to a microcomputer and an associated electronic system. The precision and accuracy of the method were evaluated by the analysis of the certified reference materials IAEA 336 Lichen, IAEA 359 Cabbage, 1572 Citrus Leaves and W-1 (USGS). The results obtained in these analyses presented, in general, a good precision for most elements, with relative standard deviations lower than 15%. Moreover, the results agreed with certified values, with relative errors lower than 15%.

Also the results obtained for a sample of *C. texana* species in replicate analyses revealed a good precision with relative standard deviations varying from 1 to 15%, indicating the homogeneity of the sample.

In order to study the influence of the age of the *C. texana* species, the center and outer layer of each sample were analyzed separately. For some elements the center of the lichen sample presented slightly higher concentrations than the outer part, indicating that the accumulation of the elements increases with the lichen age or with the length of exposure.

Results obtained for *C. texana* species, collected from different sites of one sampling area showed a great variability in the concentrations of some elements.

Besides, the results obtained for *Canoparmelia texana*, *Canoparmelia caroliniana*, *Parmotrema tinctorum*, *Parmotrema sancti-angeli* and *Usnea* sp. showed a considerable difference between the concentration values obtained for these five species. The statistical analysis applied to these results has shown a positive correlation among the concentrations found in these five lichens studied.

In the present work some considerations are made about the neutron activation analysis method and lichens. The viability of using of lichen species in biomonitoring studies is also discussed.

SUMÁRIO

	Página
1 Introdução	1
1.1 Objetivo	3
1.2 Considerações gerais sobre poluentes atmosféricos	3
1.3 Biomonitoração de poluentes atmosféricos	9
1.4 Considerações gerais sobre os líquens	11
1.5 Uso de líquens como biomonitores da poluição ambiental	19
2 ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS	30
2.1 Princípio do método	30
2.2 Aplicações, vantagens e desvantagens do método de AAN	40
3 PARTE EXPERIMENTAL	43
3.1 Coleta das amostras de líquens	43
3.1.1 Espécies de líquens coletadas	43
3.1.2 Características das espécies de líquens analisadas	43
3.1.3 Procedimento para coleta	49
3.1.4 Amostras coletadas	49
3.1.5 Tratamento das amostras de líquens	52
3.2 Preparação dos padrões elementares para análise por ativação	53
3.2.1 Preparação das soluções padrão dos elementos	53
3.2.2 Preparação dos padrões sintéticos dos elementos	58
3.3 Procedimento para análise instrumental por ativação com nêutrons	58
3.3.1 Procedimento para análise por ativação por meio de irradiações curtas no reator	59
3.3.2 Procedimento para análise por ativação por meio de irradiações longas	62

3.4	Análise dos materiais biológicos de referência certificados -----	65
3.5	Análise de amostras de líquens da Agência Internacional de Energia Atômica para certificação -----	66
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	67
4.1	Estudo da precisão e exatidão -----	67
4.1.1	Material de referência IAEA-336 Lichen -----	68
4.1.2	Material de referência NIST-1572 Citrus Leaves -----	70
4.1.3	Material de referência IAEA-359 Cabbage -----	72
4.1.4	Material de referência W-1 (USGS) -----	74
4.1.5	Material candidato à certificação L-1 Lichen -----	75
4.1.5	Material candidato à certificação L-2 Lichen -----	77
4.2	Estudo da homogeneidade das amostras de líquens -----	78
4.3	Estudo das concentrações elementares em partes do talo com idades diferentes -----	80
4.4	Estudo da variabilidade nas concentrações elementares em líquens coletados em diferentes pontos de uma mesma região -----	88
4.5	Análise de diferentes espécies de líquens -----	90
4.6	Análise dos resultados obtidos por meio de tratamentos estatísticos -----	97
4.6.1	Análise por dendrogramas ou “cluster analysis” -----	97
4.6.2	Matriz de correlação -----	100
5	CONCLUSÕES -----	103
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	106

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O meio ambiente vem sendo afetado por um número cada vez maior de poluentes atmosféricos, os quais compreendem um grande número de compostos que prejudicam a saúde e o meio ambiente de formas diferentes, de acordo com suas propriedades. Países como Holanda e Estados Unidos possuem uma lista de poluentes considerados prioritários, ou seja, foco de um controle rigoroso. Dentre os critérios para confecção desta lista estão a toxicidade, o potencial carcinogênico, a persistência, o poder de dispersão e bioacúmulo, bem como as quantidades emitidas e os níveis encontrados no meio ambiente (SLOOF, 1993).

Hoje, a preocupação com a qualidade do meio ambiente não se limita a poluentes tradicionais como óxidos de nitrogênio e enxofre e o ozônio, mas também ao número crescente de metais pesados, compostos aromáticos policíclicos e compostos orgânicos halogenados que vêm sendo emitidos por diversas fontes.

As concentrações de elementos depositados no meio ambiente variam amplamente com a época e local da coleta, dependendo das fontes emissoras. Assim sendo, torna-se necessária uma monitoração constante e eficaz para que se obtenha dados confiáveis sobre a qualidade do meio ambiente.

A biomonitoração com o uso principalmente de líquens, briófitas e plantas superiores, surge como uma alternativa na análise de particulados do ar e da deposição de metais pesados, já que a monitoração por meio de medidas com equipamentos técnicos tem sido, em geral, realizada em pequena escala devido, principalmente, à falta de metodologias sensíveis e baratas que permitam a medição de vários contaminantes presentes em grandes áreas.

A utilização de biomonitores apresenta inúmeras vantagens quando comparada ao uso de filtros de ar e coletores de depósitos. A coleta das amostras não requer nenhuma instrumentação sofisticada, como aquela requerida para a coleta de água da chuva ou de aerossóis em filtros e isto torna a metodologia mais barata além de permitir uma coleta fácil de amostras em inúmeros pontos de uma região geográfica.

As plantas superiores (em especial as espermatófitas), as briófitas e os líquens são os grupos mais utilizados como indicadores biológicos de metais. A escolha de um determinado grupo ou espécie depende do objetivo da monitoração e da biodiversidade do ecossistema em estudo. Na Europa, muitas pesquisas estão sendo feitas com o objetivo de comparar os diferentes tipos de bioindicadores (WITTIG, 1993; WOLTERBEEK e col., 1996; JERAN e col., 1996; NIMIS e col., 1993). Os resultados obtidos nestes estudos têm indicado que os líquens são um dos melhores indicadores da qualidade do ar, principalmente na monitoração de SO₂ e de metais pesados. Pesquisas sobre biomonitores mostram que a capacidade de retenção de componentes poluentes nos líquens pode ser 50 vezes maior que em outros bioindicadores (CHANT e col., 1996).

1.1 Objetivo

No Brasil, trabalhos sobre o uso de líquens como indicadores da poluição ambiental são bastante escassos e não há dados para o mapeamento do nosso território indicando os níveis de poluentes, bem como um estudo sistemático e detalhado que possa ser utilizado na localização de fontes poluidoras e no estudo das alterações do ecossistema com o decorrer dos anos.

Esta pesquisa tem como objetivo o estudo da análise de elementos-traço em líquens epífitos, pelo método de ativação com nêutrons, visando posterior aplicação deste biomonitor no mapeamento de regiões de interesse sob o ponto de vista da contaminação ambiental.

1.2 Considerações gerais sobre poluentes atmosféricos

Sendo a biomonitoração uma alternativa para a monitoração da poluição atmosférica, neste tópico é apresentado um breve estudo dos principais poluentes atmosféricos e de suas fonte emissoras, com o objetivo de fornecer dados que permitam uma visão geral dos poluentes, bem como do monitoramento já realizado na cidade de São Paulo.

O nível de poluição do ar é avaliado pela quantidade de substâncias poluentes presentes. De acordo com a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental de São Paulo (CETESB), *considera-se poluente qualquer substância presente no ar e que pela sua concentração possa torná-lo impróprio, nocivo ou ofensivo à saúde, inconveniente ao bem-estar público, danoso aos materiais, à fauna e à flora ou prejudicial à segurança, ao uso e gozo da propriedade e às atividades normais da comunidade* (CETESB, 1997).

A variedade de substâncias que podem estar presentes na atmosfera é muito grande, o que torna difícil a tarefa de estabelecer uma classificação. Entretanto o processo de classificação pode ser iniciado dividindo-se os poluentes em duas categorias:

Poluentes primários: aqueles emitidos diretamente pelas fontes antropogênicas.

Poluentes secundários: aqueles formados na atmosfera a partir da reação química entre poluentes primários e constituintes naturais da atmosfera (CETESB, 1997).

As substâncias usualmente consideradas poluentes do ar podem ser apresentadas da seguinte forma:

- compostos de enxofre (SO_2 , SO_3 , H_2S , sulfatos);
- compostos de nitrogênio (NO , NO_2 , NH_3 , nitratos);
- compostos orgânicos de carbono (hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos orgânicos);
- monóxido de carbono e dióxido de carbono;
- compostos halogenados (HCl , HF , cloretos, fluoretos);
- material particulado (mistura de compostos, secos ou úmidos, onde se incluem os metais pesados).

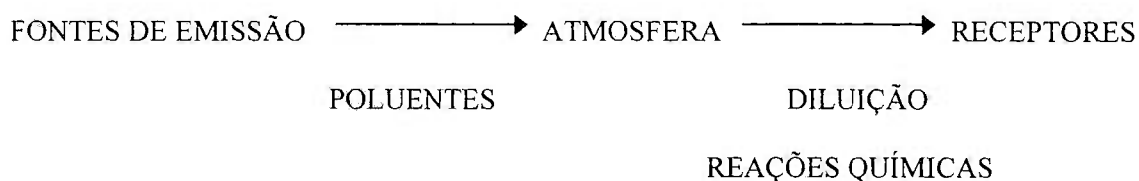
A Tabela 1.1 mostra de forma simplificada os principais poluentes atmosféricos produzidos pelos diversos tipos de fontes de emissão, de acordo com a classificação adotada pela CETESB.

Tabela 1.1 Principais fontes poluidoras do ar e principais poluentes (CETESB, 1997)

FONTES		POLUENTES
FONTES ESTACIONÁRIAS	COMBUSTÃO	material particulado; SO ₂ ; CO; hidrocarbonetos e NO _x
	PROCESSO INDUSTRIAL	material particulado; SO ₂ ; SO ₃ ; HCl; hidrocarbonetos; mercaptanas; HF; H ₂ S; NO _x e gases
	QUEIMA DE RESÍDUO SÓLIDO	material particulado; SO ₂ ; SO ₃ ; HCl; gases; e NO _x
	OUTROS	material particulado e hidrocarbonetos
FONTES MÓVEIS	MEIOS DE TRANSPORTE GERAL	material particulado; SO _x ; CO; hidrocarbonetos; NO _x ; aldeídos e ácidos orgânicos
FONTES NATURAIS		material particulado; SO ₂ ; CO; NO; NO ₂ e hidrocarbonetos
REAÇÕES QUÍMICAS NA ATMOSFERA		poluentes secundários - O ₃ ; aldeídos; ácidos orgânicos; nitratos orgânicos, aerossol fotoquímico, etc.

Quando se determina a concentração de um poluente na atmosfera, está-se medindo o grau de exposição dos receptores (ser humano, outros animais, plantas, construções, etc) como resultado final do processo de lançamento deste poluente na atmosfera por suas fontes de emissão e suas interações na atmosfera, do ponto de vista físico (diluição) e químico (reações químicas).

O sistema pode ser visualizado da seguinte forma:



É importante frisar que, mesmo mantidas as emissões, a qualidade do ar pode mudar em função basicamente das condições meteorológicas que determinam uma maior ou menor diluição dos poluentes. É por isso que a qualidade do ar piora durante os meses de inverno, quando as condições meteorológicas são mais desfavoráveis à dispersão dos poluentes.

A interação entre as fontes poluidoras e a atmosfera define o nível de qualidade do ar que determina por sua vez, o surgimento de efeitos adversos da poluição do ar sobre os receptores, que podem ser o homem, os animais e as plantas.

Os principais objetivos do monitoramento da qualidade do ar são:

- fornecer dados para ativar ações de emergência durante períodos de estagnação atmosférica quando os níveis de poluentes possam representar risco à saúde pública;
- avaliar a qualidade do ar para proteger a saúde e o bem estar das pessoas;
- acompanhar as tendências e mudanças na qualidade do ar devidas às alterações nas emissões dos poluentes.

Para atingir estes objetivos, é necessária a fixação de padrões de qualidade do ar. Um padrão de qualidade do ar define legalmente um limite máximo para a concentração de

um componente atmosférico que garanta a proteção da saúde e do bem estar das pessoas. A fixação desses padrões está baseada nos efeitos produzidos por poluentes específicos e são fixados em níveis que possam propiciar um margem de segurança adequada. São estabelecidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) dois tipos de padrões de qualidade do ar:

- Padrões primários de qualidade do ar: níveis máximos toleráveis de concentração de poluentes atmosféricos.
- Padrões secundários de qualidade do ar: níveis desejados de concentração de poluentes.

O objetivo do estabelecimento de padrões secundários é criar uma base para política de prevenção da degradação da qualidade do ar. Deve ser aplicado as áreas de preservação (parques nacionais, estâncias turísticas etc). Nas áreas de desenvolvimento são aplicados os padrões primários.

É interessante citar que a leitura dos dados fornecidos pela CETESB leva a conclusão de que em quase toda a cidade de São Paulo o padrão primário anual para partículas inaláveis, estabelecido pela legislação brasileira em $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de ar, está sendo violado freqüentemente. As violações ocorrem em todas as estações e os valores observados estão bem acima dos limites estabelecidos (SOBRAL, 1996).

O material particulado cobre uma variedade imensa de sólidos ou líquidos que podem ser dispersados no ar por processos de combustão, atividades industriais ou mesmo fontes naturais. Apesar de grande parte das partículas ser oriunda da combustão por fontes estacionárias e móveis, sobretudo ônibus, caminhões e processos industriais, há uma

considerável quantidade de partículas de outras fontes, como: poeira de ruas, material de degradação de pneus, pólen etc.

É importante lembrar que, a CETESB em função dos recursos materiais e humanos disponíveis, limita a determinação sistemática da qualidade do ar a um número restrito de poluentes. De uma forma geral a escolha recai sobre: dióxido de enxofre (SO_2), poeira em suspensão, monóxido de carbono (CO), oxidantes fotoquímicos expressos como O_3 , hidrocarbonetos totais e óxidos de nitrogênio (NO_x), não sendo realizada a medição constante da composição elementar do material particulado e da deposição de metais pesados no meio ambiente.

Os efeitos adversos do material particulado na atmosfera começam pelos aspectos estéticos, pois este interfere na visibilidade e está associado à produção de corrosão e sujeira em superfícies de edifícios, tecidos e outros materiais.

Os efeitos sobre a saúde estão associados a uma série de fatores, entre eles, à:

- presença nas partículas, de substâncias minerais que possuem propriedades tóxicas;
- capacidade do sistema respiratório de remover as partículas do ar inalado, retendo-as nos pulmões;
- presença de compostos com propriedades carcinogênicas e
- capacidade que algumas partículas finas tem de aumentar os efeitos fisiológicos de gases irritantes ou de catalisar e transformar quimicamente estes gases, formando espécies mais nocivas.

Dentre as partículas inaláveis, as mais grossas ficam retidas na parte superior do sistema respiratório, enquanto as mais finas penetram mais profundamente atingindo, inclusive os alvéolos pulmonares (CETESB, 1997).

A capacidade do material particulado de aumentar os efeitos fisiológicos dos gases presentes no ar é um dos aspectos mais importantes a ser considerado. Os efeitos de uma mistura de material particulado e dióxido de enxofre, por exemplo, são mais acentuados que os provocados na presença isolada de cada um deles (BRANCO e MURGEL, 1995).

Desta forma, a preocupação crescente com os níveis, atuais e futuros, dos poluentes atmosféricos faz crescer a demanda por métodos que viabilizem o estudo e a monitoração de poluentes ambientais.

1.3 Biomonitoração de poluentes atmosféricos

É importante definir que o uso de um organismo que exista naturalmente em uma região a ser investigada, é chamado de biomonitor (ou bioindicador) passivo enquanto biomonitor (ou bioindicador) ativo é aquele exposto artificialmente em uma área teste por um tempo definido e sob condições estabelecidas (WITTIG, 1993).

A preferência pelos termos biomonitores e bioindicadores ainda é um aspecto bastante discutido no meio científico. Não existe, entre os pesquisadores, um consenso a respeito da utilização dos termos biomonitores e bioindicadores.

A maioria dos pesquisadores alemães utilizam esses termos como sinônimos enquanto em outros países muitos autores estão considerando que o termo bioindicador refere-se ao organismo (parte dele ou de uma comunidade) utilizado para se obter informações qualitativas a respeito do meio ambiente e o termo biomonitor, ao organismo (parte dele ou de uma comunidade) utilizado para se obter informações quantitativas a respeito da qualidade do meio ambiente (WITTIG,1993).

A polêmica se estende à utilização dos termos bioindicação e biomonitoração. WITTIG (1993) sugere a seguinte definição:

- Bioindicação é o uso de um organismo (parte dele ou de uma comunidade) para se obter informações qualitativas acerca do meio ambiente. O organismo utilizado para este fim deve ser chamado de bioindicador.
- Biomonitoração é a observação contínua de uma determinada área com a ajuda de um bioindicador, que neste caso pode ser chamado biomonitor.

Na tentativa de explicar a diferença entre eles utilizando um exemplo do dia-a-dia, WITTIG (1993) escreve: “A diferença entre bioindicação e biomonitoração é a mesma existente entre a fotografia e o filme”.

Por motivos práticos, neste trabalho os termos bioindicadores e biomonitores serão utilizados como sinônimos e conceito de biomonitoração, baseado na definição dada por SLOOF (1993), será admitido como o uso das propriedades de um organismo, ou de parte dele, para se obter informações qualitativas e quantitativas acerca da poluição de certa parte da biosfera.

Quando se usa bioindicadores, importantes informações podem ser obtidas do organismo utilizado como indicador. Desta forma a escolha de um organismo é uma etapa de extrema importância para o sucesso da monitoração. Um bioindicador deve apresentar as seguintes características: ser comum na área de interesse; ser perene ao longo do ano, não sofrendo influência das condições climáticas; possuir uma estrutura morfológica que possibilite o acúmulo dos elementos a serem monitorados e permitir que a coleta e tratamento das amostras sejam simples e rápidas (SLOOF, 1993).

Na Europa e nos Estados Unidos, os líquens são provavelmente os indicadores biológicos mais amplamente utilizados na monitoração ambiental. Suas características morfológicas e fisiológicas permitem o acúmulo de muitos elementos e tornam, certas espécies, bastante tolerantes à poluição, permitindo que sobrevivam em áreas com índices de poluição relativamente altos.

1.4 Considerações gerais sobre os líquens

Apesar do intenso interesse no uso dos líquens como bioindicadores da poluição atmosférica eles são, ainda hoje, pouco estudados até mesmo nas melhores faculdades do Brasil. Desta forma, para uma melhor compreensão do trabalho desenvolvido, apresentamos um breve estudo acerca da morfologia dos líquens, visando esclarecer dúvidas que poderiam surgir a respeito dos parâmetros relacionados à seleção dos líquens e ao tratamento das amostras.

Líquens são estruturas formadas da associação entre um micobionte e um fotobionte, resultando em um talo de estrutura estável (AHMADJIAN, 1967).

O micobionte (habitante externo) é um fungo enquanto o fotobionte (habitante interno) é uma alga ou cianobactéria.

Nesta relação o fungo absorve água e minerais do meio ambiente para que a alga possa realizar fotossíntese, fornecendo carboidratos ao fungo (AHMADJIAN, 1967; HAWKSWORTH e HILL, 1995).

Calcula-se que existam cerca de 13.500 espécies de fungos liquenizados, o que corresponde a 20% dos fungos conhecidos. A maioria dos fungos liquenizados (98%) são ascomicetes e 46% dos ascomicetes são liquenizados, portanto, para este grupo de fungos a liquenização é uma regra e não uma exceção (HAWKSWORTH e HILL, 1995).

O nome de um líquen deve ser entendido como sendo o nome de seu micobionte, ou seja, quando você está identificando um líquen, na realidade está procurando o nome de seu fungo (MARCELLI, 1998a).

Entretanto este é um conceito difícil já que pela grande intimidade morfológica, é mais simples pensar no líquen como uma estrutura única. Assim, neste trabalho serão encontradas expressões como “líquen da espécie *C. texana*”. Neste caso a simplificação da idéia, ampliando o nome do fungo para todo o talo liquênico, deve ser interpretada como uma figura de linguagem que se destina tanto à facilidade de expressão quanto à adequação à realidade visual.

Os líquens podem ser encontrados em praticamente todos os tipos de substratos naturais, tais como: troncos de árvores, folhas, briófitas, rochas, terra e também nos substratos artificiais: metais, lápides e concreto (HAWKSWORTH e HILL, 1995).

O habitat perfeito para o crescimento de líquens é o que combina luz e umidade, mas apesar disso sua distribuição é bastante ampla e eles podem ser encontrados nos ambientes mais hostis.

Na Ásia, foram encontrados líquens a uma altitude de 7.000 metros e também nos Montes Himalaia. Somente as espécies mais comuns podem ser encontradas nas altas altitudes devido às características típicas destes habitat (KAPPEN, 1973).

O crescimento dos líquens pode ser verificado pela taxa de fotossíntese e isto já foi observado ocorrendo a 24 °C negativos (MARCELLI, 1997).

O corpo de um líquen, ou seja, o conjunto de fungo mais alga é denominado talo. O talo de um fungo é formado por hifas (estruturas filamentosas), o conjunto de hifas recebe o nome de micélio (AHMADJIAN, 1967). Os tecidos dos talos líquênicos são formados pela compactação das hifas. Este tipo de tecido recebe o nome de plectênquima (AHMADJIAN, 1967).

O talo líquênico pode ou não ser internamente organizado em camadas compostas por um ou mais tipos de tecido. Líquens que não possuem diferenciação de camadas internas são chamados de homômeros. Os líquens cujos talos são anatomicamente

estratificados são chamados heterômeros. Os talos heterômeros são muito mais comuns que os homômeros (HAWKSWORTH e HILL, 1995).

Os líquens heterômeros apresentam as seguintes camadas (AHMADJIAN, 1967; HAWKSWORTH e HILL, 1995):

- **Córtex:** é o tecido de revestimento externo. O córtex é constituído por uma ou várias camadas plectenométricas. Os tipos de células, o número de camadas e espessura, normalmente, variam de espécie para espécie. Normalmente o córtex é transparente, porém algumas espécies possuem córtex de cores vivas.

- **Camada de algas:** representa, na verdade, a região onde as hifas estão afrouxadas e entre elas encontram-se as algas. Nesta região a parede celular é fina, para facilitar a troca de substâncias com a alga. A parede celular do fungo apresenta vários cristais hidrofóbicos de ácidos liquênicos, para manter a água afastada da camada de algas não atrapalhando as trocas gasosas necessárias ao processo de fotossíntese das algas. As algas podem estar arrançadas num estrato contínuo por toda camada de simbiose ou podem estar localizadas em locais predestinados a elas pelo fungo.

- **Medula:** é formada exclusivamente por hifas, de paredes espessas, entrelaçadas. Representa a maior parte do talo e é o local destinado ao armazenamento de água e reservas minerais do fungo. A medula é normalmente branca entretanto, em muitas espécies pode ser colorida. A coloração vai do amarelo claro ao vermelho além de outras cores. Vários líquens fruticosos apresentam um tecido de sustentação do talo que nada mais é do que uma diferenciação na medula.

A Figura 1.1 mostra a foto da estratificação de um talo em córtex, camada de algas e medula . A foto está com um aumento de aproximadamente 1:100.

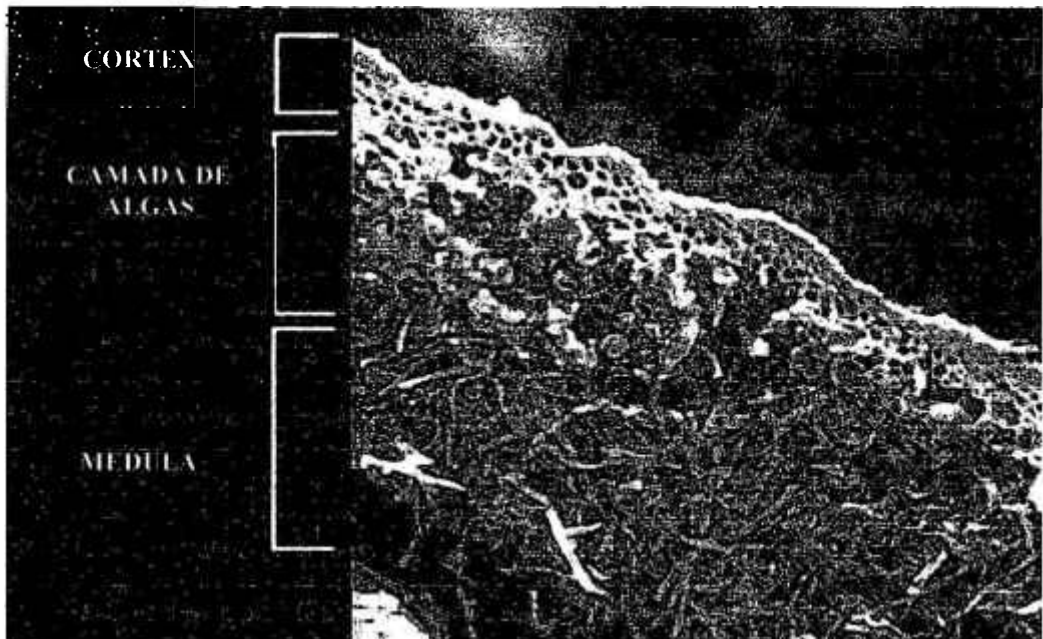


Figura 1.1 Estratificação de um talo liquênico observado em microscópio (WAGGONER e SPEER,1997)

A aparência de um líquen pode variar desde formas muito simples até estruturas bastante complexas e a maior parte dos talos liquênicos podem ser medidos em centímetros. Entretanto existem talos de poucos milímetros e até mesmo líquens fruticosos de 4 metros de comprimento (MARCELLI, 1998a).

