

ANÁLISE DE ESPÉCIES DE LIQUENS EPIFÍTICOS PARA USO NA BIOMONITORAÇÃO DE POLUENTES ATMOSFÉRICOS

Alessandra Fuga*, Mitiko Saiki*, Marina B. A. Vasconcellos*, Neli K. Honda**, Onofre S. Siqueira**

*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP, Supervisão de Radioquímica,
Avenida Prof. Lineu Prestes 2.242
05508-000 Cidade Universitária, São Paulo, SP, Brasil

**Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Departamento de Química, Caixa Postal 549, CEP 79070-900
Campo Grande, MS, Brasil

RESUMO

O método de análise por ativação com nêutrons foi aplicado à determinação de elementos - traço em espécies distintas de líquens epifíticos *Usnea meridionalis*, *Parmotrema tinctorum* e *Parmotrema dilatatum* coletados na Vila de Piraputanga, MS, Brasil. As concentrações dos elementos Al, Br, Ca, Cl, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb, V e Zn foram encontradas aos níveis de $\mu\text{g g}^{-1}$ e os elementos As, Cs, Cr, Co, Hf, Mo, Sb, Sc, Se, Th e elementos lantanídeos da ordem de ng g^{-1} . Os resultados obtidos nestas análises mostraram que as três espécies analisadas podem ser utilizadas na monitoração da poluição ambiental. A precisão e a exatidão dos resultados foram avaliadas pela análise dos materiais certificados de referência Lichen 336 da AIEA e Peach Leaves 1547 do NIST.

Keywords: lichen, neutron activation analysis, environmental pollution, biomonitors

I. INTRODUÇÃO

Atualmente, assuntos associados à poluição ambiental têm se tornado cada vez mais freqüentes, aumentando assim o interesse mundial pelo desenvolvimento de metodologias adequadas para o controle ambiental.

Também vários tipos de materiais têm sido estudados para serem utilizados como indicadores dos níveis de poluentes atmosféricos. Dentre estes materiais destacam-se os líquens epifíticos, devido a alta capacidade desta planta absorver e acumular muitos elementos de interesse sob o ponto de vista ambiental. Os líquens, além de serem muito sensíveis às mudanças antropogênicas do meio ambiente, a sua utilização no estudo da poluição apresenta vantagens em relação aos métodos convencionais de monitoração devido ao baixo custo e facilidade na amostragem. A alta ocorrência dos líquens possibilita também a monitoração de extensas regiões geográficas de interesse sob o ponto de vista da poluição ambiental.

Os líquens tem sido amplamente estudados como indicadores da qualidade da poluição ambiental bem como na identificação de fontes poluidoras em inúmeros trabalhos [1-4], entretanto no Brasil dados sobre análise de líquens para uso biomonitoração são bastante escassos.

Num trabalho prévio, realizado no Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica do IPEN, Saiki e

colaboradores [5,6] estabeleceram as condições adequadas para tratamento de líquens e analisaram 32 elementos em *Canoparmelia texana*, aplicando o método de análise por ativação com nêutrons (AAN).

Dando continuidade a este estudo, o objetivo deste trabalho foi analisar pelo método de AAN, três espécies de líquens epifíticos: *Usnea meridionalis*, *Parmotrema tinctorum* e *Parmotrema dilatatum* para examinar a potencialidade destas espécies para uso na biomonitoração da poluição atmosférica

Para avaliar a precisão e exatidão dos resultados foram analisados os materiais de referência Lichen 336 da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) e Peach Leaves 1547 do National Institute of Standards & Technology (NIST).

II. PARTE EXPERIMENTAL

Coleta e Tratamento das Amostras de Líquens. As três espécies de líquens epifíticos *Usnea meridionalis*, *Parmotrema tinctorum* e *Parmotrema dilatatum* foram coletadas na Vila de Piraputanga, MS, Brasil. As amostras foram coletadas juntamente com suas respectivas cascas de árvores e guardadas em embalagem de papel ao invés de plástico para evitar-se a formação de bolores nas amostras.