A cor de um líquen está, normalmente, associada à cor da alga. Um líquen portador de alga verde apresenta uma coloração que varia entre o branco e o verde acinzentado.

Líquens portadores de cianobactérias apresentam-se pretos, marrons ou cinza-escuros. Por outro lado, alguns fungos liquênicos produzem substâncias coloridas e nestes

casos, todo o talo ou partes dele podem adquirir cores como amarelo, laranja, rosa e vermelho (HAWKSWORTH e HILL, 1995).

De acordo com a forma de crescimento e aparência o talo pode ser denominado (HAWKSWORTH e HILL, 1995):

- **Crostoso ou crustáceo:**

Estes líquens apresentam apenas córtex superior sendo, portanto, desprovidos de córtex inferior e aderem ao substrato por toda sua medula. Por este motivo é praticamente impossível separá-lo do substrato.

A Figura 1.2 mostra a fotografia de um líquen crostoso aderido a uma rocha. A mancha vermelha corresponde ao talo do líquen e parte acinzentada ao substrato.

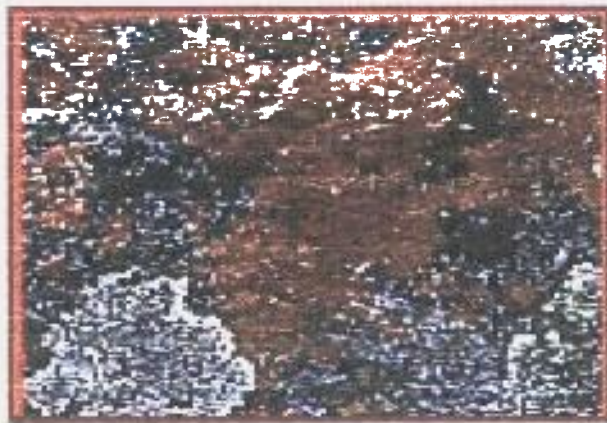


Figura 1.2 Foto de um líquen crostoso (escala 1:1) (WAGGONER e SPEER, 1997)

- **Folhoso ou foliáceo:**

Estes líquens possuem a aparência de uma lâmina enrugada e recortada. O talo folhoso normalmente apresenta dois córtices, um superior e outro inferior. Ambos são constituídos pelos mesmos tipos de células. A aderência de um líquen folhoso ao substrato depende de seu córtex inferior. A maioria dos líquens folhosos apresentam talos de 3 a 15 cm, embora possamos encontrar alguns gêneros e espécies muito pequenos.

A Figura 1.3 mostra a foto de um líquen folhoso aderido ao tronco de uma árvore. A figura verde é o talo do líquen.

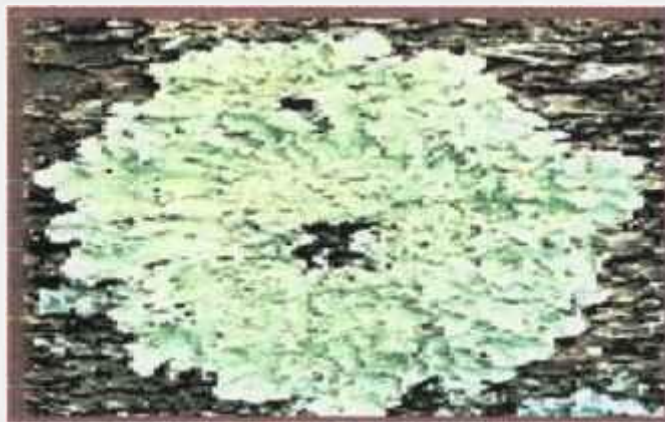


Figura 1.3 Foto de um líquen folhoso (escala 1:1) (WAGGONER e SPEER,1997)

- **Fruticoso:**

Este talo é cilíndrico ou achatado, muitas vezes bastante ramificado. Lembram pequenos arbustos com centímetros de altura. Crescem eretos ou pendentes ao substrato

podendo medir poucos centímetros ou, como em alguns casos, podem atingir metros de comprimento. Este líquen é pouco aderido ao substrato.

Os líquens fruticosos prendem-se ao substrato por meio de um apressório ou simplesmente enroscando-se ao substrato. O apressório é constituído por hifas fortemente aglutinadas que penetram no substrato. A coleta de um líquen fruticoso deve sempre envolver o apressório, pois essa estrutura é muito importante para identificação e classificação desses líquens.

Ramalina, *Usnea* e *Teloschistes* são os três principais gêneros fruticosos encontrados no Brasil.

A Figura 1.4 mostra a foto de um líquen fruticoso, na qual o substrato não é mostrado. A similaridade com pequenos arbustos é bastante clara.



Figura 1.4 Foto de um líquen fruticoso (escala 1:1)(WAGGONER e SPEER,1997)

1.5 Uso de líquens como biomonitores da poluição ambiental

No início do século XIX, Grindon notou que a comunidade líquênica estava desaparecendo de Manchester (NASH, 1996). Aproximadamente na mesma época, como resultado de estudos realizados em Paris, Nylander sugeriu que os líquens poderiam ser utilizados para indicar a intensidade da poluição atmosférica.

Conseqüentemente, o declínio drástico da micota líquênica estimulou a realização dos trabalhos que relacionavam os líquens com a poluição atmosférica e, na década de 1960, estava comprovada a possibilidade do uso deste grupo de materiais como bioindicador da poluição ambiental (HAWKSWORTH e HILL, 1995).

Ainda nesta época, muitos pesquisadores afirmavam que a urbanização criava um “deserto verde”, com rochas calcáreas (prédios), asfaltos e substratos artificiais (árvores plantadas e normalmente exóticas). Como a temperatura nas cidades é alguns graus mais alta, ocorre a dilatação do ar o que resulta na diminuição da umidade do ar, essencial para o crescimento da maioria das espécies de líquens (GILBERT, 1973).

Desta forma, até os anos sessenta, a polêmica era descobrir se o desaparecimento dos líquens era devido à poluição ou a urbanização. Hoje acredita-se que estes dois fatores se somam e que o seu grau de influência varia de líquen para líquen.

De qualquer forma, os estudos realizados naquela época mostraram que nos centros urbanos e/ou industrializados, a diversidade das espécies de líquens diminui virtualmente, chegando a uma redução de 90%, formando o chamado deserto líquênico. A relação

inversa entre a micota liquênica e a concentração de poluentes atmosféricos reafirmaram a hipótese de que os líquens respondem à presença de poluentes.

Existem, entre os líquens, algumas espécies tolerantes à poluição. Algumas delas podem ser encontradas em uma grande área geográfica, tanto em áreas rurais como em áreas urbanas e industriais.

A presença de poluentes permite a subdivisão dos líquens em três grupos (GILBERT, 1973):

- As espécies muito sensíveis às variações nos índices de poluição.
- As espécies tolerantes à poluição. Neste caso podemos citar o líquen *Candelaria concolor*, existente no Brasil mas muito difícil de coletar.
- As espécies que surgem com a poluição. Estes tipos de líquens são competidores muito fracos em condições normais, porém quando os índices de poluição aumentam, os outros tipos de líquens desaparecem tornando o ambiente propício para o crescimento desse tipo de líquen. Os principais exemplares destes líquens são o *Lecanora conizaeoides*, na Europa e a *Canoparmelia texana*, no Brasil (MARCELLI, 1998b).

A estreita relação existente entre a presença dos líquens com as condições do meio ambiente está ligada à sua natureza perene, à sua alta sensibilidade às variações ambientais e à sua capacidade de concentrar compostos provenientes de soluções diluídas.

Ao contrário das plantas, a nutrição dos líquens independe do substrato. Isto deve-se ao fato de os líquens não apresentarem sistema de raízes, cutícula cerosa e nem estômatos. Assim sendo, para sua nutrição mineral os líquens dependem amplamente de

depósitos (secos e úmidos) provenientes da atmosfera (HAWKSWORTH e HILL, 1995). Para a maioria dos materiais utilizados como bioindicadores da poluição, a contribuição elementar proveniente de outras fontes, que não da deposição atmosférica, como do solo, deve ser levada em consideração entretanto, isto não é verdade para o caso dos líquens .

A sua alta capacidade de absorver e acumular metais presentes na atmosfera permite a determinação de baixas concentrações de elementos presentes no ar com boa precisão e exatidão. Desta forma os líquens são considerados como um dos melhores acumuladores de íons já conhecidos. Eles possuem sítios extracelulares onde ocorre a contenção desses elementos e, como não são seletivos, absorvem qualquer elemento presente na atmosfera, além disso, a falta de cutícula e a superfície irregular dos talos facilitam a absorção de partículas (HAWKSWORTH e HILL, 1995).

Sendo perenes, os líquens podem acumular elementos originários de fontes naturais e antropogênicas ao longo do tempo (WOLTERBEEK e col., 1996), e como sua taxa de crescimento é muito pequena, ficam integrados com as condições do ecossistema em estudo. A análise da biodiversidade de líquens de uma determinada área é um caminho fácil para a identificação das zonas de influência de uma determinada fonte poluidora (BRANQUINHO e col.,1999).

Na verdade, a poluição do ar é uma das principais responsáveis pela diminuição da diversidade de líquens tanto nos centros urbanos e/ou industrializados como ao redor deles (MARCELLI, 1996)

Existe ainda, a possibilidade de se realizar transplantes de líquens, em áreas onde eles não existam. SLOOF (1993) usando a técnica de transplantes, fez a monitoração e a identificação de fontes antropogênicas da Holanda com líquens *Parmelia sulcata*.

Fazendo uma revisão bibliográfica sobre o uso de líquens como biomonitores da poluição ambiental verifica-se que em diversos países, principalmente na Europa, os líquens vêm sendo muito utilizados no mapeamento dos níveis de contaminação e na identificação de fontes poluidoras.

Dentre estes trabalhos destaca-se o do grupo de KANSANEN e VENETVAARA (1991) da Finlândia que estudaram diferentes tipos de indicadores biológicos da poluição ambiental e concluíram que, para os líquens e os musgos, devido ao seu eficiente acúmulo de metais, seus resultados analíticos indicam uma boa precisão e uma correlação entre os teores dos elementos encontrados com a distância das fontes poluidoras.

Na Eslovênia, JERAM e col. (1996) utilizaram líquens epífitos para identificar as principais fontes antropogênicas no país. Utilizaram a técnica de análise instrumental de ativação com nêutrons para a determinação de 28 elementos, os quais permitiram obter informações acerca da localização e identificação de fontes poluidoras. Também na Eslovênia, LUPSINA e col. (1992) desenvolveram uma pesquisa usando líquens epífitos para determinação das concentrações de mercúrio e metil mercúrio em áreas poluídas e não poluídas em vários pontos do país.

RIGA e KARANDINOS (1998), utilizaram três espécies de líquens (*Anaptychia ciliaris*, *Lobaria pulmonaria* e *Ramalina farinacea*) para obtenção de dados relativos à

poluição atmosférica em uma área próxima a uma usina. Neste trabalho, foram analisadas as concentrações de vários elementos e de SO₂ total. Os autores verificaram diferentes potenciais de bioacúmulo entre as três espécies de líquens. O líquen *L. pulmonaria*, por exemplo, apresentou níveis de SO₂ muito superiores as outras duas espécies. A análise de diferentes espécies de líquens, é muito importante para estudos de biomonitoração, já que a escolha do bioindicador é uma etapa muito importante e que depende sempre do poluente a ser analisado e da biodiversidade da área monitorada (COCCARO e col., 2000).

Na Itália, vem crescendo muito o número de pesquisas que utilizam líquens como biomonitores. CANIGLIA e col. (1994) coletaram líquens de áreas montanhosas e não poluídas e os transplantaram em áreas urbanas altamente industrializadas. Os resultados obtidos neste trabalho indicaram um acúmulo muito grande de metais pesados em áreas industrializadas, bem como a viabilidade do transplante de líquens em áreas onde eles não existem.

LOPPI e BARBAGLI (1996) usando líquens epífitos da espécie *Parmelia caperata*, fizeram a monitoração de uma área geotérmica, na região central da Itália. Seus resultados mostraram que as concentrações de elementos tóxicos nesta área estavam abaixo dos valores limites. Em 1998, LOPPI e col. fizeram uma retrospectiva dos 16 anos (1980 a 1996) do uso de líquens epífitos no controle da poluição atmosférica na região da Toscana, na Itália. Em um recente trabalho, LOPPI e BONINI (2000) utilizaram líquens (*Parmelia sulcata*) e musgos (*Hypnum cupressiforme*) como biomonitores, para avaliar a contribuição das fontes termais e da fumaça ativa, devido a emissão de doze elementos selecionados. Foram coletadas dez amostras de líquens e dez de musgos em duas áreas diferentes em Mt. Amiata, Itália. Os resultados mostraram que líquens e musgos podem ser utilizados

indistintamente na monitoração de As, Cd, Cu, Mo e S. O acúmulo de Hg e Zn foi significativamente maior nos líquens. As concentrações elementares de Al, Br, Fe, Pb e Sb foram maiores nos musgos. Entretanto, segundo os autores isto pode estar associado à deposição de material particulado, já que LOPPI e col. (1999) obtiveram concentrações mais altas nos líquens, exatamente para os mesmos elementos.

Em Roma, CAMPANELLA e col. (1995) utilizaram líquens, para monitoração de compostos fenólicos, particularmente o 2-clorofenol. Ainda na Itália, TESTA e col. (1995) determinaram concentrações de elementos actínideos em amostras de líquens coletadas próximas de áreas industriais.

NIMIS e col. (1993) fizeram um estudo da deposição de 13 metais nos arredores de La Spezia, no noroeste da Itália, usando líquens da espécie *Parmelia caperata*, e seus resultados permitiram a identificação de regiões mais afetadas pela emissão de poluentes, bem como comprovar a possibilidade de se realizar a monitoração de uma grande área com o uso de biomonitorios.

Em Siena, Itália, MONACI e col. (1997) monitoraram a qualidade do ar e a deposição de metais pesados utilizando líquens *Parmelia caperata*. Níveis altos de Pb foram atribuídos à contaminação proveniente das emissões automobilísticas.

FREITAS (1995), em Portugal, comparou o acúmulo de sete elementos químicos (Co, Cr, Fe, Hg, Sb, Se, e Zn), em duas espécies de plantas vasculares e líquens epífitos da espécie *Parmelia sulcata*, coletados em regiões industrializadas. Os resultados deste trabalho mostraram que o acúmulo de metais pesados nos líquens foi superior ao verificado

nas amostras de plantas vasculares. Em um outro trabalho, FREITAS (1994) usando líquen epífito da espécie *Parmelia sulcata* fez a monitoração de áreas próximas à usina geradora de energia elétrica pela queima do carvão, com intuito de avaliar as concentrações de metais pesados nesta região. Utilizando líquens epífitos *Parmelia sulcata* e *Parmelia caperata*, FREITAS e NOBRE (1997) avaliaram o poder de bioacúmulo de metais pesados em diferentes espécies de líquens. Apesar das duas espécies apresentarem características favoráveis à monitoração, o líquen *P. sulcata* permitiu maior acúmulo para todos os elementos, com exceção do Ca. Ainda utilizando líquens *P. sulcata*, FREITAS e col. (1999), avaliaram a contribuição elementar de cada fonte antropogênica, o que permitiu correlacionar a fonte com o poluente. De acordo com os resultados obtidos usinas geradoras de eletricidade movidas a óleo são responsáveis pelos altos índices de Ni e V enquanto as movidas a carvão são responsáveis por altos índices de S e Se. Altos níveis de Pb foram atribuídos às emissões automobilísticas e a contaminação por As e Hg foi vinculada as indústrias químicas. Nestes trabalhos, as análises dos elementos foram feitas utilizando-se o método de ativação com nêutrons.

BARBAGLI e col. (1999) determinaram as concentrações de elementos-traço em amostras de líquens *Umbilicaria decussata* coletados em Victoria Land, Antártica. Os resultados não mostraram impacto da atividade humana ao meio ambiente, porém os resultados sugerem que novas pesquisas sejam realizadas para que se possa avaliar a contribuição elementar relativa ao aerossol marinho, vento etc.

MURPHY e col. (1999) avaliaram o impacto ecológico causado por uma estação geradora de energia elétrica movida a carvão, comparando a abundância de líquens epífitos

entre as diferentes distâncias da fonte emissora e concluíram que as emissões causaram um impacto mensurável sobre a comunidade liquênica adjacente.

BRANQUINHO e col. (1999) avaliaram o impacto de uma mina de cobre, localizada na região do Alentejo, Portugal, na poluição ambiental e seus resultados sustentam a hipótese de que a ausência dos líquens *Ramalina fastigiata*, próximos a mina se devem aos altos níveis de Cu, provenientes da extração.

Verifica-se também que os líquens são muito utilizados para monitoração de áreas com contaminação radioativa. Isto deve-se ao fato dos líquens acumularem radionuclídeos mas não conseguirem metabolizá-los retendo-os por muitos anos. SAKA e col. (1996) utilizaram líquens e musgos para avaliar a contaminação de uma região da Turquia, por isótopos radioativos provenientes do acidente nuclear, ocorrido na Ucrânia em 1986. Também PAATERO e col. (1998) utilizaram líquens fruticosos *Cladonia* sp. para avaliar a deposição de elementos transurânicos na Finlândia, provenientes do acidente de Chernobyl. CHANT e col. (1996) utilizaram líquens *Parmelia sulcata* para avaliar a concentração de ^{129}I e de ^{36}Cl em três regiões próximas a Chernobyl. O objetivo desta investigação era apontar o ^{129}I como provável causador do câncer infantil de tireóide naquela região. Segundo os autores deste trabalho, os líquens foram os biomonitores escolhidos porque são capazes de reter até 50 vezes mais iodo que outros materiais comumente utilizados com biomonitores.

Na Suíça, MINGER e col. (1995) compararam as concentrações dos metais Cu, Pb e Zn encontrados nos líquens e nos musgos e seus resultados indicaram que os líquens possuem maior capacidade de absorção e acúmulo destes elementos que os musgos.

Na Argentina, GUEVARA e col. (1995) determinaram a composição elementar em cinco espécies de líquens epífitos coletados em Bariloche, região não industrializada e nem poluída. Seus resultados mostraram altas concentrações de elementos litófilos e boa correlação entre estes elementos.

Amostras de líquens *Canomaculina pilosa* foram coletados em 1991, em uma área não poluída próxima a La Calera, situada a noroeste de Córdoba, Argentina, e foram transplantados em Córdoba, cidade populosa, de alta atividade industrial e com tráfego intenso de veículos. Os resultados obtidos permitiram avaliar a viabilidade do transplante, detectar a fonte responsável por cada tipo de emissão e avaliar alterações químicas na fisiologia dos talos liquênicos (GONZÁLES e PIGNATA., 2000).

Na Nigéria, KAPU e col. (1991) analisaram líquens coletados nas regiões próximas da rodovia Zaria - Sokoto para avaliação de elementos provenientes da poluição dos veículos.

A revisão bibliográfica dos principais trabalhos referentes às análises de líquens torna evidente a potencialidade do uso deste bioindicador em pesquisas ambientais.

Verifica-se que nos últimos dez anos, os líquens vêm sendo alvo de exaustivas pesquisas ambientais na Europa. Entretanto, como já mencionado, no Brasil não existem muitos trabalhos que utilizam líquens como bioindicadores da poluição atmosférica propriamente dita.

Desta forma, julgou-se altamente necessário o desenvolvimento deste trabalho, para se obter informações sobre a análise de líquens de interesse para uma futura implantação da monitoração ambiental de elementos-traço com o uso destes biomonitores.

Dentre as técnicas comumente utilizadas na análise de elementos-traço em amostras biológicas ambientais tem-se a análise por ativação neutrônica, a espectroscopia de emissão atômica com fonte de plasma indutivo (SANZ-MEDEL e col., 1990), a espectroscopia de massa com fonte de plasma indutivo (PAUL e col., 1990) e a fluorescência de raios X (CANIGLIA e col., 1995). A espectroscopia de absorção atômica não compete com os métodos analíticos multielementares mas é uma técnica muito indicada como complemento da espectroscopia de emissão atômica e da espectroscopia de massa com fonte de plasma.

O método analítico utilizado neste trabalho foi o de análise por ativação com nêutrons instrumental (AANI).

A análise por ativação com nêutrons instrumental é um dos métodos mais importantes, dentre os disponíveis, para a análise de elementos-traço, principalmente quando se trabalha com materiais biológicos. Dentre as suas principais vantagens está a capacidade de se determinar muitos elementos, sem a destruição da amostra, boa precisão e exatidão, alta sensibilidade para detecção de vários elementos abaixo de $\mu\text{g}/\text{kg}$. Portanto a AANI vem sendo amplamente utilizada em estudos da poluição atmosférica, onde se requer a análise de um grande número de amostras.

Serão apresentados neste trabalho os resultados obtidos no estabelecimento das condições adequadas para obtenção dos resultados analíticos confiáveis na análise de líquens. Para avaliação da precisão e exatidão dos resultados, foram analisados diversos materiais de referência.

Uma vez definidas as condições de coleta e tratamento de líquens, foi realizada a análise dos seguintes parâmetros: homogeneidade da amostra de líquen preparada, tempo de exposição ou idade dos líquens, variabilidade nos teores de elementos em líquens coletados em diferentes pontos de uma mesma área e, posteriormente, análise de líquens de diferentes espécies.

CAPÍTULO 2

ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

Neste capítulo o princípio do método de análise por ativação com nêutrons (AAN), utilizado neste trabalho, será descrito baseando-se nos trabalhos de GREENBERG e col. (1984), DE SOETE e col. (1972), IAEA (1990) e BODE e DE GOEJI (1998).

2.1 Princípio do método

A análise por ativação com nêutrons diferencia-se do grande número de métodos analíticos usuais, pelo fato de basear-se em reações que ocorrem com os núcleos dos átomos e não com os elétrons orbitais.

O núcleo dos átomos pode apresentar vários estágios de estabilidade assim, são encontrados núcleos muito estáveis, como o do chumbo-206, e núcleos altamente instáveis, como o do fêrmio-244, um núcleo produzido artificialmente e que se desintegra em poucos segundos.

O núcleo instável é altamente energético e emite espontaneamente energia para, com isso, se tornar mais estável. A liberação de energia é feita por meio de decaimento

radioativo, sob a forma de radiação nuclear. O núcleo instável, emissor de radiação, é chamado de radionuclídeo.

Quatro tipos de radiação nuclear podem ser distinguidos:

- Radiação α que consiste na emissão de partícula α e que possui a mesma estrutura do núcleo do átomo de hélio, com carga (2+) e massa igual a 4 u.
- Radiação β^- ou emissão de elétrons (partículas negativas), que é resultado da desintegração de um nêutron que produz um próton, um elétron e neutrino.
- Radiação β^+ ou emissão de pósitrons. Nesse tipo de decaimento um próton se transforma em um nêutron e um anti-neutrino e como alternativa, o núcleo pode capturar um elétron de um dos orbitais. Isso provoca um rearranjo dos elétrons orbitais e a emissão de raios-X característicos.
- Radiação γ , constituída por ondas eletromagnéticas de alta energia e elevado poder de penetração. Essa radiação, que possui velocidade igual à da luz, é freqüentemente acompanhada de emissões α e β .

A radiação gama é o tipo de radiação comumente medida na AAN, uma vez que ela é monoenergética e característica do núcleo emissor.

A taxa de desintegração nuclear ou de decaimento radioativo é proporcional ao número de núcleos radioativos e esta taxa é um parâmetro mensurável, ou seja:

$$\frac{-dN}{dt} = \lambda \cdot N \quad (2.1)$$

Onde, $-dN/dt$ é o decréscimo do número de radionuclídeos por unidade de tempo, freqüentemente chamada de atividade ou taxa de decaimento; λ é a constante de decaimento e N é o número de radionuclídeos.

A equação (2.1) mostra que quanto maior a quantidade de núcleos radioativos presentes na amostra, maior será sua atividade. Cada radionuclídeo possui um valor λ característico, de modo que a atividade ou taxa de decaimento é específica para cada radionuclídeo.

Para uma reação de primeira ordem (ATKINS e JONES, 1997), o número de núcleos radioativos (N), após um certo tempo (t_d) de decaimento é dado por:

$$N = N_0 \cdot e^{-\lambda t_d} \quad (2.2)$$

Onde N_0 é o número de núcleos radioativos presentes inicialmente, isso é, para um tempo de decaimento igual a zero.

Sendo z o coeficiente de detecção do equipamento de medida, a atividade do radionuclídeo em termos de taxas de contagens é dada por:

$$A = z \cdot N \quad (2.3)$$

E portanto, pode-se ter a seguinte relação:

$$A = A_0 \cdot e^{-\lambda t_d} \quad (2.4)$$

Onde A é a atividade da amostra em taxas de contagem e A_0 é a atividade da amostra em taxa de contagem, para um tempo de decaimento igual a zero.