Tratamento das Amostras para Análises. Primeiramente separou-se o líquen do seu substrato de casca de árvore usando uma faca de titânio e a sua limpeza foi feita examinando a amostra em um microscópio estereoscópico (modelo SZ4045, da marca Olympus). Após esta limpeza as amostras foram lavadas com água destilada onde os líquens permaneceram imersos por cerca de dois minutos dentro de um copo plástico. A seguir estas amostras foram guardadas em um freezer e posteriormente foram secas por liofilização. As amostras secas foram submetidas a moagem em um almofariz de ágata.

Preparação de Padrões. Inicialmente foram preparadas soluções-padrão simples ou mistas a partir das soluções-padrão elementares produzidas da CertPrep Chemical adquiridas já prontas para uso e também soluções-padrão preparadas no laboratório. As soluções foram preparadas dissolvendo os elementos na forma metálica, óxidos ou sais com reagentes apropriados. Os padrões sintéticos foram preparados pipetando-se alíquotas de 50 ou 100 μl de soluções-padrão elementar ou multielementares sobre pequenas tiras papel de filtro Whatman nº 41. Estas tiras de papel foram secas num dessecador à temperatura ambiente e depois foram colocadas dentro de invólucros de polietileno e selados para serem irradiados juntamente com as amostras. Estes invólucros foram confeccionados usando folhas de polietileno incolor previamente lavadas com uma solução de ácido nítrico p.a. diluído e água destilada. As massas dos elementos nos padrões variaram de 0,075 a 1001,2 μg .

Procedimento para AAN. Cerca de 150 mg de cada amostra, pesados em invólucros de polietileno, foram irradiados no reator nuclear IEA-R1, juntamente com os padrões sintéticos de elementos. As irradiações curtas de 5 minutos foram realizadas sob fluxo de nêutrons térmicos da ordem de $5 \times 10^{11} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e as longas de 16 horas com fluxo de nêutrons térmicos da ordem de $10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. As medidas das atividades gama foram feitas no detector de Ge hiperpuro (modelo GX2020, da Canberra) acoplado a um processador integrado de sinais (modelo 1510) e Cartão System S100 (ambos da Canberra) e um microcomputador. O detector utilizado tinha uma resolução de 0,9 keV para o pico de 122 keV do ^{57}Co e de 1,78 keV para o pico de 1332 keV de ^{60}Co . O teste de verificação do funcionamento do sistema de contagens foi feito diariamente por meio da medida da atividade de uma fonte de $^{57}\text{Co} + ^{60}\text{Co}$. Para aquisição dos dados de contagens utilizou-se o Programa S100 da Canberra e os espectros gama gravados em disquete foram posteriormente processados usando programa VERSAO2, uma nova versão de Programa VISPECT2 [7]. Os radioisótopos foram identificados pelas energias dos seus raios gama e meias-vidas e as concentrações dos elementos foram calculadas pelo método comparativo de análise por ativação [8].

Os materiais certificados de referência foram analisados aplicando as mesmas condições experimentais

adotadas na análise de líquens. Para expressar os resultados das análises dos materiais de referência na sua base seca foram determinadas experimentalmente as percentagens de perda de peso nas secagens feitas a 85 °C por cerca de 4 horas.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na TABELA 1 estão os resultados obtidos nas análises dos materiais de referência juntamente com os valores dos certificados para a comparação. Os resultados obtidos indicam, em geral, uma boa concordância com valores certificados. As percentagens de erros relativos obtidos para os elementos cujas concentrações são certificadas apresentaram valores inferiores a 15 %. Também os resultados obtidos apresentaram para a maioria dos elementos uma boa precisão com desvios relativos variando de 0,7 a 15 %. Os resultados menos precisos com desvios padrões superiores a 15% foram obtidos para o elemento Nd e Tb no material Lichen 336 e de elementos Cs e Se no material Peach Leaves, devido às baixas taxas de contagens obtidas para os fotopicos dos seus radioisótopos medidos.