Na caracterização do radionuclídeo, o termo tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) é utilizado preferencialmente em relação à constante de decaimento. O tempo de meia-vida é o tempo para o qual o número de radionuclídeos é reduzido a metade, ou seja:

$$N = N_0 / 2 \quad (2.5) \quad \text{para } t_d = t_{1/2}$$

Substituindo a relação (2.5) na relação (2.2) tem-se:

$$1/2 = e^{-\lambda t_{1/2}}$$

Na forma logarítmica, tem-se:

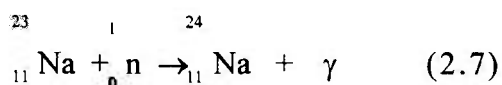
$$t_{1/2} = \ln 2 / \lambda, \text{ ou seja: } \lambda = \ln 2 / t_{1/2}$$

Substituindo a relação $\lambda = \ln 2 / t_{1/2}$ na relação (2.4), tem-se:

$$A = A_0 \cdot e^{-\ln 2 t_d / t_{1/2}} \quad \text{ou} \quad A = A_0 \cdot e^{-0,693 t_d / t_{1/2}} \quad (2.6)$$

A análise por ativação requer a conversão de um núcleo estável em um núcleo radioativo. Essa transmutação ocorre por meio de uma reação nuclear, resultante da irradiação ou bombardeamento de um núcleo alvo com nêutrons, partículas energéticas carregadas ou fótons de alta energia. A reação nuclear também leva, freqüentemente, à produção de partículas adicionais carregadas, nêutrons e radiação gama.

Como exemplo de uma reação nuclear pode-se citar a reação do sódio com nêutrons:



A notação usual é: ${}^{23}\text{Na} (n, \gamma) {}^{24}\text{Na}$

A maioria das reações nucleares da análise por ativação com nêutrons são do tipo (n, γ) . A probabilidade de ocorrer a reação nuclear resultante do bombardeamento do núcleo alvo é expressa pela secção de choque (σ). A secção de choque é a área fictícia do núcleo exposto a radiação e depende do núcleo atômico, da reação considerada, do tipo de partícula utilizada no bombardeamento e de sua energia.

Quando numa reação nuclear há formação de um núcleo radioativo, o processo é chamado ativação e o bombardeamento é a irradiação.

Na análise por ativação com nêutrons os materiais a serem analisados são submetidos a um fluxo de nêutrons que por meio de uma colisão inelástica com o núcleo alvo, origina um núcleo composto de alta energia de excitação. Este núcleo formado é instável e passa rapidamente para uma configuração mais estável. Este processo envolve, geralmente, a emissão de partículas nucleares ou raios gama prontos. O nuclídeo formado é radioativo e sofre decaimento emitindo raios gama até atingir uma configuração estável.

Considerando a reação nuclear genérica: ${}^A_Z X (n, \gamma) {}^{A+1}_Z X$

O radionuclídeo produzido decai até um núcleo atômico estável W com a emissão da radiação característica. A Figura 2.1 ilustra o esquema da seqüência de eventos que ocorre em a reação nuclear genérica ${}^A_Z X (n, \gamma) {}^{A+1}_Z X$.

Como pode ser visto no esquema da Figura 2.1, ocorre a emissão da radiação gama de decaimento do núcleo radioativo formado. Por meio da medida da energia desta radiação gama e, conhecendo-se o esquema de desintegração radioativa, pode-se identificar o radionuclídeo formado. Esta identificação pode ser ainda mais seletiva, conhecendo-se o tempo de meia-vida do radionuclídeo formado. Uma vez identificado o radionuclídeo ${}^{A+1}_Z X$, pode-se determinar a natureza de X conhecendo-se a reação nuclear ocorrida.

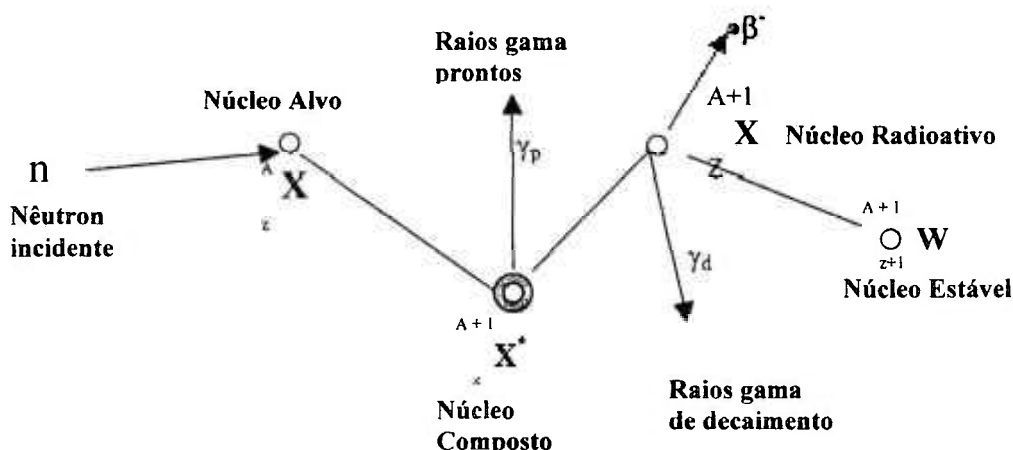


Figura 2.1 Seqüência de eventos para uma reação nuclear (n, γ)

A AAN quantitativa, baseia-se na medida da atividade do radionuclídeo ${}^A_{Z}X^{A+1}$, cuja radioatividade é proporcional ao número de núcleos alvo ${}^A_Z X$, da amostra irradiada.

Desta forma, o método de análise por ativação com nêutrons baseia-se nas propriedades do núcleo e consiste basicamente na produção de radionuclídeos artificiais a partir de elementos estáveis para análise qualitativa e quantitativa, a qual é realizada por meio das medidas das radiações emitidas por estes radionuclídeos.

Por meio das medidas da radiação gama, usando detectores de estado sólido obtém-se os chamados espectros de raios gama. O posterior processamento destes dados espectrais, por programas específicos de computação, possibilita normalmente, a análise de cerca de trinta elementos utilizando-se a técnica puramente instrumental da AAN isto é, sem realizar as separações radioquímicas.

Supondo que um elemento de massa m de uma amostra seja irradiado por um fluxo de nêutrons por um tempo t_i . A atividade induzida a um elemento após este tempo de irradiação, é dada por (DE SOETE e col., 1972):

$$A_0 = \frac{z \phi \sigma N_{Av} m f [1 - e^{-0.693 t_i / t_{1/2}}]}{M} \quad (2.8)$$

Onde:

A_0 - atividade em taxas de contagens no final da irradiação isto é, para tempo de decaimento igual a zero ($t_d = 0$)

z - coeficiente de detecção ou eficiência do detector

ϕ - fluxo de nêutrons, em $n \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$

σ - secção de choque em cm

N_{Av} - número de Avogadro

m - massa do elemento

f - abundância isotópica do nuclídeo alvo

M - massa atômica do elemento

t_i - tempo de irradiação

$t_{1/2}$ - tempo de meia vida do radionuclídeo considerado

A massa m da relação (2.8) pode ser obtida desde que todos os seus parâmetros (ϕ , σ , f etc.) sejam conhecidos. Neste caso, pode-se aplicar o método denominado análise por ativação com nêutrons absoluto. Para evitar o uso destes parâmetros que nem sempre são disponíveis com uma boa exatidão, é mais freqüente o uso da AAN comparativa. Neste caso, as amostras são irradiadas simultaneamente com os padrões sintéticos dos elementos, que são previamente preparados a partir de soluções padrão dos elementos de interesse. Após adequados tempos de decaimento, as amostras e os padrões são medidos sob a mesma geometria de contagem.

Escrevendo a relação (2.8) para um mesmo elemento da amostra e do padrão, irradiados e medidos na mesma geometria pode-se obter as seguintes relações:

$$A_{0a} = \frac{z \phi \sigma N_{Av} m_a f [1 - e^{-0,693 t/t_{1/2}}]}{M} \quad (2.9)$$

$$A_{0p} = \frac{z \phi \sigma N_{Av} m_p f [1 - e^{-0,693 t/t_{1/2}}]}{M} \quad (2.10)$$

Onde os índices a e p se referem a amostra e padrão, respectivamente. Dividindo-se a relação (2.9) pela relação (2.10), tem-se:

$$A_{0a}/A_{0p} = m_a/m_p \quad \therefore \quad m_a = A_{0a}.m_p / A_{0p} \quad (2.11)$$

Nesta relação (2.11), A_{0a} e A_{0p} são os valores das taxas de contagens da amostra e padrão medidos para um mesmo tempo de decaimento ($t_d=0$). Sendo na prática, amostra e padrão são medidos para diferentes tempos de decaimento, t_{da} e t_{dp} respectivamente, aplica-se a relação da lei de decaimento radioativo para a correção de tempo de decaimento.

Aplicando a lei de decaimento radioativo (2.6) para amostra e padrão, tem-se:

$$A_{0a} = A_a e^{0,693 t_{da}/t_{1/2}} \quad (2.12) \quad \text{e} \quad A_{0p} = A_p e^{0,693 t_{dp}/t_{1/2}} \quad (2.13)$$

onde:

A_0 é a taxa de contagem para $t_d = 0$

A_a é a atividade do elemento na amostra

A_p é a atividade do elemento no padrão

Substituindo as equações (2.12) e (2.13) na equação (2.11) pode-se calcular a massa do elemento na amostra pela seguinte relação:

$$m_a = \frac{m_p \cdot A_a \cdot e^{0,693 t_{da}/t_{1/2}}}{A_p \cdot e^{0,693 t_{dp}/t_{1/2}}}$$

$$m_a = \frac{m_p \cdot A_a \cdot e^{0,693 (t_{da} - t_{dp})/t_{1/2}}}{A_p} \quad (2.14)$$

Sendo que a concentração do elemento C_a na amostra é dada pela relação $C_a = m_a / M_a$ ou seja, $m_a = C_a \cdot M_a$ (onde m_a é a massa do elemento na amostra e M_a é a massa total da amostra), em termos de concentração a equação (2.14) pode ser escrita como:

$$C_a = \frac{m_p \cdot A_a \cdot e^{0,693 (t_{da} - t_{dp})/t}}{A_p \cdot M_a} \quad (2.15)$$

onde:

C_a = concentração do elemento na amostra; m_p = massa do elemento no padrão; M_a = massa total da amostra; A_a = taxa de contagens da amostra para tempo de decaimento t_{da} e A_p = taxas de contagens do padrão para tempo de decaimento t_{dp} .

A equação (2.15) é utilizada para o cálculo da concentração do elemento pelo método comparativo de AAN.

2.2 Aplicações, vantagens e desvantagens do método de AAN

A primeira aplicação analítica da radioatividade artificial foi publicada por volta de 1936 por Hevesy e Levi, que fizeram determinações de quantidades traço de disprósio utilizando o método de análise por ativação com nêutrons.

Na década de 1940, com o desenvolvimento dos reatores de pesquisa e na década de 1950 com o advento dos detectores sólidos de iodeto de sódio, este método progrediu

significativamente tornando-se uma das técnicas mais importantes para análise de elementos traço.

Atualmente com o surgimento dos detectores de germânio-hiperpuro de alta resolução e com os avanços obtidos na informatização dos sistemas, este método de análise preenche os requisitos de alta especificidade e seletividade, que são requisitos muito importantes para uma técnica analítica. A especificidade refere-se a característica de poder correlacionar diretamente e de forma específica o sinal obtido com o elemento procurado e a seletividade refere-se a possibilidade de se medir o elemento procurado na presença de outros elementos que emitem sinais da mesma natureza.

A análise por ativação com nêutrons vem sendo amplamente utilizada na certificação de materiais de referência, na análise de materiais de alta pureza tais como os semicondutores utilizados na indústria eletrônica, e na análise de diversos tipos de materiais de grande interesse nas áreas de geologia, medicina, de ciências ambientais, etc.

Entre suas principais vantagens pode-se destacar sua característica multielementar e ainda a capacidade de determinação de um número grande de elementos (cerca de trinta) utilizando-se a ativação com nêutrons puramente instrumental. Este método também apresenta alta exatidão, alta precisão, alta sensibilidade e a possibilidade de utilizar uma quantidade muito pequena de amostra, em geral cerca de 100 mg. Além disso é um método de análise não destrutivo, o que significa que a amostra poderá, muitas vezes, ser reutilizada após um período de decaimento, principalmente para amostras submetidas a períodos curtos de irradiação. A determinação de muitos elementos se dá a níveis da ordem

de $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb). O tempo de análise varia de acordo com os elementos de interesse, podendo-se obter resultados em poucas horas ou até mesmo em cerca de trinta dias.

Embora diversos métodos analíticos tenham alcançado um alto grau de desenvolvimento, principalmente no que se refere à sensibilidade para um grande número de elementos, a análise por ativação ainda ocupa um lugar de destaque entre outras técnicas de análise de baixas concentrações de elementos.

Além disso, a AAN dispensa a utilização do “branco”, requisito muito comum em várias técnicas analíticas.

Entre as desvantagens desta técnica convém ressaltar a impossibilidade de identificar a forma química dos elementos. Outra desvantagem está na impossibilidade de se determinar alguns elementos tais como o oxigênio, nitrogênio, carbono, enxofre e outros que não possuem características favoráveis a ativação. A demora na obtenção de resultados para alguns elementos, pode ser encarada como uma terceira desvantagem desta técnica. Além disso, a AAN exige a utilização de um reator nuclear de pesquisa e por ser um método radioquímico gera rejeitos radioativos.

CAPÍTULO 3

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Coleta das amostras de líquens

3.1.1 Espécies de líquens coletadas

As espécies de líquens coletadas no presente trabalho foram *Canoparmelia texana* (Tuck.) Elix & Hale, *Canoparmelia caroliniana* (Nylander) Elix & Hale, *Parmotrema sancti-angeli* (Lynge) Hale, *Parmotrema tinctorum* (Nylander) Hale e *Usnea* sp.

3.1.2 Características das espécies de líquens analisadas

Para a coleta de líquens, deve-se lembrar que eles são extremamente suscetíveis às mudanças do meio ambiente e, portanto, muitas espécies tendem a se extinguir nas regiões urbanizadas e/ou poluídas, formando o chamado deserto líquênico. Por outro lado, existem espécies que surgem exatamente nestas áreas poluídas e urbanizadas.

Na liquenologia o termo bioindicador significa: espécies que surgem com a poluição. No Brasil, a espécie que melhor se enquadra nesta definição é *Canoparmelia texana* (MARCELLI,1998b).

Canoparmelia texana (Tuck.) Elix & Hale é um líquen epífito, folhoso da família Parmeliaceae, extremamente abundante em praticamente todas as cidades não litorâneas do Brasil. Ele aparece em regiões de poluição relativamente elevada, onde todas as outras espécies já desapareceram (MARCELLI,1998b).

Na realidade, enquanto as outras espécies desaparecem de regiões poluídas, *C. texana* é muito mais abundante nessas regiões do que nos ambientes naturais não poluídos, o que o caracteriza como uma espécie indicadora de poluição, com comportamento similar à *Lecanora conizaeoides* da Europa. Sendo assim, *C. texana* é um competidor fraco em condições naturais, quando normalmente se restringe aos ramos mais finos das árvores e troncos expostos em pastos e beira de estradas de terra, sempre com baixa frequência. Entretanto, quando os seus competidores desaparecem do ambiente ele encontra um habitat desocupado e, graças à sua alta tolerância à poluição, ocupa grandes extensões de troncos numa alta frequência, como é comum se observar nas praças, parques e campus universitários nas grandes cidades (MARCELLI,1998b).

A Figura 3.1 mostra a fotografia de um líquen *C. texana* coletada e colocada sobre uma folha de papel.

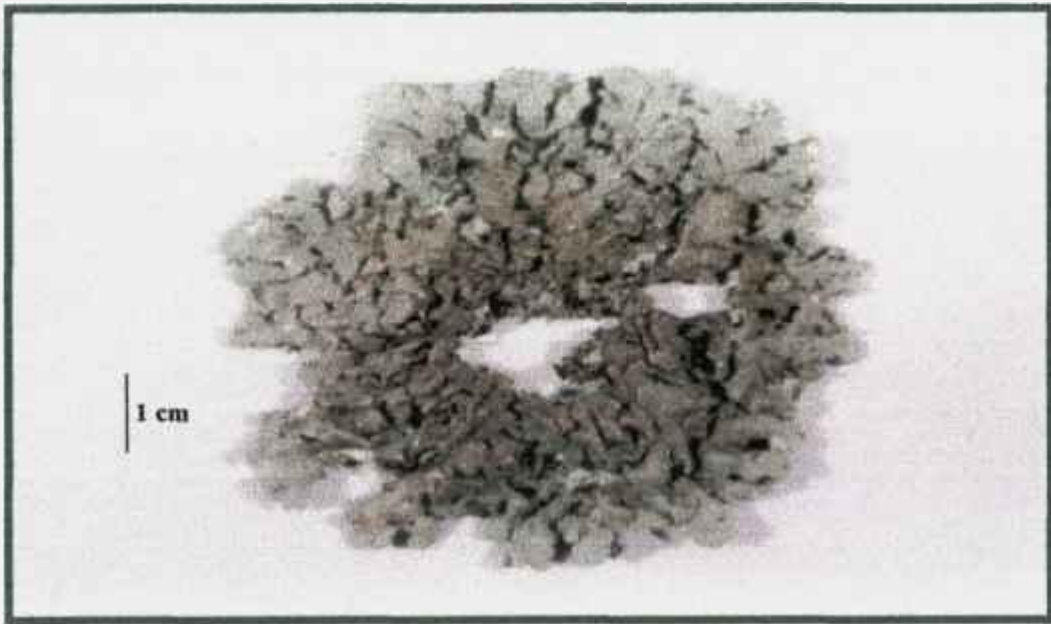


Figura 3.1 Foto de *Canoparmelia texana*

Apesar de a *C. texana* apresentar características ideais à biomonitoração, a análise de outras espécies de fungos liquenizados torna-se de grande interesse para o conhecimento da capacidade de absorção destas espécies e para o estudo da correlação existente entre os teores elementares em diferentes espécies, principalmente considerando-se a escassa bibliografia brasileira no campo da biomonitoração de elementos traço.

De maneira geral, quando a taxa de urbanização vai diminuindo, pode-se encontrar espécies como *Canoparmelia caroliniana* (Nylander) Elix & Hale, *Parmotrema sancti-angeli* (Lynge) Hale, *Parmotrema tinctorum* (Nylander) Hale, entre outras. Em áreas com índices de poluição ainda mais baixos pode-se encontrar *Usnea* sp. (MARCELLI, 1998b).

Como a ocorrência destas quatro espécies é relativamente comum em áreas com níveis de poluição aparente, suas análises poderão ser posteriormente, utilizadas na avaliação dos níveis de poluentes em regiões onde *C. texana* não exista.

As espécies *C. caroliniana*, *P. sancti-angeli* e *P. tinctorum* são líquens folhosos e *Usnea* sp. é um líquen fruticoso. As Figuras 3.2, 3.3 e 3.4 e 5.5 mostram as fotos dessas quatro espécies de líquens sobre folhas de papel.

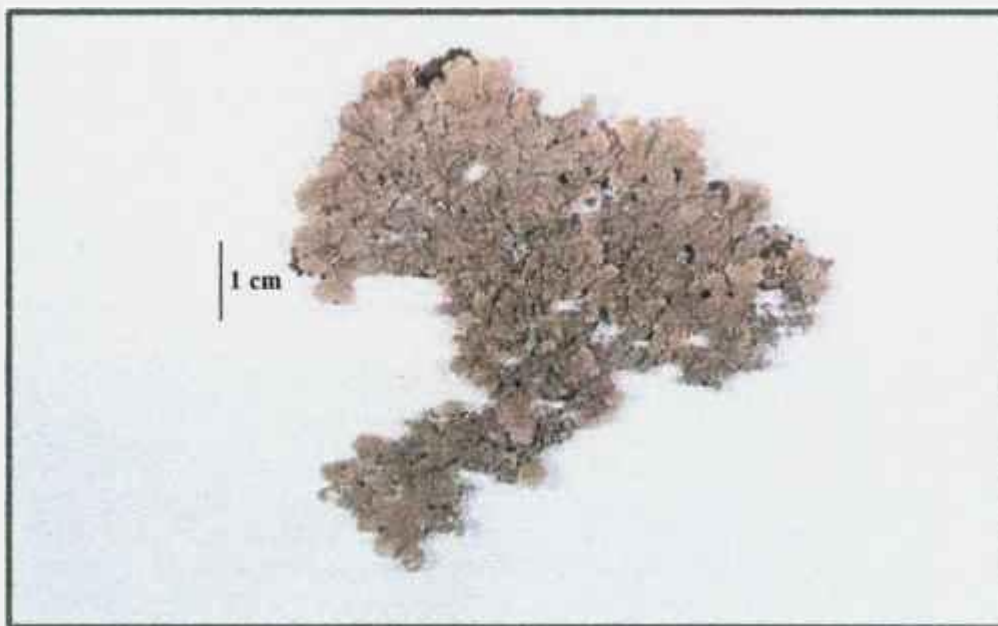


Figura 3.2 Foto de *Canoparmelia caroliniana*



Figura 3.3 Foto de *Parmotrema sancti-angeli*

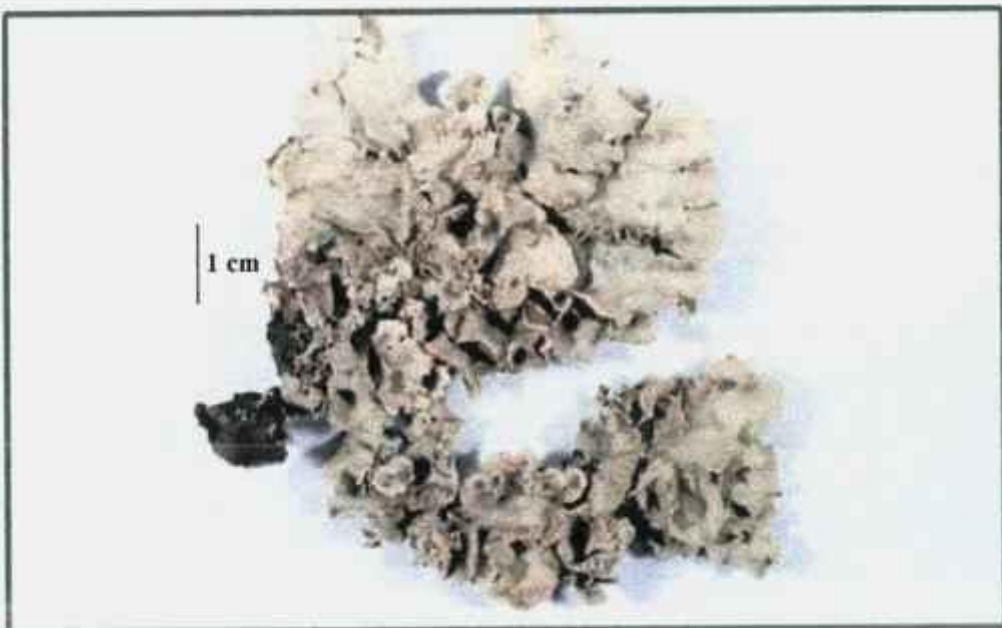


Figura 3.4 Foto de *Parmotrema tinctorum*



Figura 3.5 Foto de *Usnea* sp.

A utilização das cinco espécies de líquens coletadas, no presente trabalho pode ser considerada adequada a estudos de biomonitoração segundo os seguintes critérios:

- tolerância aparente à poluição;
- frequência com que é encontrada na natureza e
- facilidade de coleta

C. texana, *C. caroliniana*, *P. sancti-angeli* e *P. tinctorum* possuem talo circular e crescimento radial. A taxa de crescimento, para líquens folhosos, varia de 0,5 a 5 mm por ano e está relacionada com a umidade local e portanto, com o saldo de fotossíntese. Deste modo, a taxa de crescimento não é constante, sendo maior nas estações chuvosas e menor nas estações de seca (HAWKSWORTH e HILL, 1995). A parte central corresponde à

fração mais velha e que portanto, ficou mais tempo exposta enquanto a parte mais jovem corresponde à periférica, com menor tempo de exposição. Como a *Usnea* sp. é um líquen fruticoso, seu crescimento é apical e sua idade pode ser estimada pelo tamanho do talo.

3.1.3 Procedimento para coleta

Os líquens foram retirados da casca de árvores, com o auxílio de uma faca de titânio, a uma altura de aproximadamente 1,30 m do solo e guardados em envelopes de papel. A utilização da faca de titânio de alta pureza evita a contaminação das amostras por outros elementos como aqueles existentes no aço inoxidável. O envelope de papel foi utilizado, no lugar de envelopes plásticos, para evitar a formação de bolores na amostra.

Dados relativos às amostras do líquen coletado, referentes às espécies, às condições climáticas e a época e área de coleta, foram registrados em um formulário elaborado para coleta de líquens.

3.1.4 Amostras coletadas

Os líquens analisados neste trabalho foram divididos, de acordo com o local de coleta, em dois grupos:

Grupo 1 – As amostras deste grupo foram de líquens *C. texana*, coletados no campus da Cidade Universitária de São Paulo, localizada no bairro Butantã, São Paulo, SP. Foi feita a coleta de onze espécimes de *C. texana* em diferentes pontos da Cidade Universitária de São Paulo num raio de 4 km, fixando-se como ponto de partida o prédio do laboratório de Radioquímica no IPEN. Estas amostras foram coletadas no período de agosto de 1996 a fevereiro de 1997.

De acordo com o objetivo da análise as amostras do Grupo I foram subdivididas em três subgrupos:

Subgrupo 1A – Utilizado para o estudo da preparação da amostra quanto a homogeneidade.

Subgrupo 1B – Utilizado para a avaliação das concentrações elementares em função do tempo de exposição ou idade dos líquens.

Subgrupo 1C – Utilizado para o estudo da variabilidade de concentrações elementares em amostras de líquens de mesma espécie, porém coletados em diferentes pontos de uma mesma região.

Grupo 2 – Para o estudo do acúmulo de elementos em diferentes espécies de líquens, foi feita a amostragem de cinco espécies distintas de fungos liquenizados no Instituto de Botânica, localizado no Parque Estadual das Fontes do Rio Ipiranga (PEFI), SP, região esta com índice de poluição sensivelmente mais baixo que o da zona urbana da cidade. A coleta foi feita em um raio de aproximadamente 3 km, que englobou a área do estacionamento, da Avenida das Palmeiras e do Orquidário. As espécies coletadas foram de líquens *Canoparmelia caroliniana*, *Parmotrema sancti-angeli*, *Parmotrema tinctorum*,

Usnea sp. e *Canoparmelia texana*. Todas as amostras foram coletadas em novembro de 1997. Na Tabela 3.1 encontra-se a relação das amostras coletadas no Instituto de Botânica.

Como pode ser verificado na Tabela 3.1, no caso da *C. texana* foram coletados 6 espécimes com o objetivo de avaliar possíveis contaminações antropogênicas, desta forma quatro espécimes foram coletados no estacionamento, um espécime foi coletado no Orquidário e um espécime foi coletado na Avenida das Palmeiras.

A identificação dos espécimes de líquens coletados neste trabalho, foram realizadas em colaboração com o Instituto de Botânica de São Paulo.

Tabela 3.1 Relação do número de amostras de líquens coletados
no Instituto de Botânica, São Paulo, SP

Local Espécies	Estacionamento	Av. das Palmeiras	Orquidário
<i>C. texana</i>	4	1	1
<i>C. caroliniana</i>	-		3
<i>P. tinctorum</i>	-	4	-
<i>P. sancti-angeli</i>	-	2	-
<i>Usnea</i> sp.	-	3	-

3.1.5 Tratamento das amostras de líquens

No laboratório, essas amostras foram submetidas a uma limpeza para separá-las das cascas de árvore aderidas. A limpeza mecânica foi realizada utilizando-se pinças revestidas de teflon e examinando as amostras em um microscópio estereoscópico da marca Olympus, modelo SZ 4045.

Posteriormente, as amostras foram tratadas com água destilada, a fim de eliminar os particulados do solo ou do substrato e foram colocadas sobre papel de filtro para a secagem a temperatura ambiente. Durante a lavagem, a amostra permaneceu cerca de 5 minutos imersa em água destilada. Os líquens absorvem água com muita rapidez chegando a acumular seu próprio peso em água, mas a perdem com a mesma facilidade. Para viabilizar o tempo necessário para secagem por liofilização, as amostras lavadas foram colocadas sobre um papel de filtro, por cerca de duas horas e a seguir congeladas num freezer. O liofilizador utilizado para secagem das amostras foi da marca Micro Modulyo da Edwards. O tempo necessário para a liofilização foi estimado por meio das pesagens das amostras antes e depois do processo de secagem, isto é, este processo de secagem foi realizado até obter-se massa constante da amostra. A perda de peso em percentagem variou de 15 a 40% dependendo das amostras, e os períodos de liofilização variaram de 8 a 15 horas sob pressão de aproximadamente 4×10^{-2} mmHg. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas, por meio de moagem manual, em um almofariz de ágata. Após esta homogeneização, as amostras foram transferidas para recipientes plásticos, previamente lavados com solução diluída de ácido nítrico em água destilada.

3.2 Preparação dos padrões elementares para análise por ativação

3.2.1 Preparação das soluções padrão dos elementos

As soluções padrão foram preparadas dissolvendo-se os elementos nas formas de metal, óxido ou sal, todos de alta pureza, utilizando-se reagentes de grau p.a. e efetuando a diluição com água destilada em balões volumétricos previamente calibrados. Para o padrão dos elementos Al, Cu e Ti, foram utilizadas as soluções Titrisol da Merck. Estas soluções padrão foram guardadas em frascos de polietileno previamente limpos e as tampas foram vedadas com parafilme. Os frascos foram acondicionados em um recipiente de isopor e guardados na geladeira a aproximadamente 8°C. A Tabela 3.2 mostra os reagentes utilizados na preparação das soluções, bem como o modo de preparo.

A partir destas soluções padrão estoque de elementos foram preparadas soluções mais diluídas, contendo um ou mais elementos. As soluções padrão multielementares dos elementos estão relacionadas na Tabela 3.3 juntamente com as massas de cada um dos elementos nos padrões sintéticos. A preparação destes padrões sintéticos está descrita no item 3.2.2 deste Capítulo.

Tabela 3.2 Preparação das soluções padrão dos elementos

Elemento	Forma do composto utilizado	Modo de preparo	[Elemento] mg / ml
Al	Solução Titrisol da Merck	Diluição com água destilada	10,00
As	As ₂ O ₃ da JMC*	Dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente	10,00
Br	KBr da Aldrich Chemical Ltd.	Dissolução com água destilada	1,349
Ca	Solução Titrisol da Merck		20,00
Cd	Cd metálico de alta pureza da JMC	Dissolução em HNO ₃ p.a. da Merck, a quente; diluição em água destilada	23,99
Ce	Solução do NIST** de Ce(NO ₃) ₃	Diluição com água destilada	10,00
Cl	NaCl p. a. da Merck	Calcinado por 2 h a 800°C, dissolução e diluição com água destilada	10,010
Co	Solução Titrisol da Merck	Diluição com água destilada	10,00
Cr	Cr metálico da JMC	Dissolução com HF e H ₂ SO ₄ e diluição com água destilada	7,790
Cs	CsCl p. a. da JMC	Dissolução e diluição com água destilada	1,047
Cu	Solução Titrisol da Merck	Diluição com água destilada	10,00
Eu	Eu ₂ O ₃ p.a. da JMC	Calcinação a 800°C por 2 horas e dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck. Diluição com água destilada	1,012
Fe	Fe metálico de alta pureza da J. T. Baker	Dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente e diluição com água destilada	10,23
K	K ₂ CO ₃ p.a. da Aldrich	Dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente e diluição com água destilada	40,027
La	La ₂ O ₃ da Drug Houses Ltd.	Calcinação a 800°C por 2 horas e dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente. Diluição com água destilada	1,021

Continuação da Tabela 3.2

Lu	Lu ₂ O ₃ p.a. da JMC	Calcinação a 800°C por 2 horas e dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente. Diluição com água destilada	1,008
Mg	MgO do Chimie Test	Dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente e diluição com água destilada	20,02
Mn	Mn metálico de alta pureza (lasca)	Dissolução com ácido acético e gotas de água oxigenada, a quente e diluição com água destilada	1,810
Mo	MoO ₃ da JMC	Dissolução com gotas de NH ₄ OH p.a. e diluição com água destilada	0,4972
Na	NaCl p.a. da Merck	Calcinado por 2h a 800°C , dissolução com água destilada	6,491
Nd	Nd ₂ O ₃ da JMC	Calcinação a 800°C por 2 horas e dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente e diluição com água destilada	1,051
Rb	RbCl da JMC	Dissolução e diluição com água destilada	1,036
Sb	Solução da JMC	Diluição com água destilada	10,00
Sc	Sc ₂ O ₃ da JMC	Calcinação a 800°C por 2 horas e dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente. Diluição com água destilada	0,6246
Se	SeO ₂ da JMC	Dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente e diluição com água destilada	2,047
Sm	Sm ₂ O ₃ da JMC.	Calcinação a 800°C por 2 horas e dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente. Diluição com água destilada	1,023
Tb	Tb ₄ O ₇ da JMC.	Calcinação a 800°C por 2 horas e dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente. Diluição com água destilada	1,122
Th	Solução de Th(NO ₃) ₄ do NIST		1,000
Ti	Solução Titrisol da Merck	Diluição com água destilada	9,980
U	U ₃ O ₈ n° 006 da COGEMA***	Dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente e diluição com água destilada	2,023

Continuação da Tabela 3.2

V	NH ₄ VO ₃ da JMC	Dissolução com gotas de NH ₄ OH p.a. , a quente, diluição com água destilada	1,002
Yb	Yb ₂ O ₃ da JMC	Calcinação a 800°C por 2 horas e dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente. Diluição com água destilada.	1,008
Zn	Zn metálico de alta pureza da JMC	Dissolução com HNO ₃ p.a. da Merck, a quente, e diluição com água destilada	12,82

* - JMC - Johnson Matthey Chemical Limited

** - NIST - National Institute of Standards and Technology

*** - COGEMA - Compagne Generale de Matierés Nucléaires-France

Tabela 3.3 Concentrações das soluções padrão dos elementos e massas dos elementos nos padrões sintéticos

Código da solução padrão	Concentrações dos elementos (mg/ml)	Massas dos elementos nos padrões sintéticos (µg)
DAC	[Al] = 2,0 [Cu] = 0,80 [Mn] = 0,02896 [V] = 0,04064	Al = 100,0 Cu = 40,0 Mn = 1,448 V = 2,003
DMT	[K] = 21,33 [Mg] = 20,0	K = 1066,6 Mg = 1000
DCL	[Cl] = 4,004 [Na] = 2,597	Cl = 200,2 Na = 129,8
DBR	[Br] = 0,1079	Br = 5,398
DTI	[Ti] = 9,98	Ti = 499
PCK	[Cd] = 0,0719 [Co] = 0,0020 [Cs] = 0,01109 [K] = 21,33 [La] = 0,01021 [Sc] = 0,00125	Cd = 3,595 Co = 0,10 Cs = 0,5548 K = 1066,6 La = 0,5108 Sc = 0,0625
PSA	[As] = 0,030 [Cr] = 0,03116 [Cu] = 0,100 [Mo] = 0,01989 [Sb] = 0,012 [Se] = 0,1638	As = 1,50 Cr = 1,558 Cu = 5,00 Mo = 0,9945 Sb = 0,60 Se = 0,190
PCM	[As] = 0,030 [Cu] = 1,20 [Mn] = 0,07240 [Na] = 0,5208	As = 1,50 Cu = 60,0 Mn = 3,620 Na = 26,04
PCT	[Ce] = 0,080 [Th] = 0,020	Ce = 4,0 Th = 1,0
PTR	[Ce] = 0,080 [Eu] = 0,00202 [La] = 0,02043 [Lu] = 0,00302 [Nd] = 0,04060 [Sm] = 0,01023 [Tb] = 0,00314 [Yb] = 0,0081	Ce = 4,0 Eu = 0,101 La = 1,0215 Lu = 0,151 Nd = 2,0302 Sm = 0,5115 Tb = 0,157 Yb = 0,405
PCA	[Ca] = 20,00; [Fe] = 5,116 [Rb] = 0,0829; [Zn] = 0,7691	Ca = 1000,0; Fe = 255,8 Rb = 4,145; Zn = 38,45
PUR	[U] = 0,02023	U = 1,012

3.2.2 Preparação dos padrões sintéticos dos elementos

Os padrões sintéticos foram preparados pipetando-se 50 μl das soluções padrão simples ou multielementares sobre tiras de papel de filtro Whatman n° 40 de dimensões 1,5 \times 3,5 cm.

A secagem das soluções pipetadas foi feita em dessecador à temperatura ambiente. Após a secagem, estas tiras de papel foram dobradas, com o auxílio de pinças de aço inoxidável e colocadas em invólucros de plástico, de dimensões 1,0 cm \times 2,0 cm aproximadamente. Estes envelopes foram confeccionados utilizando-se folhas de polietileno transparente e incolor, previamente lavados em solução de ácido nítrico diluída e água destilada. Na confecção dos invólucros também utilizou-se ferro elétrico para solda e folha de celofane.

3.3 Procedimento para análise instrumental por ativação com nêutrons

Com o objetivo de analisar um número maior de elementos químicos, foram realizadas irradiações curtas e longas.

3.3.1 Procedimento para análise por ativação por meio de irradiações curtas no reator

Cerca de 150 mg do material, pesados em invólucros de polietileno, juntamente com os padrões sintéticos dos elementos, foram embalados em um novo envoltório de polietileno o qual foi acondicionado em um recipiente de irradiação denominado “coelho” de plástico para ativação no reator nuclear IEA-R1m, do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP), por meio de um sistema pneumático de irradiação.

No reator, as amostras e os padrões sintéticos dos elementos foram submetidos à ativação sob um fluxo de nêutrons térmicos de $4,25 \times 10^{11} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ por um período de 5 minutos.

Logo após a irradiação, as amostras e os padrões sintéticos dos elementos foram fixados em “panelinhas” de aço inoxidável com 3 cm de diâmetro utilizando-se fita crepe para evitar uma eventual contaminação do material irradiado. O fato do material analisado ser sólido faz com que um vazamento seja improvável porém, a fita crepe evita o manuseio direto do material radioativo o que poderia acarretar o rompimento do invólucro plástico e conseqüente contaminação.

As medidas foram realizadas no detector de Ge hiperpuro da Canberra Modelo GX2020 acoplado a um processador Integrado de sinais, modelo 1510 e a placa analisador multicanal S100. A resolução (FWHM) do sistema de contagem utilizado foi de 0,80 keV para o fotopico de 121,97 keV do ^{57}Co e de 1,80 keV para o fotopico de 1331,49 keV do ^{60}Co . O sistema de contagem foi verificado diariamente quanto ao seu funcionamento.

Foram feitas duas séries de contagens em diferentes tempos de decaimento: a primeira cerca de três minutos após o término da irradiação e a segunda após 30 minutos.

A primeira contagem, de 200 segundos, foi feita para determinação dos elementos Al, Br, Cl, Cu, Mg, Ti e V. Para considerar o decaimento dos radioisótopos durante as contagens, registrou-se com um cronômetro, o final da irradiação bem como o início e final de cada contagem. A segunda contagem, de 10 minutos para as amostras e de 5 minutos para os padrões, foi feita para determinação dos elementos Br, Cl, K, Mn e Na.

Para a aquisição dos dados foi utilizado o programa de computação S100 da Canberra, e os espectros gama foram gravados em disquetes e posteriormente processados utilizando-se o programa de computação VERSÃO2, uma nova versão do programa VISPECT2 (PICCOT, 1989) que fornece as energias dos raios gama e as taxas de contagens.

A identificação dos radioisótopos foi feita pela energia dos raios gama e tempo de meia vida, consultando os dados nucleares para a análise por ativação compilados pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, 1990).

A Tabela 3.4 apresenta as energias dos raios gama e o tempo de meia vida dos radioisótopos identificados na irradiação curta e utilizados neste trabalho.

Tabela 3.4 Radioisótopos identificados na irradiação curta e utilizados neste trabalho

Elemento	Radioisótopo medido	Energia dos raios gama (keV)	Meia vida
Al	²⁸ Al	1778,99	2,24 min
Br	⁸⁰ Br	616,30	17,68 min
Cl	³⁸ Cl	1642,69	37,24 min
Cu	⁶⁶ Cu	1039,20	5,10 min
K	⁴² K	1524,58	12,36 h
Mg	²⁷ Mg	843,76; 1014,43	9,46 min
Mn	⁵⁶ Mn	846,76; 1810,72	2,58 h
Na	²⁴ Na	1368,60	14,96 h
Ti	⁵¹ Ti	320,08	5,76 min
V	⁵² V	1434,08	3,75 min

O cálculo das concentrações foi realizado por meio de um programa de computador denominado PAKI, para os dados da primeira contagem e o programa ESPECTRO para os dados da segunda contagem. Estes programas de computação utilizam a relação (2.15) para o cálculo das concentrações. A diferença entre os programas PAKI e ESPECTRO está no fato do primeiro considerar o tempo de decaimento durante a contagem.

3.3.2 Procedimento para análise por ativação por meio de irradiações longas

Alíquotas de 150 mg de cada material foram pesados em envelopes de polietileno ao quais foram envoltos por uma folha de alumínio. Também os envelopes contendo os padrões sintéticos dos elementos foram envoltos com uma folha de alumínio. Para garantir a irradiação das amostras e padrões sob um mesmo fluxo de nêutrons, bem como para facilitar o seu manuseio na abertura do material já irradiado, estas amostras e padrões foram envolvidos por uma nova folha de alumínio, formando um único envelope. Este envelope foi acondicionado em um “coelho” de alumínio para ativação no reator IEA-R1m. A irradiação foi feita sob um fluxo de nêutrons térmicos da ordem de $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, por um período de 16 horas.

Após cerca de três dias de decaimento, cada amostra e padrão foram fixados em “panelinhas” de aço inoxidável, com 3 cm de diâmetro, utilizando-se fita crepe para cobertura. Foram feitas, então, as medidas das atividades gama induzida das amostras e padrões no detetor de Ge hiperpuro, da Canberra com as especificações já descritas no item anterior (3.3.1).

A primeira contagem foi feita após cerca de três dias de decaimento para a determinação dos elementos de meias vida de até uma semana, isto é, dos elementos As, Ca, Cd, Cu, K, La, Lu, Mo, Na, Sb, Sm e U. Nesse caso as amostras foram contadas por 4 h e cada um dos padrões por 90 min.

Na segunda contagem, após cerca de 10 dias de decaimento foram determinados os elementos Cd, Ce, Cr, Fe, Lu, Nd, Rb, Sb, Se, Sm, Tb, Th, Yb e Zn. As amostras foram medidas por um período de aproximadamente 15 h e os padrões durante 90 min.

Após cerca de 30 dias de decaimento foi feita a terceira contagem, de 15 h para as amostras e de 90 min para os padrões. Nesse caso determinaram-se os elementos Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Nd, Rb, Sc, Se, Tb, Th, Yb e Zn cujos radioisótopos correspondentes apresentam tempos de meias vidas longos.

A aquisição dos espectros dos raios gama, assim como o seu processamento foram executados de acordo com o procedimento relatado para as irradiações curtas.

Também a identificação dos radioisótopos, no espectro de raios gama, foi feita utilizando-se as energias dos raios gama e o tempo de meia vida (IAEA,1990).

O cálculo das concentrações foi realizado por meio do programa de computação ESPECTRO.

A Tabela 3.5 apresenta os dados nucleares dos radioisótopos utilizados na identificação das amostras submetidas a irradiações longas.

Tabela 3.5 Radioisótopos identificados na irradiação longa e utilizados neste trabalho

Elemento	Radioisótopo utilizado	Energia dos raios gama (keV)	Meia vida
As	^{76}As	559,10	26,32 h
Ca ($^{46}\text{Ca} (n,\gamma) ^{47}\text{Ca} \xrightarrow{\beta^-} ^{47}\text{Sc}$)	(^{47}Sc) ^{47}Ca	(159,4); 1297,1	4,54 d
Cd	^{115}Cd	336,3; 527,9	53,46 h
Ce	^{141}Ce	145,4	32,5 d
Co	^{60}Co	1173,2	5,27 a
Cr	^{51}Cr	320,1	27,7 d
Cs	^{134}Cs	795,9	2,06 a
Cu	^{64}Cu	1345,8	12,7 h
Eu	^{152}Eu	1408,0	13,33 a
Fe	^{59}Fe	1099,2; 1291,6	44,5 d
K	^{42}K	1524,6	12,36 h
La	^{140}La	1596,2	40,27 h
Lu	^{177}Lu	208,4	6,71 d
Mo	^{99}Mo	140,5	65,94 h
Na	^{24}Na	1368,6	14,96 h
Rb	^{86}Rb	1076,6	18,7 d
Sb	^{122}Sb	564,0	2,75 d
Sc	^{46}Sc	889,3	83,8 d
Se	^{75}Se	264,0	119,8 d
Sm	^{153}Sm	69,7; 103,2	46,3 h
Tb	^{160}Tb	879,4	72,3 d
Th ($^{233}\text{Th} \xrightarrow{\beta^-} ^{233}\text{Pa}$)	^{233}Pa	311,9	27,4 d
U ($^{239}\text{U} \xrightarrow{\beta^-} ^{239}\text{Np}$)	^{239}Np	229,1; 277,9	2,35 d
Yb	^{169}Yb	177,2	32,0 d
Zn	^{65}Zn	1115,5	243,9 d

3.4 Análise dos materiais biológicos de referência certificados

Para examinar a qualidade dos resultados analíticos, quanto a exatidão e precisão, foram realizadas análises de materiais biológicos de referência IAEA 336 Lichen e IAEA 359 Cabbage, provenientes da Agência Internacional de Energia Atômica, Áustria e NIST 1572 Citrus Leaves do National Institute of Standards and Technology, USA. Como estes materiais não apresentam valor certificado para o Ti, foi feita a análise do material de referência geológico denominado W-1 (diabase) da United States Geological Survey (USGS), USA para estudar a exatidão na análise deste elemento.

As condições experimentais utilizadas para estas análises foram as mesmas aplicadas às amostras de líquens. Para expressar os resultados das análises na base seca do material, foram determinadas as perdas de peso na secagem destes materiais de acordo com o procedimento recomendado que consistiu na secagem de uma alíquota de cerca de 200 mg do material a 85°C por cerca de 15 h. Os valores médios, das percentagens de perda de peso obtidos foram de 7,1% para o material IAEA 336 Lichen, 9,1% para o material IAEA 359 Cabbage e 4,9% para o material NIST 1572 Citrus Leaves. Quando se trabalha com materiais geológicos esta perda de peso na secagem é muito pequena, podendo ser considerada desprezível. Desta forma não foi determinada a perda peso na secagem para o material W-1(USGS).

3.5 Análise de amostras de líquens da Agência Internacional de Energia Atômica para certificação

Durante o desenvolvimento do presente trabalho, foi também realizada a análise de dois materiais de referência candidatos à certificação, recebidos da Agência Internacional de Energia Atômica. Os materiais recebidos foram de líquens coletados em duas regiões com índices de poluição bastante diferentes, já na forma de pó e codificados de L-1 e L-2.

Estas amostras foram analisadas nas mesmas condições experimentais de análise adotadas neste trabalho.

Para expressar os resultados na base seca destes materiais, foram feitas as determinações de percentagens de perda de peso conforme as instruções enviadas junto as amostras isto é, secagem de aproximadamente 200 mg do material, a temperatura de 80 °C por um período de 24 h. As percentagens de perda de peso determinadas foram de 9,1% para L-1 e 9,5% para L-2. A participação nesta intercomparação foi muito importante para a análise da qualidade dos resultados obtidos neste trabalho.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos nas análises dos materiais de referência e das amostras das cinco espécies de líquens selecionadas.

4.1 Estudo da precisão e exatidão

Para avaliação dos resultados analíticos quanto à precisão e exatidão foram analisados quatro materiais de referência certificados e dois materiais de referência candidatos à certificação.

Nas Tabelas 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4 são apresentados os resultados obtidos nas análises dos elementos, nos materiais de referência certificados IAEA-336 Lichen, NIST-1572 Citrus Leaves, IAEA-359 Cabbage e rocha diabase W-1(USGS), respectivamente.

Nas Tabelas 4.5 e 4.6 são apresentados os resultados obtidos nas dos materiais de referência candidatos à certificação L – 1 Lichen e L – 2 Lichen.

4.1.1 Material de referência IAEA-336 Lichen

Para o material de referência IAEA-336 Lichen, os resultados da Tabela 4.1, apresentam, em geral, uma boa precisão com desvios padrão relativos variando de 0,5 a 12%.

Com relação à exatidão os resultados obtidos no IAEA-336 Lichen mostram, para a maioria dos elementos uma boa concordância com os valores certificados (IAEA, 1999), excetuando-se para o caso dos elementos Fe e Sb. Para estes dois elementos, foram obtidos valores médios de concentrações fora das faixas apresentadas no certificado. Isto se deve, provavelmente, à complexidade do espectro obtido na ativação desta amostra.

Tabela 4.1 Concentrações elementares no material de referência 336 Lichen da IAEA

Elementos	Média \pm s	n	s _r (%)	Referência (IAEA, 1999)
Al ($\mu\text{g/g}$)	704 \pm 75	6	10,6	680 (570 – 780)*
As ($\mu\text{g/kg}$)	699 \pm 30	6	4,3	630 (550 – 710)
Br ($\mu\text{g/g}$)	12 \pm 1	6	8,3	12,9 (11,2-14,6)
Ca ($\mu\text{g/g}$)	2948 \pm 77	6	2,6	2600 (2400-3000)*
Ce ($\mu\text{g/kg}$)	1,31 \pm 0,03	6	2,2	1,28 (1,11-1,45)
Cl ($\mu\text{g/g}$)	1925 \pm 139	6	7,2	1900 (1650-2200)*
Co ($\mu\text{g/kg}$)	282 \pm 22	6	7,7	290 (240-340)
Cr ($\mu\text{g/g}$)	1,2 \pm 0,1	6	8,3	1,06 (0,89-1,23)*
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	121 \pm 6	6	4,7	110 (97-123)
Eu ($\mu\text{g/kg}$)	25,1 \pm 1,7	6	6,8	23 (19-27)*
Fe ($\mu\text{g/g}$)	526 \pm 21	6	4,0	430 (380-480)
K ($\mu\text{g/g}$)	2117 \pm 5 9	6	2,8	1840 (1640-2040)
La ($\mu\text{g/kg}$)	636 \pm 26	6	4,2	660 (560-760)
Lu ($\mu\text{g/kg}$)	6,5 \pm 0,5	6	8,1	6,6 (4,2-9,0)*
Mg ($\mu\text{g/g}$)	717 \pm 54	6	7,5	610 (500-710)*
Mn ($\mu\text{g/g}$)	65,6 \pm 1,6	6	2,5	63 (56-70)
Na ($\mu\text{g/g}$)	320 \pm 1 2	6	3,9	320 (280-360)
Nd ($\mu\text{g/kg}$)	606 \pm 60	6	10,0	600 (420-780)*
Rb ($\mu\text{g/g}$)	1,79 \pm 0,01	6	0,5	1,76 (1,54-1,98)*
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	90 \pm 4	6	4,1	73 (63-83)
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	170 \pm 10	6	5,6	170 (150-190)*
Se ($\mu\text{g/kg}$)	243 \pm 19	6	7,9	220 (180-260)
Sm ($\mu\text{g/kg}$)	115 \pm 10	6	8,5	106 (92-120)
Tb ($\mu\text{g/kg}$)	18 \pm 2	6	11,7	14 (12-16)*
Th ($\mu\text{g/kg}$)	148 \pm 7	6	4,8	140 (120-160)
Ti ($\mu\text{g/g}$)	55 \pm 11	5	20,3	
V ($\mu\text{g/g}$)	1,4 \pm 0,1	6	6,0	1,47 (1,25-1,69)*
Yb ($\mu\text{g/kg}$)	44 \pm 4	6	9,4	37 (25-49)
Zn ($\mu\text{g/g}$)	34,8 \pm 1,4	6	3,9	30,4 (27-33,8)

s- desvio padrão da média

s_r – desvio padrão relativo

n- indica o número de determinações

* - indica valores informativos

4.1.2 Material de referência NIST-1572 Citrus Leaves

Os resultados obtidos na análise do material de referência NIST-1572 Citrus Leaves, Tabela 4.2, indicam para a maioria dos elementos, precisão aceitável com desvios padrão relativos variando de 1 a 15%. A baixa precisão obtida para Lu, Mo e Sb deve-se, provavelmente, ao fato de esses elementos estarem presentes em concentrações muito baixas ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Para o Cu, a baixa precisão de seu resultado se deve à dificuldade encontrada na determinação deste elemento, já que a medida do ^{64}Cu (cuja meia vida é de 12 horas) sofre a interferência da alta atividade do ^{24}Na , que impossibilita a medida da amostra logo após a irradiação. Além disso, o fotopico de 1345 keV do ^{64}Cu apresentou baixa taxa de contagens para esta amostra. A comparação dos resultados obtidos com os valores da literatura indica uma boa concordância, com percentagens de erros relativos, em geral, inferiores a 15%, exceto para o Al que apresentou um erro relativo de 22%. A baixa exatidão na análise do Al se deve, provavelmente, a uma reação nuclear de interferência do ^{31}P que por meio de uma reação nuclear (n, α) forma ^{28}Al que é o radioisótopo utilizado para a análise do Al.

Tabela 4.2 Concentrações elementares no material de referência NIST-1572 Citrus Leaves

Elementos	Média \pm s	n	s _r (%)	E _r (%)	Ref. (TORO e col,1990)
Al ($\mu\text{g/g}$)	112 \pm 4	6	4	22	92 \pm 15
As ($\mu\text{g/g}$)	3,2 \pm 0,1	6	3	3	3,1 \pm 0,3
Br ($\mu\text{g/g}$)	7,5 \pm 0,7	6	9		8,2*
Ca (%)	3,8 \pm 0,1	6	5	19	3,2 \pm 0,1
Ce ($\mu\text{g/kg}$)	362 \pm 17	6	5		280*
Cl ($\mu\text{g/g}$)	368 \pm 46	6	13		414*
Co ($\mu\text{g/kg}$)	30,2 \pm 2,1	3	7		20*
Cr ($\mu\text{g/kg}$)	765 \pm 29	6	4	4	800 \pm 200
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	99,0 \pm 1,4	3	1		98*
Cu ($\mu\text{g/g}$)	14 \pm 3	3	21	14	16,5 \pm 1,0
Eu ($\mu\text{g/kg}$)	11,0 \pm 1,2	5	11		10*
Fe ($\mu\text{g/g}$)	103 \pm 8	6	8	14	90,0 \pm 9,9
K ($\mu\text{g/g}$)	21283 \pm 722	6	3	17	18200 \pm 600
La ($\mu\text{g/kg}$)	182 \pm 17	6	9		190*
Lu($\mu\text{g/kg}$)	1,8 \pm 0,4	6	22		
Mg ($\mu\text{g/g}$)	5852 \pm 267	6	5	1	5800 \pm 301
Mn ($\mu\text{g/g}$)	22 \pm 1	6	5	5	23 \pm 2
Mo ($\mu\text{g/g}$)	527 \pm 101	6	19		
Na ($\mu\text{g/g}$)	159 \pm 3	6	2	1	160 \pm 21
Nd ($\mu\text{g/kg}$)	280 \pm 19	6	7		
Rb ($\mu\text{g/g}$)	4,7 \pm 0,1	6	3	3	4,84 \pm 0,06
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	50,4 \pm 4,6	6	9		40*
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	10,1 \pm 0,5	5	5		10*
Se ($\mu\text{g/kg}$)	49 \pm 4	6	8		25*
Sm ($\mu\text{g/kg}$)	54,6 \pm 3,5	6	6		52*
Tb ($\mu\text{g/kg}$)	9,5 \pm 0,2	5	2		
Th ($\mu\text{g/kg}$)	15 \pm 2	6	13		
Yb ($\mu\text{g/kg}$)	8,4 \pm 0,1	3	1		
Zn ($\mu\text{g/g}$)	30,7 \pm 1,3	6	4	6	29 \pm 2

s- desvio padrão da média

s_r – desvio padrão relativo

n- indica o número de determinações

* - indica valores informativos

Er – erro relativo

4.1.3 Material de referência IAEA-359 Cabbage

Para o material de referência IAEA-359 Cabbage, cujos valores encontram-se na Tabela 4.3, os resultados obtidos são bastante precisos, com desvios padrão relativos variando de 2 a 15 % para a maioria dos elementos. Para os elementos Lu e Tb, cujos valores calculados para desvio padrão foram de 20 e 21%, respectivamente, a baixa precisão se deve, provavelmente, ao fato desses elementos estarem presentes em concentrações muito baixas ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Para o Al, apesar do desvio padrão não estar muito acima de 15%, a reação de interferência do ^{31}P , explicada para o material de referência Citrus Leaves, pode também explicar o valor de desvio padrão calculado em 16% para o material de referência Cabbage.

Tabela 4.3 Concentrações elementares no material de referência IAEA-359 Cabbage

Elementos	Média ± s	n	s _r (%)	Referência (IAEA, 2000)
Al (µg/g)	179 ± 28	4	16	
As (µg/kg)	117 ± 16	5	14	100 (96 - 104)*
Br (µg/g)	6,9 ± 1,1	6	7	
Ca (%)	2,9 ± 0,2	6	7	1,85 (1,8 - 1,9) *
Ce (µg/kg)	179 ± 22	6	12	
Cl (µg/g)	7961 ± 488	6	6	
Co (µg/kg)	30 ± 2	3	7	
Cr (µg/kg)	1,8 ± 0,2	6	13	1,3 (1,24 - 1,36) *
Cs (µg/kg)	29 ± 1	2	4	
Eu (µg/kg)	11,0 ± 1,2	5	11	
Fe (µg/g)	205 ± 4	6	2	148 (144 - 152)
K (µg/g)	39,1 ± 2,6	6	7	32,5 (31,8 - 33,2)
La (µg/kg)	117 ± 11	5	9	
Lu (µg/kg)	1,8 ± 0,4	6	20	
Mg (µg/g)	2279 ± 326	6	14	2160 (2110 - 2210)
Mn (µg/g)	31,6 ± 1,2	6	4	31,9 (31,3 - 32,5)
Na (µg/g)	581 ± 78	6	13	580 (567 - 601) *
Nd (µg/kg)	280 ± 19	6	7	
Rb (µg/g)	6,4 ± 0,3	6	5	
Sb (µg/kg)	50 ± 5	6	9	
Sc (µg/kg)	10,1 ± 0,5	5	5	
Sm (µg/kg)	53 ± 3	6	5	
Tb (µg/kg)	2,2 ± 0,5	2	23	
Th (µg/kg)	31,8 ± 2,4	6	7	
Zn (µg/g)	43,0 ± 2,9	6	7	38,6 (37,9 - 39,3)

s- desvio padrão da média

s_r - desvio padrão relativo

n- indica o número de determinações

* - indica valores informativos

4.1.4 Material de referência W-1 (USGS)

Para o material de geológico de referência W-1 (USGS) a média dos resultados, apresentada na Tabela 4.4 apresenta uma boa precisão com desvio padrão relativo de 9,9%.

Com relação à exatidão, a média dos resultados obtidos apresentou uma boa concordância com o valor certificado, com erro relativo de 7,7%.

Tabela 4.4 Concentração de Ti no material geológico de referência W-1 (USGS)

Elemento	Média ± s	n	s_r (%)	E_r (%)	Referência (GLADNEY e col, 1983)
Ti (%)	0,591 ± 0,059	3	9,9	7,7	0,614 ± 0,038

s- desvio padrão da média

s_r – desvio padrão relativo

n- indica o número de determinações

* - indica valores informativos

Er – erro relativo

4.1.5 Material candidato à certificação L-1 lichen

Os resultados obtidos para o material candidato a certificação, L – 1 lichen, foram bastante satisfatórios com relação à precisão isto é, os desvios padrão relativos variaram de 0,5 a 13% para todos os elementos, com exceção do resultado obtido para o Ti, que apresentou um desvio padrão de 23%. Neste caso, as baixas taxas de contagens do fotopico do radioisótopo ^{51}Ti , utilizado na identificação do Ti, foram responsáveis pela falta de precisão desse resultado.

A maioria dos resultados de concentrações elementares obtidos para o material L – 1Lichen, encontram-se dentro das faixas de concentração aceitas pela IAEA, com exceção dos resultados obtidos para Ca, Co e Mg.

Tabela 4.5 Concentrações de elementos no material L-1 Lichen

Elementos	n	Média ± s	s _r (%)	Referência (BLEISE e SMODIS, 1999)
Al (mg/kg)	5	1183 ± 69	6	1065 (548 – 1414)
As (mg/kg)	6	1,05 ± 0,04	4	0,97 (0,83 – 1,1)
Br (µg/kg)	6	20,5 ± 0,1	0,5	18,9 (17 – 21)
Ca (mg/kg)	6	6313 ± 270	4	3927 (3225 – 4452)
Cl (mg/kg)	5	2226 ± 61	3	2438 (2110 – 2722)
Co (µg/kg)	6	128 ± 1	1	357 (250 – 4120)
Cs (µg/kg)	6	429 ± 4	1	388 (350 – 432)
Fe (mg/kg)	6	1079 ± 8	1	902 (766 – 1079)
K (mg/kg)	5	3661 ± 190	5	3138 (2695 – 3661)
La (mg/kg)	4	1,13 ± 0,01	1	0,90 (0,6 – 1,1)
Mg (mg/kg)	5	1029 ± 76	7	613 (530 – 731)
Mn (mg/kg)	5	52 ± 1	2	53 (51 – 56)
Na (mg/kg)	6	118,9 ± 1,9	2	124,5 (109 – 142)
Rb (mg/kg)	6	21,1 ± 0,3	1	20,9 (18,7 – 23,2)
Sb (µg/kg)	4	464 ± 4	1	457 (370 – 550)
Sc (µg/kg)	6	263 ± 1	0,5	249 (220 – 270)
Se (µg/kg)	6	394 ± 12	3	
Ti (mg/kg)	4	117 ± 27	23	58,4 (11,7 – 117)
V (mg/kg)	5	3,9 ± 0,5	13	3,6 (3,1 – 4,0)
Zn (mg/kg)	6	112,3 ± 0,3	0,3	111,7 (102 – 123)

s- desvio padrão da média

s_r – desvio padrão relativo

n- indica o número de determinações

4.1.6 Material candidato à certificação L-2 lichen

Para o material candidato a certificação L – 2 lichen, os resultados obtidos foram bastante satisfatórios, com desvios padrão relativos variando de 0,6 a 12% para todos dos elementos. Todos os resultados de concentrações obtidos encontram-se dentro dos intervalos aceitos pela IAEA, com exceção dos resultados obtidos para o Ca e o La.

Tabela 4.6 Concentrações de elementos no material L-2 lichen

Elementos	n	Média ± s	s _r (%)	Referência (BLEISE e SMODIS, 1999)
Al (mg/kg)	5	752 ± 41	5	634 (385 – 803)
As (mg/kg)	6	0,73 ± 0,04	5	0,68 (0,59 – 0,83)
Br (µg/kg)	6	12,8 ± 0,1	1	11,8 (9,5 – 12,8)
Ca (mg/kg)	6	3276 ± 253	8	2489 (2122 – 2820)
Cl (mg/kg)	5	1824 ± 57	3	1964 (1770 – 2210)
Co (µg/kg)	6	106 ± 1	1	286 (237 – 340)
Cs (µg/kg)	6	134 ± 2	1,5	122 (100 – 140)
Fe (mg/kg)	6	528 ± 4	1	444 (360 – 528)
K (mg/kg)	5	2284 ± 138	6	1814 (1510 – 2284)
La (mg/kg)	4	0,80 ± 0,01	1	0,63 (0,56 – 0,71)
Mg (mg/kg)	5	720 ± 88	12	590 (456 – 720)
Mn (mg/kg)	5	60,4 ± 0,8	1,3	64,3 (52 – 75)
Mo (mg/kg)	4	0,57 ± 0,06	11	0,57
Na (mg/kg)	6	309,8 ± 3,4	1	302,9 (266 – 341)
Rb (mg/kg)	6	1,71 ± 0,06	3,5	1,73 (1,62 – 1,85)
Sb (µg/kg)	4	93 ± 2	2	85 (70 – 110)
Sc (µg/kg)	6	179 ± 1	0,6	169 (140 – 190)
Se (µg/kg)	6	256 ± 10	4	225 (190 – 260)
V (mg/kg)	5	1,8 ± 0,2	11	1,5 (1,1 – 1,8)
Zn (mg/kg)	6	31,2 ± 0,1	0,3	31,9 (29 – 36)

s- desvio padrão da média

s_r – desvio padrão relativo

n- indica o número de determinações

4.2 Estudo da homogeneidade das amostras de líquens

Para verificar se os procedimentos adotados na preparação e homogeneização dos líquens foram adequados e também para avaliar a precisão das análises, foi feita a coleta de 1,0 g de *C. texana* de uma mesma árvore e, após a preparação da amostra (item 3.1.5), foram separadas cinco alíquotas de aproximadamente 200,0 mg para as análises em replicata. Estas alíquotas correspondem àquela amostra do Grupo 1 e subgrupo 1A.

Estes resultados são apresentados na Tabela 4.7. Verifica-se nesta Tabela, que os teores mais elevados, da ordem de percentagem, foram obtidos para o Ca. Teores da ordem de $\mu\text{g/g}$ foram obtidos para os elementos: Al, Br, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, K, La, Mg, Mn, Mo, Na, Nd, Rb, V e Zn. Os teores mais baixos, ordem de $\mu\text{g/kg}$ foram determinados para os elementos As, Cs, Eu, Lu, Sb, Sc, Se, Sm, Tb, Th e Yb.

A reprodutibilidade obtida, para a maioria dos resultados obtidos foi satisfatória com desvios padrão relativos variando de 2,9 a 15%. Tendo em vista os resultados obtidos, pode-se concluir que o procedimento adotado para o tratamento das amostras, quanto a homogeneização, foi bastante satisfatório.

Tabela 4.7 Análises da amostra de *C. texana* em replicata

Elementos	n	Média ± s	s _r (%)
Al (µg/g)	3	2120 ± 125	5,9
As (µg/kg)	5	807 ± 59	7,3
Br (µg/g)	5	16,3 ± 2,9	17,8
Ca (%)	5	2,98 ± 0,19	8,4
Cd (µg/kg)	5	1522 ± 87	6,4
Ce (µg/g)	5	6,5 ± 0,3	4,6
Cl (µg/g)	5	520 ± 15	2,9
Co (µg/g)	5	2,1 ± 0,5	21
Cr (µg/g)	4	5,2 ± 0,6	12
Cs (µg/kg)	5	203 ± 18	8,7
Cu (µg/g)	3	11,1 ± 1,9	17,1
Eu (µg/kg)	5	71 ± 5	7,3
Fe (µg/g)	5	1683 ± 143	8,5
K (µg/g)	5	1832 ± 255	13,9
La (µg/g)	5	3,6 ± 0,2	6,3
Lu (µg/kg)	5	18,5 ± 1,7	9,3
Mg (µg/g)	5	1419 ± 204	14,4
Mn (µg/g)	5	70 ± 4	5,7
Mo (µg/g)	5	1,1 ± 0,1	10,2
Na (µg/g)	5	127 ± 7	5,7
Nd (µg/g)	5	2,4 ± 0,3	10,7
Rb (µg/g)	4	10,1 ± 1,2	11,9
Sb (µg/kg)	5	484 ± 46	9,5
Sc (µg/kg)	3	277 ± 26	9,4
Se (µg/kg)	5	299 ± 39	12,9
Sm (µg/kg)	5	341,4 ± 22,5	6,6
Tb (µg/kg)	5	47,2 ± 4,9	10,0
Th (µg/kg)	5	555 ± 53	9,5
Ti (µg/g)	5	179 ± 11	6,1
V (µg/g)	5	5,5 ± 0,4	7,3
Yb (µg/kg)	5	99,7 ± 13,2	13,2
Zn (µg/g)	5	103,8 ± 8,7	8,4

n- indica o número de determinações

Na Tabela 4.7 os resultados menos precisos, com desvios padrão relativos 17,8, 22,0 e 17,1% foram obtidos para Br, Co e Cu respectivamente. Para Br e Co, a baixa precisão se deve, provavelmente, às baixas concentrações desses elementos na amostra. Para o Cu, como foi discutido no material de referência Citrus Leaves, a baixa precisão se deve, provavelmente, às dificuldades encontradas em se determinar este elemento utilizando-se simplesmente o método de análise por ativação instrumental. Neste caso seria conveniente realizar uma separação radioquímica para se obter uma boa precisão dos resultados.

4.3 Estudo das concentrações elementares em partes do talo com idades diferentes

Com o objetivo de analisar a influência da idade e/ou do tempo de exposição, nas concentrações elementares dos líquens, foram selecionados cinco espécimes de *C. texana* e cada espécime foi dividido em duas frações, constituídas das partes central e periférica. A fração central da amostra foi representada por C e a região periférica por F. No caso, a parte central corresponde à de maior idade ou seja, com maior tempo de exposição.

A amostragem do *C. texana* para este estudo, foi realizada em diferentes pontos do campus da Cidade Universitária e estas amostras correspondem àquelas do Grupo 1, subgrupo 1B.

Na Tabela 4.8 estão os resultados obtidos para as partes centrais e periféricas das amostras de *C. texana*. Como pode ser verificado nesta Tabela, os resultados obtidos

mostraram concentrações mais elevadas nas partes centrais das amostras. Para alguns elementos, tais como Co, Mn, Rb e Zn as concentrações obtidas em ambas frações foram muito próximas. Estes resultados indicam que o acúmulo dos elementos nos líquens se dá ao longo dos anos e portanto quanto maior o tempo de exposição maior a concentração dos elementos acumulados.

As Figuras 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5 permitem a visualização da diferença de concentrações obtidas para partes central e periférica de cada uma das amostras de *C. texana*. Os elementos foram selecionados e agrupados, nestas Figuras, de acordo com a ordem de grandeza das concentrações.

Tabela 4.8 Concentrações de elementos nas partes central e periférica das amostras de *C. texana* (C-fração central, P-fração periférica)
(Resultados em µg/kg a menos que esteja indicado)

Elementos	C. texana 1		C. texana 2			C. texana 3			C. texana 4			C. texana 5		
	C1	P1	C2	P2	C3	P3	C4	P4	C5	P5				
Al (µg/g)			3410 ± 63	2056 ± 28	1431 ± 56	631 ± 24	2544 ± 49	1393 ± 20	3187 ± 54	927 ± 14				
As	1099 ± 10 ^(a)	914 ± 11	982 ± 9	846 ± 10	563 ± 9	304 ± 7	879 ± 7	607 ± 7	876 ± 10	684 ± 10				
Ca (%)	8,99 ± 0,07	6,23 ± 0,05	12,3 ± 0,09	9,07 ± 0,06	13,13 ± 0,09	9,27 ± 0,07	5,26 ± 0,04	4,01 ± 0,03	4,80 ± 0,03	2,03 ± 0,01				
Cd (µg/g)	3,3 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1	3,1 ± 0,2	2,1 ± 0,1	2,5 ± 0,2	1,2 ± 0,1				
Ce	8367 ± 24	5616 ± 16	7003 ± 20	5156 ± 19	3532 ± 16	1817 ± 13	6935 ± 25	3996 ± 14	7469 ± 21	2521 ± 14				
Cl (µg/g)	208 ± 1	176 ± 5	265 ± 7	166 ± 4	143 ± 4	172 ± 4	210 ± 9	186 ± 4	224 ± 5	158 ± 3				
Co	1570 ± 6	1739 ± 22	639 ± 10	1793 ± 27	1949 ± 30	1258 ± 18	1452 ± 21	1452 ± 21	1465 ± 21	1314 ± 19				
Cr	8691 ± 70	5186 ± 45	7410 ± 56	6379 ± 51	4371 ± 40	2116 ± 24	6975 ± 56	4604 ± 40	7490 ± 60	3711 ± 32				
Cs	260 ± 5	159 ± 4	405 ± 6	358 ± 5	139 ± 4	128 ± 4	188 ± 4	127 ± 3	308 ± 4	192 ± 3				
Eu	100 ± 1	66 ± 1	81 ± 1	55 ± 1	40 ± 1	39 ± 1	71 ± 1	43 ± 1	84 ± 1	32 ± 1				
Fe (µg/g)	3007 ± 22	1844 ± 13	2616 ± 17	1893 ± 13	1027 ± 7	480 ± 4	1656 ± 11	974 ± 7	1865 ± 13	675 ± 5				
K (µg/g)	1497 ± 10	1249 ± 12	2380 ± 12	3611 ± 21	4411 ± 176	4116 ± 17	2538 ± 11	3623 ± 15	3516 ± 21	4888 ± 24				
La	4647 ± 21	2935 ± 15	3640 ± 16	2657 ± 13	2011 ± 10	942 ± 6	3355 ± 12	2062 ± 9	4161 ± 15	1378 ± 7				
Lu	28,3 ± 0,3	17,8 ± 0,2	24,8 ± 0,2	16,1 ± 0,3	12,4 ± 0,3	5,0 ± 0,3	20,4 ± 0,2	10,5 ± 0,2	18,7 ± 0,3	10,4 ± 0,3				
Mg (µg/g)	1372 ± 177	1197 ± 149	1617 ± 172	1413 ± 148	796 ± 112	778 ± 89	1736 ± 149	1161 ± 119	1703 ± 165	1078 ± 104				
Mn (µg/g)	108 ± 1	124 ± 2	116 ± 1	130 ± 2	54,3 ± 0,6	49,1 ± 0,6	85 ± 1	117 ± 1	103 ± 1	96 ± 1				
Mo	1630 ± 101	1119 ± 79	1394 ± 85	1102 ± 74	757 ± 71	449 ± 62	829 ± 69	631 ± 63	893 ± 82	408 ± 63				
Nd	3368 ± 41	2237 ± 30	2464 ± 32	1801 ± 40	1225 ± 43	670 ± 43	2525 ± 33	1399 ± 28	2664 ± 39	1019 ± 61				
Rb (µg/g)	7,9 ± 0,1	6,4 ± 0,1	14,5 ± 0,2	18,9 ± 0,2	8,2 ± 0,1	8,4 ± 0,1	11,9 ± 0,2	14,3 ± 0,2	10,7 ± 0,1	11,4 ± 0,12				
Sb	763 ± 4	525 ± 3	574 ± 3	490 ± 3	284 ± 2	161 ± 3	466 ± 2	352 ± 2	480 ± 3	244 ± 2				
Sc	539 ± 2	331 ± 1	460 ± 2	321 ± 1	195 ± 1	190,4 ± 0,9	359 ± 2	194 ± 1	416 ± 2	136,8 ± 0,7				
Se	435 ± 20	316 ± 16	379 ± 20	317 ± 17	245 ± 17	202 ± 15	331 ± 17	210 ± 11	311 ± 17	183 ± 13				
Sm	544,7 ± 0,8	376,8 ± 0,8	403,4 ± 0,9	291,8 ± 0,7	206,2 ± 0,7	105,6 ± 0,5	347,2 ± 0,8	208,1 ± 0,5	413,1 ± 0,9	149,5 ± 0,6				
Tb	78 ± 3	49 ± 3	57 ± 3	41 ± 3	32 ± 3	29 ± 3	54 ± 3	24 ± 2	63 ± 3	20 ± 2				
Th	971 ± 3	561 ± 2	760 ± 3	593 ± 3	315 ± 2	137 ± 2	601 ± 3	334 ± 2	693 ± 3	210 ± 2				
Ti (µg/g)	220 ± 37	132 ± 22	302 ± 36	163 ± 21	200 ± 16	39 ± 8	178 ± 28	131 ± 19	220 ± 29	81 ± 17				
U	197 ± 14	195 ± 17	179 ± 15	135 ± 13	128 ± 13	71 ± 10	150 ± 13	107 ± 12	180 ± 15	69 ± 11				
V (µg/g)	2,9 ± 0,2	2,1 ± 0,1	7,6 ± 0,4	4,5 ± 0,2	2,6 ± 0,2	1,12 ± 0,08	6,2 ± 0,4	3,8 ± 0,2	5,9 ± 0,4	2,5 ± 0,2				
Yb	203 ± 6	119 ± 4	168 ± 4	116 ± 5	85 ± 6	57 ± 5	150 ± 6	82 ± 4	130 ± 5	148 ± 5				
Zn (µg/g)	113,7 ± 0,5	117,2 ± 0,5	131,9 ± 0,6	165,8 ± 0,8	115,5 ± 0,5	106,3 ± 0,5	121,8 ± 0,4	137,5 ± 0,5	111,4 ± 0,5	97,3 ± 0,4				

a- incerteza avaliada considerando erros nas medidas das taxas de contagens.

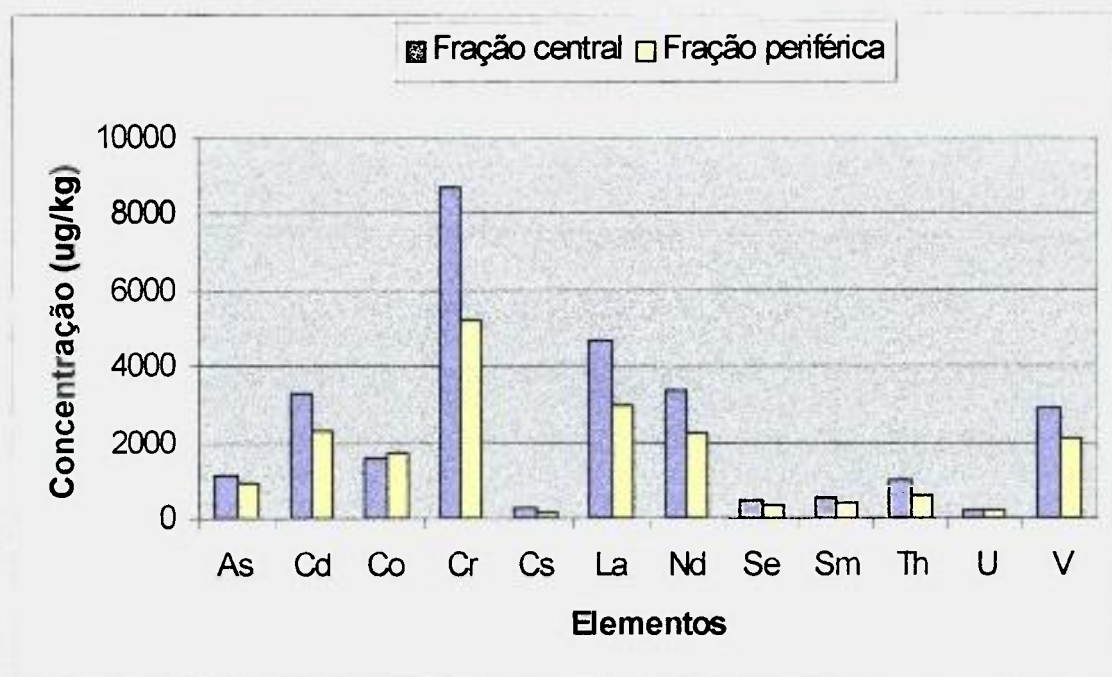
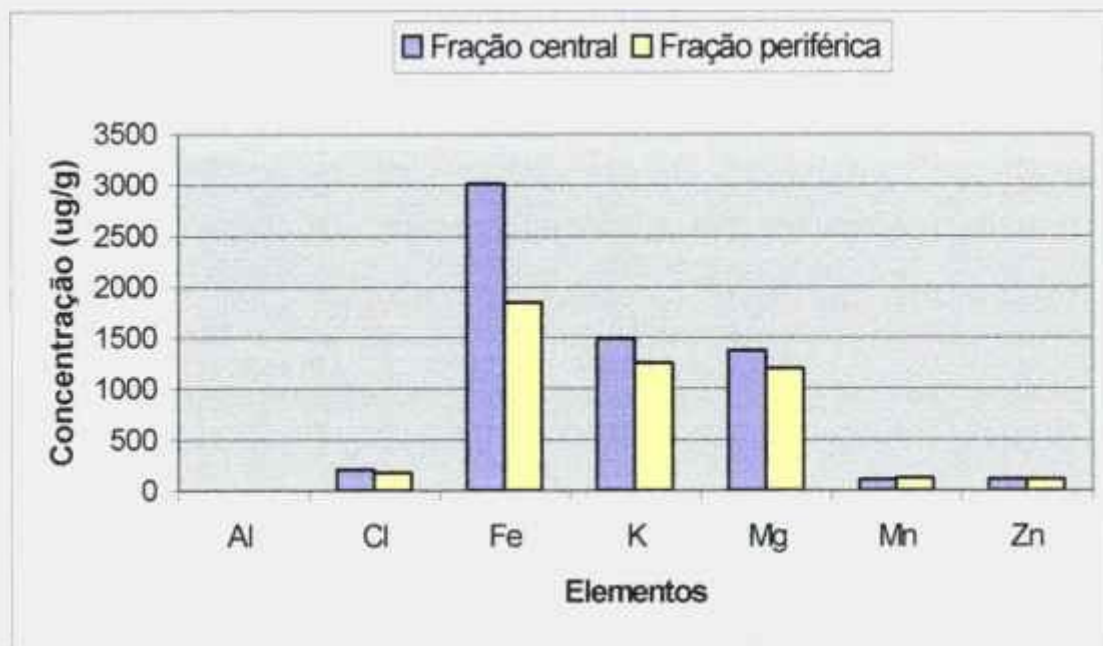


Figura 4.1 Concentrações de elementos na amostra *C. texana* 1

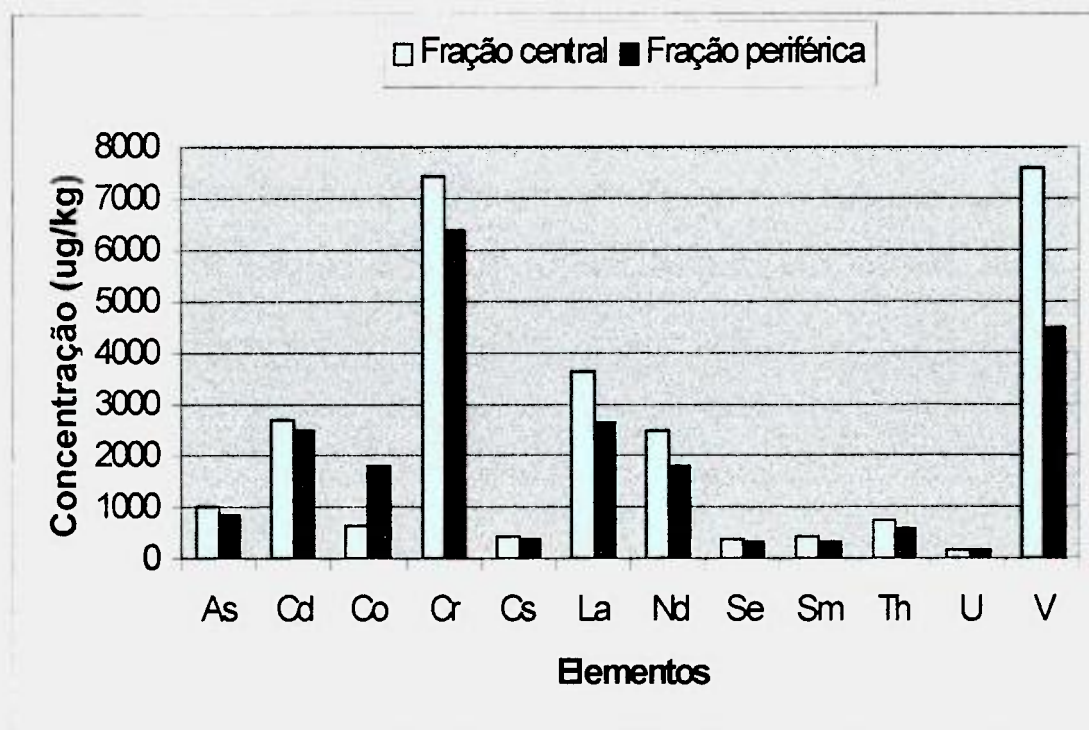
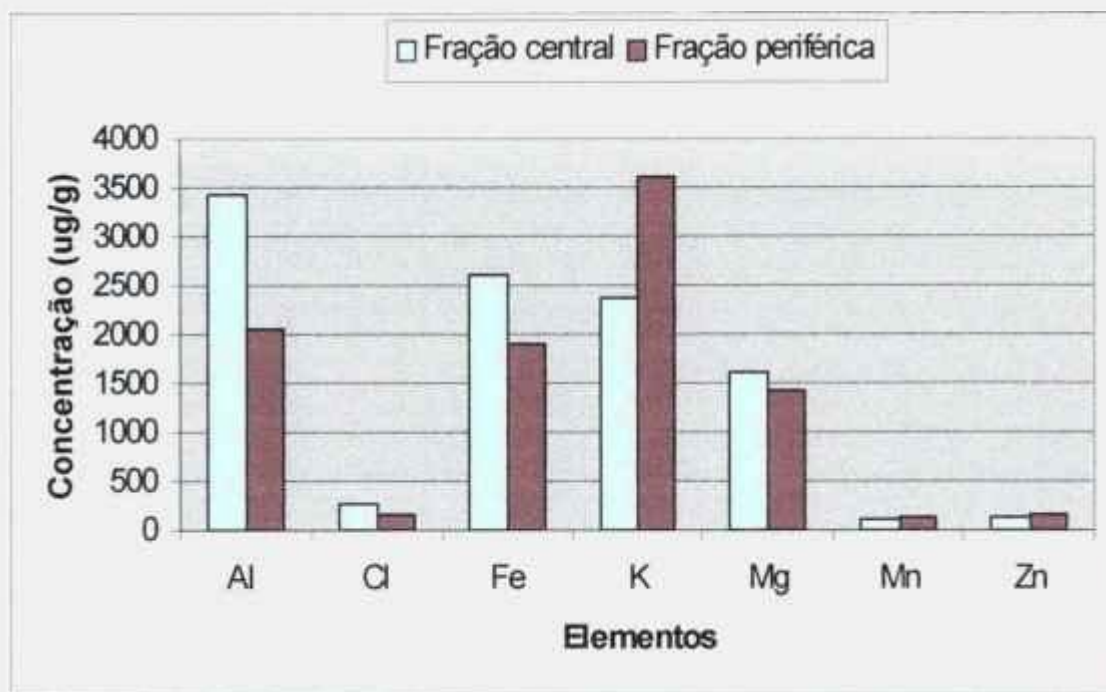


Figura 4.2 Concentrações de elementos na amostra *C. texana* 2

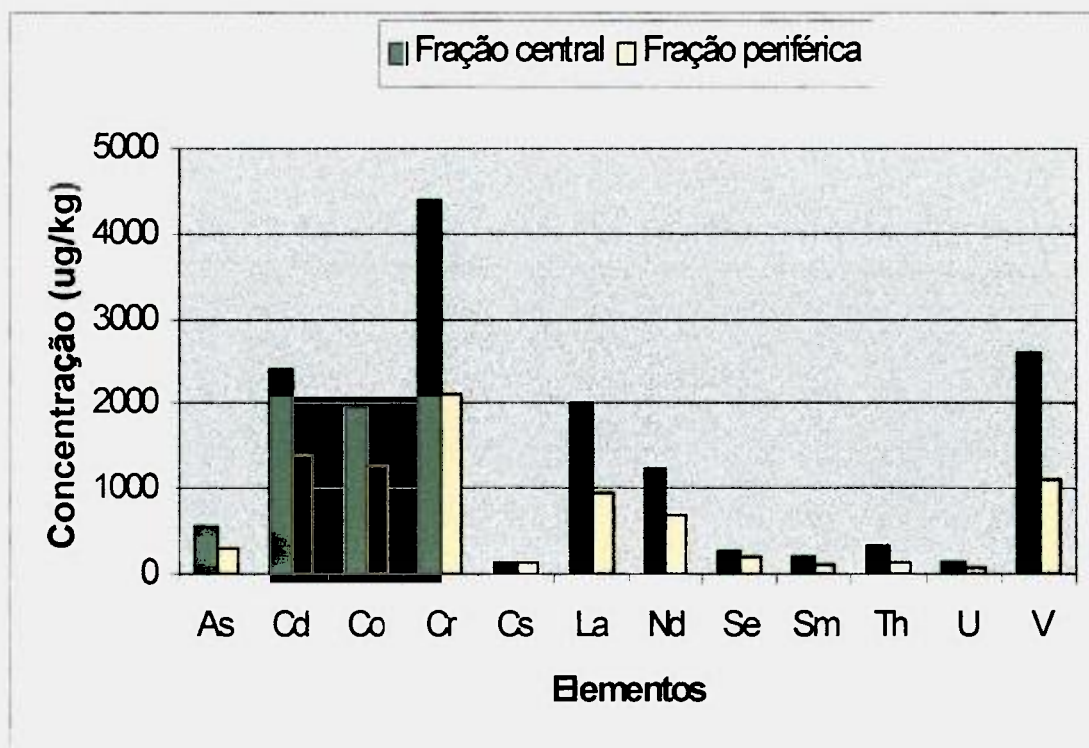
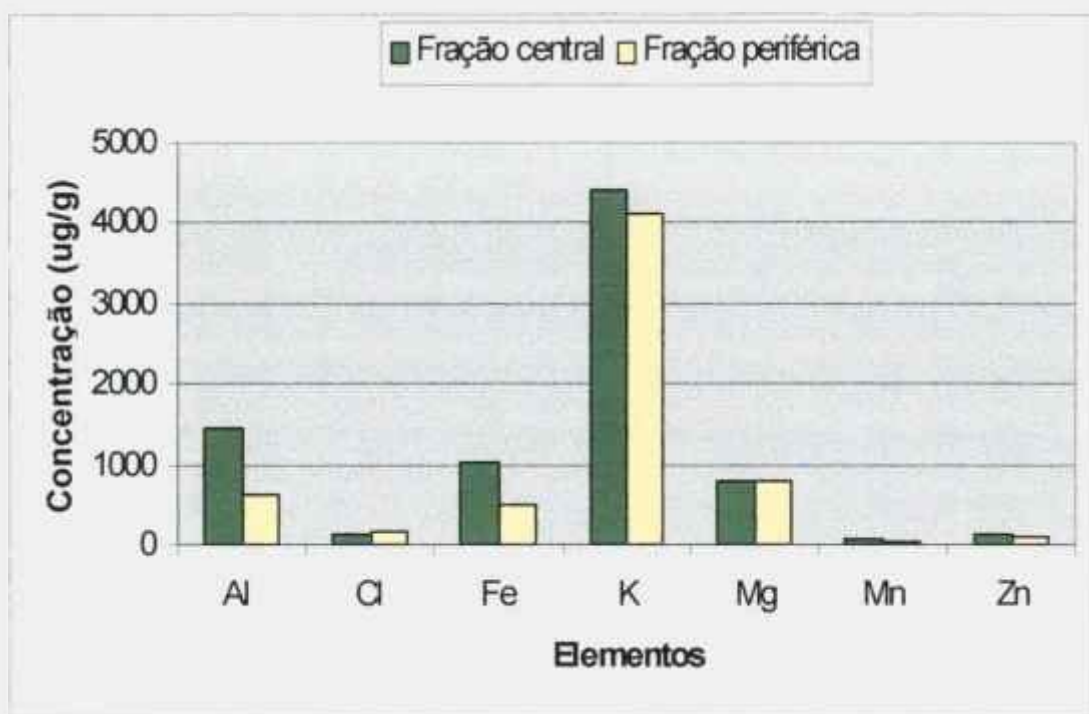


Figura 4.3 Concentrações de elementos na amostra *C. texana* 3

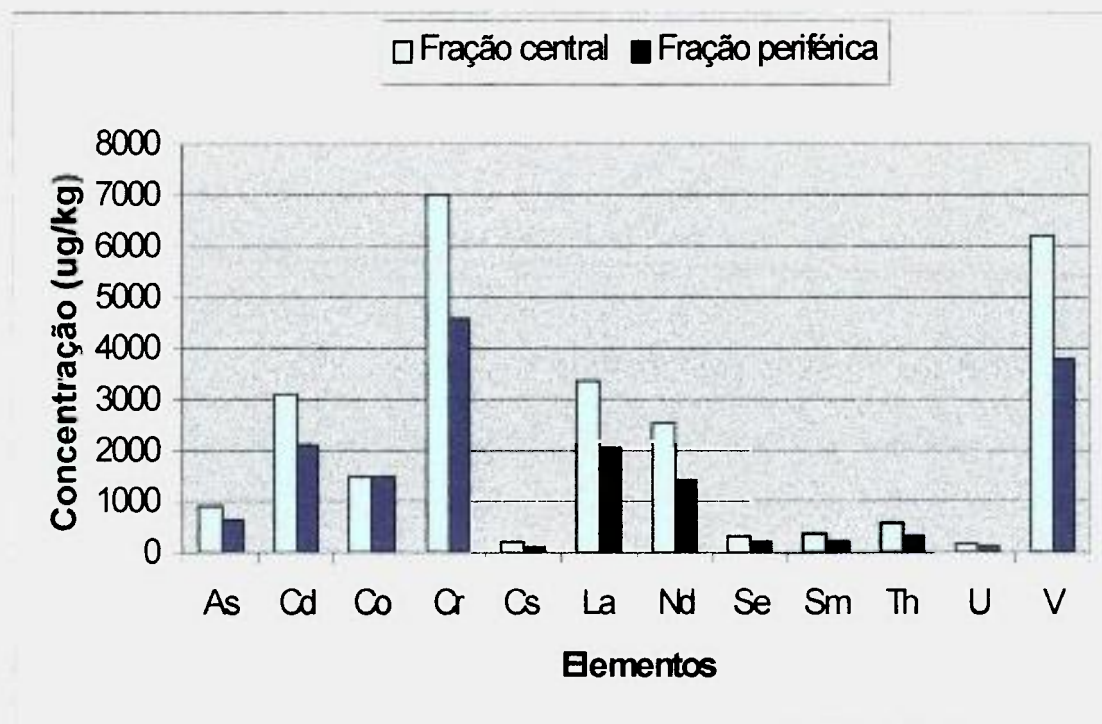
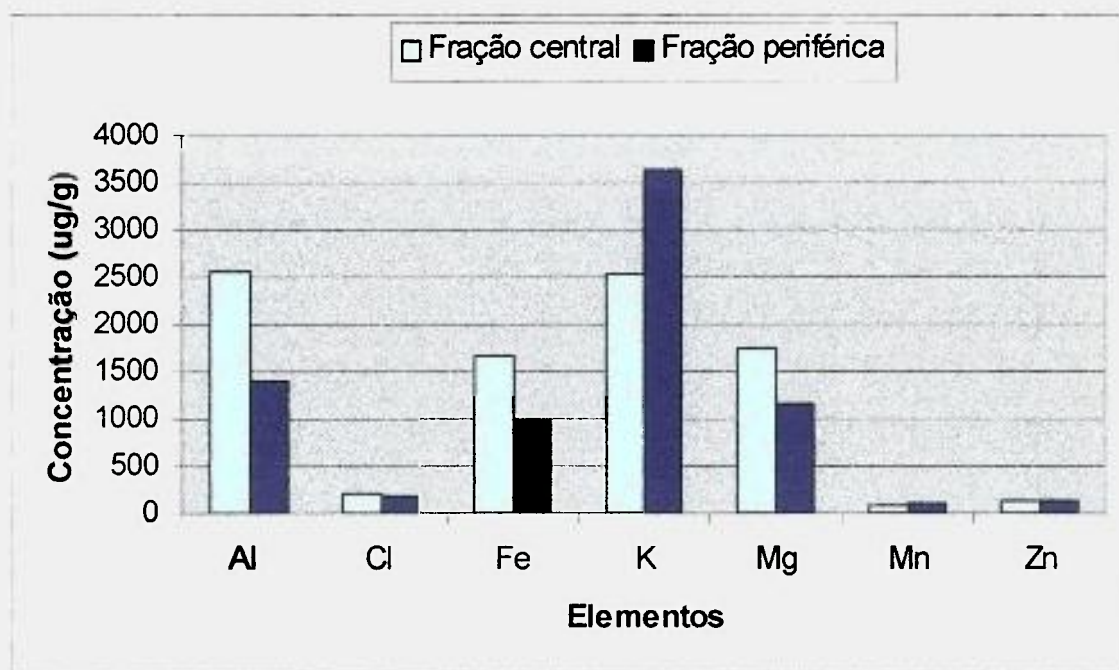


Figura 4.4 Concentrações de elementos na amostra *C. texana* 4

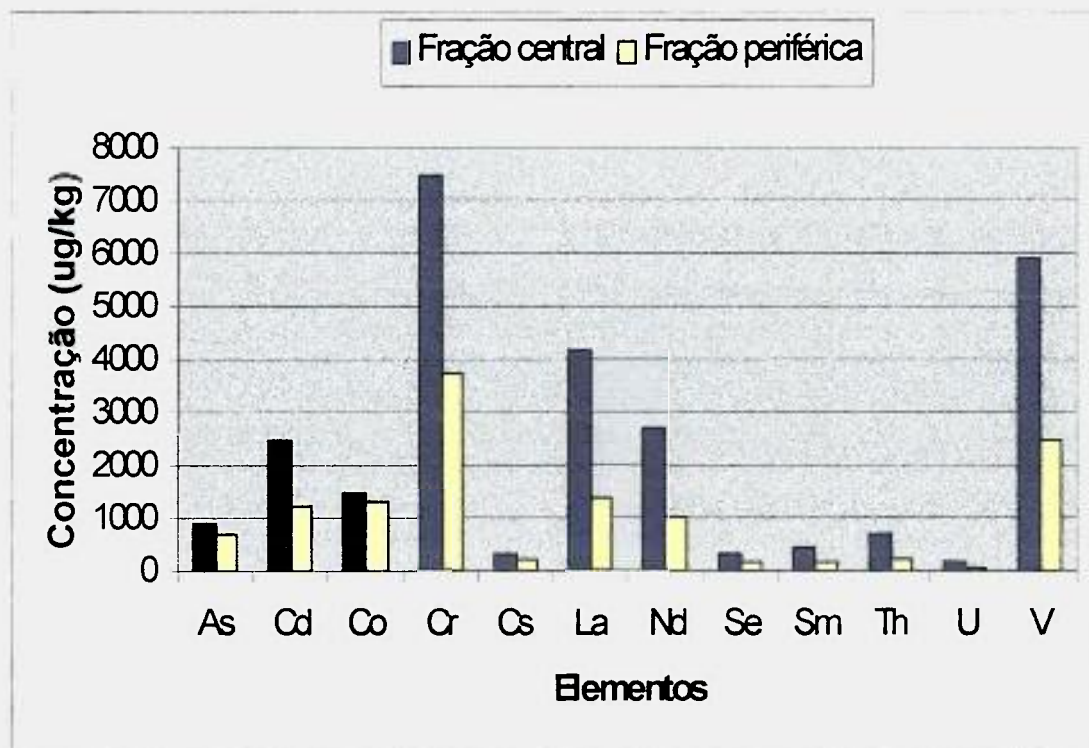
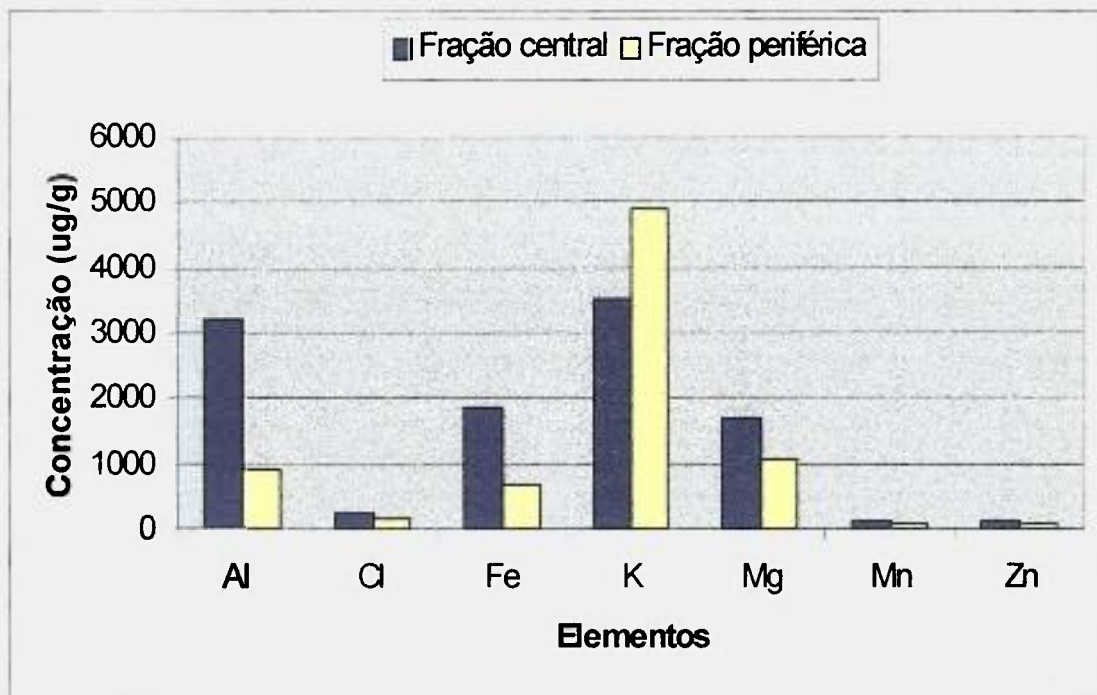


Figura 4.5 Concentrações de elementos na amostra *C. texana* 5

4.4 Estudo da variabilidade nas concentrações elementares em líquens coletados em diferentes pontos de uma mesma região

Com o objetivo de avaliar a variação nas concentrações dos elementos em líquens provenientes de uma mesma região, foram coletados cinco espécimes de *C. texana* em uma área de aproximadamente 4,5 km². As amostras foram coletadas, no campus da Cidade Universitária de São Paulo, SP, em pontos próximos à Escola Politécnica (2 espécimes), ao Museu de Arte Contemporânea (2 espécimes) e ao Instituto de Física (1 espécime). Essas amostras correspondem às do Grupo 1, subgrupo 1C. A Tabela 4.9 apresenta as médias aritméticas, os intervalos e os desvios padrão relativos das concentrações obtidas nas análises das cinco amostras de *C. texana*.

Verifica-se na Tabela 4.9, que os teores mais elevados, da ordem de percentagem, foram obtidos para o Ca. Teores da ordem de µg/g foram obtidos para os elementos: Al, Br, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, K, La, Mg, Mn, Mo, Na, Nd, Rb, V e Zn. Os teores mais baixos, ordem de µg/kg foram determinados para os elementos As, Cs, Eu, Lu, Sb, Sc, Se, Sm, Tb, Th e Yb.

Em geral os resultados obtidos mostraram uma considerável variabilidade com desvios padrão relativos indicando uma dispersão que variou de 9 a 83%. Quando comparamos os resultados obtidos com os valores encontrados na literatura, podemos citar o trabalho de BENNET e WETMORE (1999), que obtiveram resultados semelhantes aos deste trabalho, quando estudaram a variabilidade nas concentrações elementares em líquens de mesma espécie, coletados no Parque Nacional de Yellowstone, USA.

Tabela 4.9 Média das concentrações elementares obtidas em líquens coletados em diferentes pontos de uma mesma área

Elementos	Média \pm s	Intervalo	S _r (%)
Al ($\mu\text{g/g}$)	3442 \pm 294	3140 - 3727	9
As ($\mu\text{g/kg}$)	879 \pm 447	272 - 1347	51
Br ($\mu\text{g/g}$)	8,2 \pm 6,8	2,2 - 14,8	83
Ca (%)	7,6 \pm 5,9	1,5 - 9,7	78
Cd ($\mu\text{g/g}$)	2,7 \pm 1,3	0,98 - 3,7	46
Cl ($\mu\text{g/g}$)	273 \pm 80	214 - 391	29
Co ($\mu\text{g/g}$)	1800 \pm 515	1003 - 2257	29
Cr ($\mu\text{g/g}$)	5,8 \pm 2,9	2,1 - 7,7	50
Cs ($\mu\text{g/kg}$)	210 \pm 111	75 - 340	53
Cu ($\mu\text{g/g}$)	19,2 \pm 8,1	14 - 25	42
Eu ($\mu\text{g/kg}$)	61 \pm 32	31 - 90	52
Fe ($\mu\text{g/g}$)	21701 \pm 790	971 - 2747	36
K ($\mu\text{g/g}$)	1528 \pm 452	846 - 1926	30
La ($\mu\text{g/g}$)	3,9 \pm 2,4	1,7 - 7,6	62
Lu ($\mu\text{g/kg}$)	20,3 \pm 11,5	8,2 - 31,6	57
Mg ($\mu\text{g/g}$)	1128 \pm 601	283 - 1946	53
Mn ($\mu\text{g/g}$)	97 \pm 47	41,6 - 148,1	48
Mo ($\mu\text{g/g}$)	0,93 \pm 0,22	0,68 - 1,17	24
Na ($\mu\text{g/g}$)	76 \pm 7,6	35 - 76	10
Nd ($\mu\text{g/g}$)	2,6 \pm 1,9	1,2 - 5,7	73
Rb ($\mu\text{g/g}$)	6,7 \pm 2,7	3,8 - 9,9	41
Sb ($\mu\text{g/kg}$)	654 \pm 323	245 - 774	49
Sc ($\mu\text{g/kg}$)	303 \pm 185	118 - 515	61
Se ($\mu\text{g/kg}$)	324 \pm 152	116 - 487	47
Sm ($\mu\text{g/kg}$)	389 \pm 228	164 - 477	59
Tb ($\mu\text{g/kg}$)	43,6 \pm 23,1	22 - 66	53
Th ($\mu\text{g/kg}$)	535 \pm 358	194 - 922	67
V ($\mu\text{g/g}$)	5,0 \pm 2,7	2,2 - 8,0	53
Yb ($\mu\text{g/kg}$)	108 \pm 52	49 - 154	48
Zn ($\mu\text{g/g}$)	113 \pm 42	68 - 170	37

4.5 Análise de diferentes espécies de líquens

Para o estudo do acúmulo de elementos em diferentes espécies de líquens foi feita a amostragem de cinco espécies distintas de fungos liquenizados no Jardim Botânico. A coleta englobou a área do estacionamento, da Avenida das Palmeiras e do Orquidário. As espécies coletadas foram de líquens *Canoparmelia caroliniana*, *Parmotrema sancti-angeli*, *Parmotrema tinctorum*, *Usnea* sp. e *Canoparmelia texana*, as quais correspondem as amostras do Grupo 2, descrito no item 3.1.4, Capítulo 3.

Na Tabela 4.10, estão os resultados obtidos nas análises das amostras de: *Usnea* sp. e *Parmotrema tinctorum*, e na Tabela 4.11 são apresentados os resultados para os líquens das espécies: *Canoparmelia caroliniana* e *Parmotrema sancti-angeli*. Nestas Tabelas são apresentados os valores das médias aritméticas e das faixas de concentração obtidas para diferentes amostras de uma mesma espécie de líquen.

Verifica-se também, nessas Tabelas, que os teores mais elevados, da ordem de percentagens, foram obtidos para o Ca. Teores da ordem de $\mu\text{g/g}$ foram obtidos para os elementos: Al, Br, Ce, Cl, Cr, Cu, Fe, K, La, Mg, Mn, Mo, Na, Rb, Ti, V e Zn. Os teores mais baixos, ordem de $\mu\text{g/kg}$ foram determinados para os elementos As, Cd, Cs, Eu, Lu, Nd, Sb, Sc, Se, Sm, Tb, Th, U e Yb.

Analisando os resultados obtidos para cada espécie de líquen, verifica-se que para alguns elementos há uma considerável variabilidade nas concentrações, apesar de as amostras terem sido coletadas em uma mesma região no Jardim Botânico. BENNET e WETMORE (1999),

encontraram resultados semelhantes aos deste trabalho, para líquens *Bryoria fremontii* e *Letharia vulpina* coletados no Parque Nacional de Yellowstone, USA.

A variabilidade nos teores de elementos obtidos para amostras de uma mesma espécie de líquen se deve, provavelmente, as diferentes condições da amostragem. Tais condições referem-se principalmente à idade dos espécimes coletados e à localização dos espécimes nos troncos das árvores. Verifica-se portanto, que para reduzir esta variabilidade das concentrações de elementos em uma mesma espécie de líquen, dentro de uma determinada área de interesse, há necessidade de se fazer um controle rigoroso dos parâmetros que influem na amostragem bem como aumentar o número de pontos de coleta.

Fazendo uma comparação entre os resultados obtidos para as quatro espécies de líquens verifica-se que as médias das concentrações são em geral da mesma ordem de grandeza para a maioria dos elementos (vide Tabelas 4.10 e 4.11).

Tabela 4.10 Concentrações de elementos nas amostras de *Usnea sp.* e *Parmotrema tinctorum*

Elementos	<i>Usnea sp.</i>			<i>Parmotrema tinctorum</i>		
	Média ± s (a)	Intervalo	n	Média ± s (a)	Intervalo	n
Al (µg/g)	876 ± 423	410-1236	3	748 ± 216	613 - 1070	4
As (µg/kg)	923 ± 261	624-1100	3	287 ± 91	189 - 369	3
Br (µg/g)	11 ± 7	5-19	3	10 ± 6	5 - 15	4
Ca (%)	0,8± 0,6	0,2-1,4	3	0,23 ± 0,06	0,2-0,3	3
Cd (µg/g)	0,83 ± 0,26	0,60-1,12	3	0,51 ± 0,05	0,45-0,55	3
Ce (µg/g)	3,1 ± 0,5	2,5-3,5	3	0,24 ± 0,06	1,4-2,6	3
Cl (µg/g)	139 ± 9	134-150	3	386 ± 183	181-584	4
Cr (µg/g)	4,7 ± 3,1	2,0-7,4	3	3,6 ± 1,3	2,7-5,1	3
Cs (µg/kg)	355 ± 163	240-470	3	339 ± 15	328-349	2
Cu (µg/g)	9 ± 5	4-14	3	*		
Eu (µg/kg)	34 ± 8	25-40	3	19 ± 2	17-20	2
Fe (µg/g)	1078 ± 787	274-1846	3	764 ± 333	481-1130	3
K (µg/g)	3452 ± 1013	2355-4350	3	2477 ± 681	584-2882	4
La (µg/g)	1,7 ± 0,3	1,3-1,9	3	1,1 ± 0,3	0,8-1,3	3
Lu (µg/kg)	7,5 ± 1,3	6,2-8,7	3	6,7 ± 3,7	4,5-10,9	3
Mg (µg/g)	882 ± 72	835-965	3	484 ± 117	369-645	4
Mn (µg/g)	25 ± 5	19-29	3	17 ± 8	11-29	4
Mo (µg/g)	1,35 ± 0,83	0,49-2,15	3	0,61 ± 0,16	0,48-0,79	3
Na (µg/g)	75 ± 33	38-100	3	48 ± 7	41-56	4
Nd (µg/kg)	1211 ± 318	844-1414	3	1063 ± 505	669-1633	3
Rb (µg/g)	15 ± 4	11-18	3	12 ± 2	11-14	2
Sb (µg/kg)	686 ± 307	345-942	3	365 ± 118	285-501	3
Sc (µg/kg)	221 ± 77	166-275	2	88 ± 24	71-104	2
Se (µg/kg)	376 ± 164	235-556	3	178 ± 52	124-228	3
Sm (µg/kg)	170 ± 34	132-196	3	223 ± 93	165-330	3
Tb (µg/kg)	23 ± 6	17-28	3	13 ± 6	9-18	3
Th (µg/kg)	278 ± 216	104-519	3	189 ± 76	120-270	3
Ti (µg/g)	103 ± 45	61-151	3	71 ± 23	55-104	4
U (µg/kg)	66 ± 26	37-76	3	65 ± 27	46-95	2
V (µg/g)	3,2 ± 2,6	1,4-5,1	2	2,5 ± 0,9	1,9-3,8	4
Yb (µg/kg)	43 ± 18	24-59	3	38 ± 14	24-52	3
Zn (µg/g)	67 ± 13	55-80	3	62 ± 20	43-83	3

a- Média aritmética e desvios padrão de resultados obtidos em n amostras

n- número de amostras

* - elemento não detectado

Tabela 4.11 Concentrações de elementos nas amostras de*Canoparmelia caroliniana* e *Parmotrema sancti-angeli*

Elementos	<i>Canoparmelia caroliniana</i>			<i>Parmotrema sancti-angeli</i>		
	Média ± s (a)	Intervalo	n	Média ± s (a)	Intervalo	n
Al (µg/g)	1640 ± 362	1426-2058	3	981 ± 624	540 - 1422	2
As (µg/kg)	712 ± 103	604-809	3	455 ± 40	427 - 483	2
Br (µg/g)	15,6 ± 0,9	14,6-16,3	3	6 ± 2	4-7	2
Ca (%)	5,2 ± 1,7	3,2-6,6	3	1,1 ± 0,2	0,9-1,2	2
Cd (µg/g)	1,90 ± 0,69	1,94-2,56	3	0,44 ± 0,07	0,40-0,49	2
Ce (µg/g)	4,0 ± 0,9	3,5-5,0	3	1,9 ± 1,0	1,2-2,6	2
Cl (µg/g)	357 ± 37	315-381	3	718 ± 202	575-861	2
Cr (µg/g)	5,62 ± 0,05	5,6-5,7	2	5,1 ± 3,1	2,9-7,3	2
Cs (µg/kg)	533 ± 62	489-577	2	224 ± 64	178-269	2
Cu (µg/g)		*		10,0 ± 0,4	9,7-10,2	2
Eu (µg/kg)	38,0 ± 0,1	37,9-38,0	2	*		
Fe (µg/g)	1515 ± 357	1107-1770	3	1016 ± 565	617-1416	2
K (µg/g)	709 ± 315	365-983	3	2216 ± 638	1765-2667	2
La (µg/g)	2,4 ± 0,5	2,1-3,0	3	0,96 ± 0,35	0,71-1,24	
Lu (µg/kg)	24,5 ± 13,2	15,2-39,6	3	6,9 ± 2,9	3,5-8,6	2
Mg (µg/g)	696 ± 140	555-835	3	734 ± 166	844-868	2
Mn (µg/g)	43 ± 29	11-66	3	14 ± 3	11-16	2
Mo (µg/g)	1,23 ± 0,17	1,12-1,43	3	0,87 ± 0,21	0,72-1,01	2
Na (µg/g)	89 ± 20	74-112	3	58 ± 33	33-95	2
Nd (µg/kg)	1817 ± 288	1612-2146	3	964 ± 543	580-1348	2
Rb (µg/g)	5,1 ± 0,6	4,5-5,7	3	21,9 ± 2,2	20,4-23,5	
Sb (µg/kg)	436,7 ± 29,5	408,4-467,0	3	489 ± 183	360-619	2
Sc (µg/kg)	216 ± 5	212-220	2	163 ± 100	92-234	2
Se (µg/kg)	198 ± 62	127-255	3	244 ± 30	218-265	2
Sm (µg/kg)	230 ± 38	200-273	3	164 ± 62	207-218	2
Tb (µg/kg)	45 ± 20	31-59	2		*	
Th (µg/kg)	388 ± 47	355-421	2	245 ± 158	133-356	2
Ti (µg/g)	114 ± 49	63-161	3	105 ± 81	47-162	2
U	*			*		
V (µg/g)	5,3 ± 2,4	2,5-6,8	3	3,2 ± 1,5	2,1-4,2	2
Yb (µg/kg)	131 ± 87	68-231	3	36 ± 19	22-49	2
Zn (µg/g)	94 ± 38	69-138	2	41 ± 2	39-42	2

A Figura 4.6 permite visualizar os valores médios das concentrações elementares obtidas para os líquens *Usnea* sp., *P. tinctorum*, *C. caroliniana* e *P. sancti-angeli*. Os elementos foram selecionados e agrupados nas Tabelas levando-se em consideração a ordem de grandeza das concentrações elementares obtidas.

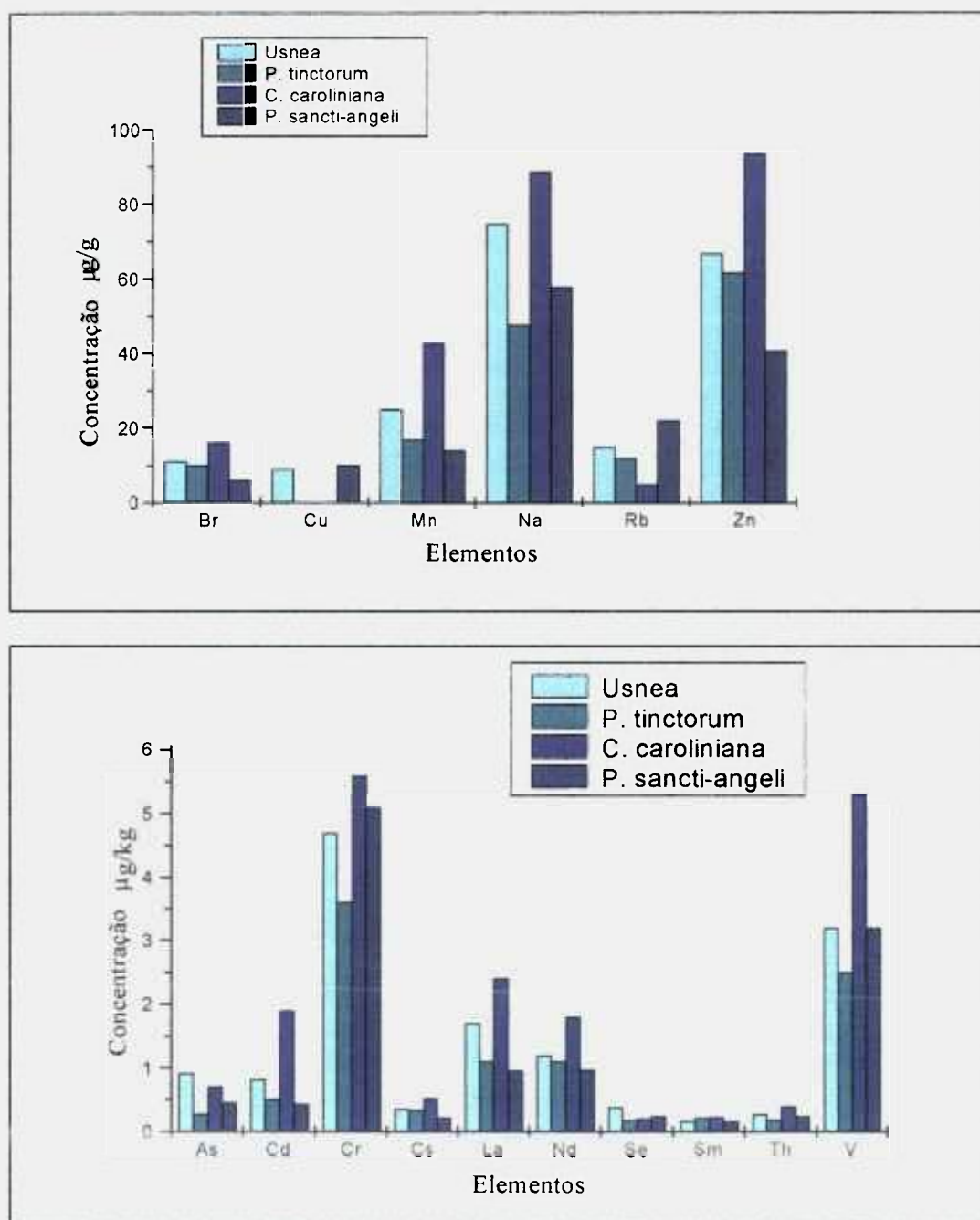


Figura 4.6 Concentrações de elementos para diferentes espécies de líquens coletados no Instituto de Botânica de São Paulo, SP

A Tabela 4.12 apresenta os resultados obtidos para as amostras de *C. texana*, coletadas em três pontos distintos do Jardim Botânico. A amostra coletada na Av. das Palmeiras foi analisada em duplicata. Para a amostra coletada no Orquidário foi feita somente uma única determinação enquanto que, para a área de estacionamento foram analisadas quatro amostras, coletadas de diferentes árvores. Uma análise preliminar dos resultados da Tabela 4.12 indica que não há diferença significativa entre amostras coletadas em diferentes pontos, porém teores ligeiramente mais altos foram obtidos para as amostras coletadas no estacionamento de veículos, sugerindo uma provável contaminação antropogênica deste ponto. Como mostra a Tabela 4.12, a amostra coletada na Avenida das Palmeiras, apresentou concentrações mais baixas de elementos.

Tabela 4.12 Concentrações de elementos em amostras de *Canoparmelia texana* coletados em diferentes pontos do Jardim Botânico

Elementos	Av. Palmeiras	Orquidário	Estacionamento (n=4)
Al (µg/g)	426 ± 17	793 ± 26	805 ± 15 (444-1321)
As (µ/kg)	274 ± 7	338 ± 3	356,3 ± 5,3 (304-438)
Br (µg/g)	1,3 ± 0,3	2,82 ± 0,02	5,1 ± 0,6 (3,4-8,0)
Ca (%)	2 ± 0,04	5,25 ± 0,08	9,0 ± 0,2 (4,6-11,7)
Cd (µg/kg)	799 ± 43	3605 ± 64	4169 ± 52 (2392-6235)
Ce (µg/g)	1,7 ± 0,01	4,84 ± 0,01	3,20 ± 0,01 (2,7-3,8)
Cl (µg/g)	449 ± 11	696 ± 21	417 ± 15 (337-553)
Cr (µg/kg)	1763 ± 18	**	2169 ± 28 (1650-2711)
Cs (µg/kg)	213,6 ± 1,9	**	72,7 ± 2,5 (51,7-109,1)
Cu (µg/g)	**	7,6 ± 3,4	**
Eu (µg/kg)	15,8 ± 0,4	53,1 ± 0,7	28,1 ± 0,6 (19,5-35,5)
Fe (µg/g)	366 ± 3,4	1085 ± 9	837 ± 6 (507-1537)
K (µg/g)	1491 ± 72	**	975 ± 8 (899-1118)
La (µg/kg)	936 ± 3,7	3012 ± 9	2088 ± 8 (1795-2267)
Lu (µg/kg)	3,4 ± 0,2	11,6 ± 0,3	8,5 ± 0,7 (7,3-11,4)
Mg (µg/g)	570 ± 54	336 ± 76	548 ± 62 (524-597)
Mn (µg/g)	11,4 ± 0,2	42,8 ± 0,5	31,5 ± 0,4 (17,3-45,5)
Mo (µg/kg)	600 ± 21	674 ± 31	756 ± 37 (665-861)
Na (µg/g)	33,9 ± 0,8	58,4 ± 0,1	42,3 ± 0,8 (34,8-59,9)
Nd (µg/kg)	646 ± 52	1829 ± 25	1362 ± 69 (1077-1606)
Rb (µg/g)	9,1 ± 0,1	4,14 ± 0,08	2,8 ± 0,1 (2,4-3,6)
Sb (µg/kg)	192 ± 1	208,8 ± 1,7	272,1 ± 1,4 (164-338)
Sc (µg/kg)	57 ± 0,2	118,6 ± 0,4	119,0 ± 0,5 (80-189)
Se (µg/kg)	104 ± 9	148 ± 13	169 ± 17 (111-267)
Sm (µg/kg)	113 ± 1	328 ± 2	158,2 ± 0,4 (125-197)
Tb (µg/kg)	**	36,9 ± 1,7	21,8 ± 1,4 (16-30)
Th (µg/kg)	83 ± 1	185 ± 1	178,3 ± 1,7 (142-270)
Ti (µg/g)	47 ± 7	58 ± 12	53 ± 10 (23-91)
V (µg/g)	1,3 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,2 ± 0,1 (1,7-3,0)
Yb (µg/kg)	28 ± 3	81 ± 4	42,3 ± 3,4 (25-50)
Zn (µg/g)	66 ± 0,2	138,6 ± 0,5	103,5 ± 0,4 (78,7-122,6)

Av. Palmeiras – Média de duas determinações de uma amostra

Orquidário – Resultado de uma única determinação

Estacionamento – Média de resultados de quatro determinações

** - elemento não detectado

As incertezas destes resultados foram calculados considerando erros nas taxas de contagens

4.6 Análise dos resultados obtidos por meio de tratamentos estatísticos

Muitas vezes, o grande número de dados experimentais pode causar dificuldade na sua interpretação e compreensão e, desta forma, testes estatísticos são aplicados na análise dos dados experimentais.

Para avaliar a similaridade entre as concentrações obtidas para as diversas amostras, foram aplicados aos dados das Tabelas 4.10, 4.11 e 4.12 dois procedimentos estatísticos, sendo um para a obtenção de dendrogramas ou cluster analysis e outro para obtenção de matrizes de correlação.

Neste trabalho foi utilizado o programa de computação “Statistical Package for the Social Sciences” (SPSS) para análise estatística dos resultados.

4.6.1 Análise por dendrogramas ou “cluster analysis”

Na análise por dendrogramas, vários casos são comparados e combinados hierarquicamente em grupos. O objetivo da “cluster analysis” é identificar grupos relativamente homogêneos, baseados em características selecionadas. Os grupos são formados por casos associados em grupos cada vez maiores até que todos os casos estejam enquadrados em um único grupo (HAIR e col., 1998).

Há uma série de maneiras de se realizar a “cluster analysis” as quais utilizam os programas de computação para o referido tratamento estatístico. Uma delas é o método de

Ward (HAIR e col., 1998). Neste método inicialmente calcula-se a média para cada variável dentro de cada grupo. A seguir, para cada caso é calculada a distância quadrática Euclidiana para a média dos grupos. Estas distâncias são somadas para todos os casos. Em cada passo, os dois grupos que são fundidos, são aqueles resultantes do menor aumento do quadrado da soma total das distâncias entre os grupos. Por meio destes cálculos é obtido um dendrograma, ou seja, um gráfico, que mostra os grupos sendo combinados com os valores do coeficiente para cada passo.

O objetivo de se aplicar este tipo de análise para as amostras de líquens foi verificar como a similaridade entre as concentrações elementares agruparia as amostras. Caso ocorresse a separação das amostras em dois ou talvez três grupos poderia-se verificar uma possível contribuição antropogênica.

Uma análise do dendrograma obtido na Figura 4.7, destaca a separação das amostras analisadas em dois grupos principais: o primeiro, subdividido em dois subgrupos, correspondentes às amostras coletadas na Av. das Palmeiras e no Orquidário; o segundo grupo, correspondente às amostras coletadas no Estacionamento. A distância de linkage entre os dois grupos está, provavelmente, relacionada a uma possível contaminação antropogênica no estacionamento.

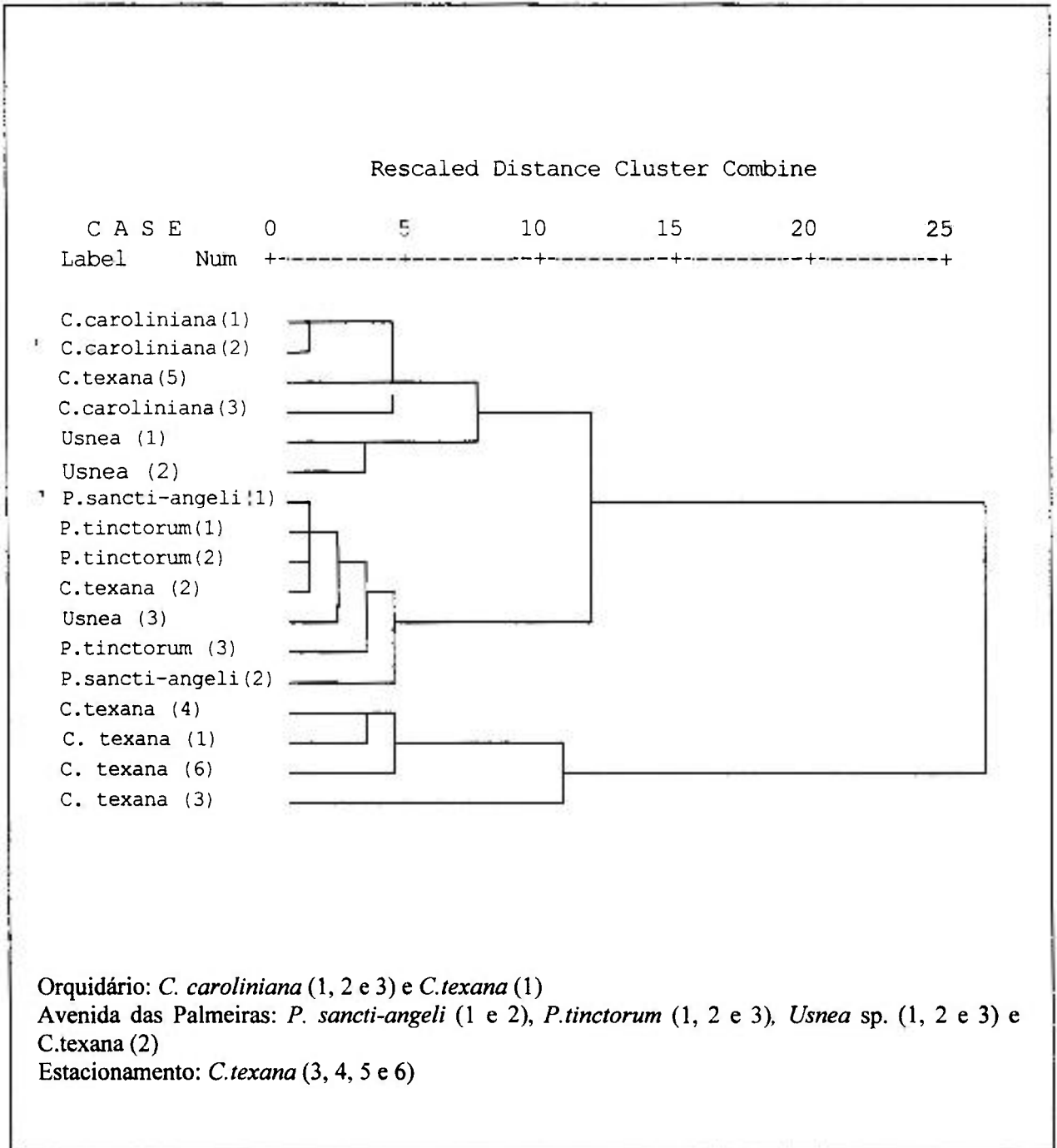


Figura 4.7 Dendrograma obtido com os resultados das análises de diferentes espécies de líquens coletados no Instituto de Botânica de São Paulo

4.6.2 Matriz de correlação

A análise de correlação é empregada para avaliar se há uma relação de linearidade entre duas variáveis, quando ambas são aleatórias e acredita-se que nenhuma variável causa ou determina o valor da outra.

Uma forma de medir a força da associação linear entre duas variáveis aleatórias é feita através de coeficiente de correlação, ou mais precisamente do coeficiente de correlação de Pearson, r .

O coeficiente de correlação de Pearson, r , apresenta as seguintes propriedades:

- é uma medida da força entre duas variáveis quantitativas.
- quanto mais próximo de zero, mais fraca a associação.
- quanto mais próximo de -1 ou $+1$, mais forte será a associação linear, com sinal de r indicando um decréscimo ($r < 0$) ou um acréscimo ($r > 0$) da associação linear.
- O valor de r pode ser igual a $+1$ quando os valores pertencem à uma reta com inclinação positiva e -1 quando os valores pertencem à uma reta com inclinação negativa.

Após a determinação do r , a partir dos dados experimentais, é necessário saber se ele é ou não significativo. Isto corresponde a saber se ele indica uma variação correlacionada entre as variáveis. Para isto, é necessário comparar os valores calculados de r , com o valor de uma tábua de Pearson a um determinado nível de significância para

diferentes valores de graus de liberdade. Quanto menor o nível de significância adotado, mais rígidos serão os ajustes dos valores obtidos na reta em que estamos trabalhando.

A variação do valor de r varia, portanto, desde o limite -1 até o limite $+1$ passando pelo zero. Quando o valor de r é $+1$, há uma correlação positiva completa, quando é -1 a correlação negativa é completa e quando é zero, não há correlação.

Neste trabalho, a matriz de correlação foi obtida para verificar se há correlação entre as concentrações de elementos obtidas para as espécies de líquens, selecionadas como possíveis biomonitores da poluição atmosférica.

A Tabela 4.13 mostra as matrizes de correlação calculadas a partir das concentrações elementares dos líquens analisados (Tabelas 4.10, 4.11, 4.12). O coeficiente de correlação de Pearson r , obtido na Tábua é igual a 0,46 ao nível de significância de 5%. Os resultados obtidos mostram alta correlação entre as espécies analisadas, indicando que estas cinco espécies de fungos liquenizados podem ser utilizadas no estudos de biomonitoração de elementos traço. De acordo com a Tabela 4.13, podemos concluir que o *C. caroliniana* apresenta forte correlação com todas as outras espécies, especialmente com a *C. texana*. Os líquens *P. sancti-angeli* e *P. tinctorum* apresentaram maior correlação com a *Usnea* sp. e menor correlação com a *C. texana*.

Tabela 4.13 Matriz de correlação obtida a partir das concentrações elementares de líquens

Variável	C. caroliniana (3)	C.caroliniana (1)	C. caroliniana (2)	P.sancti-angeli (2)	P. sancti-angeli (1)
C. caroliniana (1)	0.9623				
C.caroliniana (2)	0.9524	0.9969			
P.sancti-angeli (2)	0.4650	0.6324	0.6534		
P.sancti-angeli (1)	0.8585	0.9105	0.9052	0.7803	
P.tinctorum (3)	0.8263	0.8748	0.8834	0.7667	0.8869
P. tinctorum (2)	0.9512	0.9311	0.9244	0.5423	0.8908
P.tinctorum (1)	0.8845	0.9435	0.9494	0.7615	0.9552
C. texana (3)	0.7816	0.7397	0.7345	0.2030	0.5172
C. texana (4)	0.8866	0.8852	0.8829	0.3896	0.6866
C. texana (5)	0.9714	0.9181	0.9087	0.3467	0.7635
C. texana (6)	0.8504	0.8023	0.7944	0.2350	0.5935
C. texana (1)	0.9489	0.9099	0.9033	0.3128	0.7051
C. texana (2)	0.9913	0.9584	0.9486	0.5137	0.9007
Usnea (3)	0.8850	0.8191	0.7972	0.3242	0.7676
Usnea (1)	0.9115	0.9277	0.9164	0.6900	0.9831
Usnea (2)	0.7351	0.8129	0.8101	0.8022	0.9646
Variable	P.tinctorum (3)	P. tinctorum (2)	P.tinctorum (1)	C. texana (3)	C. texana (4)
P. tinctorum (2)	0.9278				
P.tinctorum (1)	0.9578	0.9378			
C. texana (3)	0.4087	0.5776	0.5290		
C. texana (4)	0.6078	0.7340	0.7183	0.9645	
C. texana (5)	0.6967	0.8635	0.7889	0.8993	0.9528
C. texana (6)	0.4869	0.6650	0.6061	0.9915	0.9790
C. texana (1)	0.6785	0.8379	0.7632	0.9137	0.9676
C. texana (2)	0.8291	0.9457	0.9046	0.7591	0.8669
Usnea (3)	0.7306	0.8864	0.7577	0.6036	0.6993
Usnea (1)	0.8955	0.9418	0.9437	0.5541	0.7131
Usnea (2)	0.8592	0.8223	0.9192	0.2946	0.4985
Variable	C. texana (5)	C. texana (6)	C. texana (1)	C. texana (2)	Usnea (3)
C. texana (6)	0.9464				
C. texana (1)	0.9875	0.9521			
C. texana (2)	0.9583	0.8307	0.9203		
Usnea (3)	0.8339	0.6804	0.8000	0.8739	
Usnea (1)	0.8171	0.6366	0.7609	0.9376	0.8462
Usnea (2)	0.6001	0.3846	0.5321	0.7894	0.6722
Variable	Usnea (1)				
Usnea (2)	0.9301				

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho, permitiram concluir que a análise por ativação com nêutrons é um método analítico bastante adequado para determinação de elementos traço, de interesse sob o ponto de vista ambiental, em líquens. Nas análises dos fungos liquenizados *Canoparmelia texana*, *Canoparmelia caroliniana*, *Parmotrema tinctorum*, *Parmotrema sancti-angeli* e *Usnea* sp. foi verificada a possibilidade da determinação de cerca de 30 elementos. Os teores mais elevados destes elementos, da ordem de percentagens, foram obtidos para o Ca. Teores da ordem de $\mu\text{g/g}$ foram obtidos para os elementos: Al, Br, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, K, La, Mg, Mn, Mo, Na, Nd, Rb, V e Zn. Os teores mais baixos, da ordem de $\mu\text{g/kg}$ foram encontrados para os elementos As, Cs, Eu, Lu, Sb, Sc, Se, Sm, Tb, Th e Yb.

A precisão e exatidão dos resultados foram satisfatórios. Os resultados obtidos nas análises de materiais de referência mostraram boa reprodutibilidade com desvios padrão relativos, em geral, abaixo de 15% e boa exatidão com erros relativos inferiores a 15% para a maioria dos elementos. A participação na intercomparação, com as análises de dois materiais de referência candidatos à certificação, também permitiu avaliar positivamente a qualidade dos resultados analíticos obtidos.

Os resultados da análise de uma amostra de líquen em replicatas, mostraram que o procedimento adotado no tratamento e homogeneização das amostras foi bastante adequado.

Os resultados das análises das partes centrais e periféricas dos talos liquênicos de *C. texana*, mostraram que ao se realizar uma coleta desta espécie de líquen, deve-se retirar todo o talo, evitando-se coletar somente uma das partes. As análises de partes centrais e periféricas, separadamente, também mostraram a importância de se utilizar, em estudos da deposição de elementos traço, talos de mesmo tamanho, evitando-se com isso coletas de espécimes de idades ou tempo de exposição muito diferentes. Por outro lado, como o crescimento dos líquens é bastante lento, essas análises mostraram que pode-se coletar somente as partes periféricas quando o objetivo da biomonitoração for a análise da deposição mais recente de elementos poluentes.

Os resultados de líquens *C. texana*, coletados em diferentes pontos do campus da Cidade Universitária, apresentaram uma grande variabilidade para alguns elementos e esse fato sugere a divisão da área a ser monitorada em um número maior de pontos para a amostragem.

Pelos resultados obtidos conclui-se que as cinco espécies analisadas neste trabalho, podem ser utilizadas como biomonitores da poluição ambiental.

Com relação à seleção das espécies de líquens, verifica-se que a *C. texana* é uma das espécies mais adequadas para biomonitoração no Brasil devido, principalmente, à sua grande tolerância à poluição e à sua ocorrência em todo território nacional, excetuando-se

pela costa. Por outro lado, o *C. texana* é um líquen folhoso, bastante aderido ao substrato o que torna necessária uma limpeza manual cuidadosa, para garantir que partes do substrato não façam parte da amostra do líquen. Dentre as espécies analisadas, a *Usnea* sp. é a que apresenta maior facilidade para limpeza manual.

O tratamento estatístico aplicado aos resultados obtidos para as diferentes espécies de líquens mostrou que há uma correlação positiva entre os teores de elementos obtidos para as espécies *Canoparmelia texana*, *Canoparmelia caroliniana*, *Parmotrema tinctorum*, *Parmotrema sancti-angeli* e *Usnea* sp. Portanto as análises destas diferentes espécies mostraram a viabilidade de se obter a intercalibração entre as espécies, o que pode ser de extrema utilidade em casos onde o líquen *C. texana* não esteja disponível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMADJIAN, V. *Lichen symbiosis*. Massachussets: Blaisdell Pub., 1967, cap.1, p. 1-6.
- ATKINS, P.; JONES, L. *Chemistry: molecules, matter and change*. New York: W. H. Freeman, 1997, cap. 18 e 22.
- BARGAGLI, R.; HERNANDEZ, J.C.S.; MONACI, F. Baseline concentrations of elements in the Antartic macrolichen *Umbilicaria decussata*. *Chemosphere*, v.38, n. 3, p. 475-487, 1999.
- BENNET, J.P.; WETMORE, C.M. Geothermal elements in lichens of Yellowstone National Park, USA. *Environ. and Experim. Botany*, v. 42, p. 191-200, 1999.
- BLEISE, A.; SMODIS, B. *Intercomparison run Nat-5 for the determination of trace and minor elements in two lichen samples*. Vienna: IAEA, 1999. (NAHRES-46, IAEA, Vienna, 1999).
- BODE, P.; DE GOEIJ, J.J.M. Activation analysis. In: *ENCYCLOPEDIA of environmental analysis and remediation*. [S.L]: John Wiley & Sons, 1998, p. 69-80.
- BRANCO, S.M.; MURGEL E. *Poluição do ar*. São Paulo: Moderna, 1995, cap. 4, p. 23-29, cap. 5, p. 30-36,.
- BRANQUINHO, C.; CATARINO, F.; BROWN, D. H.; PEREIRA, M. J.; SOARES, A. Improving the use of lichens as biomonitors of atmospheric metal pollution. *Sci. Tot. Environ.*, v. 232, p. 67 - 77, 1999.
- CAMPANELLA, L.; CERVONE, F.; ERCOLE, P.; GROSSI, R.; BARTOLI, A. Lichen bioaccumulation and pollutants degradation. *Inquinamento*, v. 37 n. 6, p. 52-54,1995.

CANIGLIA, G.; CALLIARI, I.; CELIN, L.; TOLLARDO, A.M. Metal determination by EDXRF in lichens: a contribution to pollutants monitoring. In: KUCERA, J., OBRUSNÍK, I., SABBIONI, E. *Nuclear Analytical Methods in the Life Sciences*. New Jersey: 1994 p. 213 - 221.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. *Relatório anual da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental 1996*. São Paulo:1997. (Série Relatórios / CETESB, 1996), p. 1-30.

CHANT, L.A.; ANDREWS H.R.; CORNETT, R.J.; KOSLOWSKY, V.; MILTON, J.C.D.; VAN DEN BERG, G.J.; VERBURG, T.G.; WOLTERBEEK, H.T. ^{129}I and ^{36}Cl Concentrations in lichens collected in 1990 from three regions around Chernobyl. *Appl. Radiat. Isot.*, v. 47, p. 933-937, 1996.

COCCARO, D.M.B.; SAIKI, M.; VASCONCELLOS, M.B.A.; MARCELLI, M.P. Evaluation of trace elements in different species of lichens by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, v. 244, p. 141 - 145, 2000.

DE SOETE, D; GIJELS, R; HOSTE, J. *Neutron activation analysis*. London: Wiley - Interscience, 1972.

FREITAS, M.C. Heavy metals in *Parmelia sulcata* collected in the neighborhood of the coal-fired power station. *Biol. Trace Elem. Res.* v. 43 - 46, p. 207 - 212, 1994.

FREITAS, M.C. Elemental bioaccumulators in air pollution studies. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, v. 192 n. 2, p. 171-181, 1995.

FREITAS, M.C.; NOBRE, A.S. Bioaccumulation of heavy metals using *Parmelia sulcata* and *Parmelia caperata* for air pollution studies. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, v. 217, n. 1, p. 17-20, 1997.

FREITAS, M.C.; REIS, M.A.; ALVES, L.C.; WOLTERBEEK, H.Th. Distribution in Portugal of some pollutants in the lichen *Parmelia sulcata*. *Environ. Pollut.*, v. 106, p. 229-235, 1999.

GILBERT, O.L. Lichens and air pollution. In: **THE LICHENS**. New York: Academic Press, 1973, cap. 13, p. 443-469.

GLADNEY, E.S.; BURNS, C.E.; ROELANDTS, I. 1982, Compilation of elemental concentrations in eleven United States Geological Survey Rock Standards. **Geostandards Newsletter**, v. 7, n. 1, p. 3-226, 1983.

GONZÁLEZ, C.M.; PIGNATA, M.L. Chemical response of transplanted lichen *Canomaculina pilosa* to different emission sources of air pollutants. **Environ. Pollut.**, v. 110, p. 235-242, 2000.

GREENBERG, R.R.; FLEMING, R.F.; ZEISLER, R. High sensitive neutron activation analysis of environmental and biological standard reference materials. **Environ. Int.**, v. 10, p. 129-136, 1984.

GUEVARA, S.R.; ARRIBÉRE, M.A.; CALUELO, S.; ROSS, G.R. Elemental composition of lichens at Nahuel Huapi National Park, Patagonia, Argentina. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 198, p. 437 - 448, 1995.

HAIR, J.F.; ANDERSON, R.E.; TATHAM, R.L.; BLACK, W.C. **Multivariate data analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1998.

HAWKSWORTH, D.L.; HILL, D.J. **The lichen forming fungi**. New York: Blackie & Son Limited, 1995.

IAEA - International Atomic Energy Agency, **Practical aspects of operating a neutron activation analysis laboratory**. Vienna: 1990. (TECDOC-564). p 193-261.

IAEA - International Atomic Energy Agency. Analytical quality control services. **Reference sheet**. Vienna: 1999.

IAEA - International Atomic Energy Agency. Analytical quality control services. **Reference material catalogue 2000-2001**. Vienna: 2000.

JERAN, Z.; JACIMOVIÉ, R.; BATIC, F.; SMODIS, B.; WOLTERBEEK, H.T. Atmospheric heavy metal pollution in Slovenia derived from results for epiphytic lichens. *J. Anal. Chem.*, v. 354, p. 681 - 687, 1996.

KANSANEN, P.H.; VENETVAARA, J. Comparison of biological collectors of airborne heavy metals near ferrochrome and steel works. *Water Air and Soil Pollut.*, v. 60, p. 337 - 339, 1991.

KAPPEN, L. Response to extreme environments. In: *THE LICHENS*. New York: Academic Press, 1973, cap. 10, p. 310-368.

KAPU, M.M.; IPAYE, M.M.; EGA, R.A.I.; AKANYA, H.D.; BALABARE, M.L.; SCHAEFFER, D.J. Lichens as bioindicators of aerial fallout of heavy metals in Zaira, Nigeria. *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, v. 47, p. 413-416, 1991.

LOPPI, S.; BARGAGLI, R. Lichen biomonitoring of trace elements in a geothermal area (central Italy). *Water Air and Soil Pollut.*, v. 88, p.177-187, 1996.

LOPPI, S.; BONINI, I. Lichens and mosses as biomonitors of trace elements in areas with thermal springs and fumarole activity (Mt. Amiata, central Italy). *Chemosphere*, v. 41, p. 1333-1336, 2000.

LOPPI, S.; GIOMARELLI, B.; BONINI, I. Lichens and mosses as biomonitors of trace elements in a geothermal area (Mt. Amiata, central Italy). *Cryptogamie Mycologie*, v. 20, p. 119-126, 1999.

LOPPI, S.; PUTORTI, E.; SIGNORINI, C.; FOMMEI, S.; PIRINTSOS, S.A.; DE DOMINICIS, V. A retrospective study using epiphytic lichens as air quality: 1980 and 1996 (Tuscany, central Italy). *Acta Oecol*, v. 19, p. 405-408, 1998.

LUPSINA, V.; HORVAT, M.; JERAN, Z.; STEGNAR, P. Investigation of mercury speciation in lichens. *Analyst*, v. 117, p. 673 - 674, 1992.

MARCELLI, M. P. Biodiversity assessment in lichenized fungi: the necessary naive roll makers. In: **BIODIVERSITY in Brazil: a first approach**. São Paulo: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1996, p.93-107.

MARCELLI, M. P. Instituto de Botânica de São Paulo, seção de micologia. Comunicação pessoal, 1997

MARCELLI, M. P. Fungos liquenizados. In: **BIODIVERSIDADE do Estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP, 1998a, cap. 3, p. 27-35.

MARCELLI, M. P. History and current knowledge of Brazilian lichenology. In: **LICHENOLOGY in Latin America: history, current knowledge and application**. São Paulo: CETESB, 1998b, p. 25-45.

MINGER, A.; SÄGESSER, B.; KRÄHENBÜHL, U. Moss and lichen as biomonitors for heavy metals in comparison with in situ deposition. **INTERNATIONAL CONFERENCE ON HEAVY METALS IN THE ENVIRONMENT**, 1995, v. 2, p. 163 - 166.

MONACI, F.; BARBAGLI, R.; GASPARO, D. Air pollution monitoring by lichens in a small medieval town of central Italy. **Acta Bot. Neerl.**, v. 46, p. 403-412, 1997.

MURPHY, K.J.; ALPERT, P.; CONSENTINO, D. Local impacts of a rural coal-burning generating station on lichen abundance in a New England forest. **Environ. Pollut.**, v. 105, p. 349-354, 1999.

NASH, T.H. **Lichen biology**. Cambridge: Univ. Press, 1996, cap. 6, p. 88-120, cap. 8, p. 136-153.

NIMIS, L.; CASTELLO, M.; PEROTTI, M. Lichens as bioindicators of heavy metals pollution: a case study in la Spezia (N. Italy). In: MARKET, B., (Ed). **Plants as biomonitors: indicators of heavy metals in the terrestrial environment**, New York: VCH, 1993. p. 265-284.

PAATERO, J.; JAAKKOLA, T., KULMALA, S. Lichens (sp. *Cladonia*) as a deposition indicator for transuranium elements investigated with Chernobyl fallout. *J. Environ. Radioactivity*, v. 38, p. 223-247. 1998.

PAUL, M.; PROSEN, K.; VÖLLOPF, U. The analysis of biological samples by ICP-MS. In: MARKET, B. (Ed). *Element concentration cadasters in ecosystems*. New York: VCH, 1990. p. 149-170.

PICCOT, D. Laboratoire Pierre Sue, CEA-CNRS, Centre d'Etudes de Saclay, France (Comunicação pessoal)1989.

RIGA, A.N.; KARANDINOS, M.G. Assesment of air pollution from a lignite power plant in the plain of Megalopolis (Greece) using as biomonitors three species of lichens; impacts on some biochemical parameters of lichens. *Sci. Tot. Environ.*, v. 215, p. 167 - 183, 1998.

SAKA A.Z., CEVIK, U, BACAKSIZ, E, KOPYA, A.L., TIRASOGLU, E. Levels of cesium radionuclides in lichens and mosses from the province of Ordu in the eastern black sea area of turkey. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, v. 222, n. 1-2, p. 89-92, 1997.

SANZ-MEDEL, A.; MENENDEZ, A.; FERNANDEZ, M. L.; LOPEZ, A.; PEREIRO, R. The use of atomic emission spectroscopy with inductively coupled plasma in biological materials. In: MARKET, B. (Ed). *Element concentration cadasters in ecosystems*. New York: VCH, 1990. p. 139-148.

SLOOF, J.E. *Environmental lichenology: biomonitoring trace element air pollution*. [S.L.]: Thesis Technische Univesiteit Delft, 1993.

SOBRAL, H.R. *O meio ambiente e a cidade de São Paulo*. São Paulo: Makron Books, 1996, cap. 1, p.2-12.

TESTA, C.; DESIDERI, D.; MELI, M.; ROSELLI, C. New radiochemical procedures for environmental actinide measurements and data quality control. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, v. 194, p. 141-149, 1995.

TORO C. E.; PARR R.M.; CLEMENTS S.A.; International Atomic Energy Agency. *Biological and environmental reference materials for trace elements, nuclides and organic microcontaminants*. RL/128 (rev. 1), Vienna: 1990.

VECCHI, R.; GIANLUIGI, V.; COTTINO, S.; MARIANI, A. Energy - Dispersive X-Ray fluorescence analysis applied to biomonitoring on Alps. *Biol. Trace Elem. Res.*, v. 43 - 45, p. 223 - 237, 1994.

WAGGONER, B., SPEER, B.R. *Lichens*. Univ. Berkeley, USA: 1997. [Cited January, 2001]. Available from World Wide Web: <<http://www.ucmp.berkeley.edu/fungi/lichens/lichenmm.html>>.

WITTIG, R; General aspects of biomonitoring heavy metals by plants. In: MARKET, B. (Ed). **Plants as biomonitors: Indicators of heavy metals in the terrestrial environment**. New York: VCH, 1993. p. 3-27.

WOLTERBEEK, H.T., BODE, P.; VERBURG, T.G. Assessing the quality of biomonitoring via signal-to-noise ratio analysis. *Sci. Tot. Environ.*, v. 180, p. 107 - 116, 1996.