Os resultados das análises de líquens da TABELA 2 mostram que as três espécies apresentam o acúmulo de Al, Br, Ca, Cl, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb, V e Zn aos níveis de $\mu\text{g g}^{-1}$ e os elementos As, Cs, Cr, Co, Hf, Mo, Sb, Sc, Se, Th e elementos lantanídeos aos níveis de ng g^{-1} . As concentrações de elementos obtidos para as três espécies diferentes de líquen foram, em geral, da mesma ordem de grandeza, com exceção das concentrações de Al, Br, Cl, Cr, Hf e Zn que foram ligeiramente mais baixas na amostra da *Usnea meridionalis*.

IV. CONCLUSÕES

Do ponto de vista da coleta e tratamento de amostras, o trabalho experimental mostrou que a *Usnea meridionalis* é a mais fácil de ser separada do substrato e de limpeza por se tratar de um líquen fruticoso quando comparada com as *Parmotrema tinctorum* e *dilatatum* que são líquens foliosos. Os resultados obtidos indicaram que as três espécies apresentam as mesmas características de acumular elementos e podem ser usadas na biomonitoração.

AGRADECIMENTOS

A AIEA, FAPESP, CNPq e FUNDECT, pelo auxílio financeiro.

TABELA 1. Média das Concentrações de Elementos nos Materiais de Referência Lichen 336 da AIEA e Peach Leaves 1547 do NIST.

Elemento	Lichen 336			Peach Leaves 1547		
	$X \pm s^a$	$s_r, \%^b$	Ref [9]	$X \pm s$	$s_r, \%$	Ref [10]
Al, $\mu\text{g g}^{-1}$	c			254 \pm 11 (3)	4,0	249 \pm 8
As, ng g^{-1}	670 \pm 22	3,0	630 (550-710)			
Br, $\mu\text{g g}^{-1}$	11,3 \pm 1,3	11,5	12,9 (11,2-14,6)	10,0 \pm 1,5	15,0	11• ^d
Ca, %	0,24 \pm 0,02	8,9		1,55 \pm 0,09	5,8	1,56 \pm 0,02
Cl, $\mu\text{g g}^{-1}$	1768 \pm 54	3,0	1900 (1600-2200) •	355 \pm 12	3,3	360 \pm 19
Cs, ng g^{-1}	109,5 \pm 8,8	8,0	110 (97-123)	82 \pm 14	17,1	
Cr, ng g^{-1}	1094 \pm 41	3,7	1060 (890-1230) •	1634 \pm 60 (4)	3,7	1000•
Co, ng g^{-1}	284 \pm 13	4,5	290 (240-340)	70,8 \pm 6,2 (4)	8,8	70•
Fe, $\mu\text{g g}^{-1}$	416 \pm 47	11,3	430 (380-480)	214 \pm 19 (4)	8,9	218 \pm 14
K, $\mu\text{g g}^{-1}$	1841 \pm 276	14,9	1840 (1640-2040)	24,6 \pm 1,9 (5)	7,7	24,3 \pm 0,3
Mg, $\mu\text{g g}^{-1}$				4,10 \pm 0,21	5,1	4,32 \pm 0,08
Mn, $\mu\text{g g}^{-1}$	62,8 \pm 3,1	4,9	63 (56-70)	90,3 \pm 1,1 (3)	1,2	98 \pm 3
Mo, ng g^{-1}	654 \pm 80	12,2				
Na, $\mu\text{g g}^{-1}$	312 \pm 17	5,4	320 (280-360)	21,6 \pm 0,3	1,3	24 \pm 2
Rb, $\mu\text{g g}^{-1}$	1,49 \pm 0,06	3,7	1,76 (1,54-1,98) •	16,72 \pm 0,12	0,7	19,7 \pm 1,2
Sb, ng g^{-1}	82,8 \pm 5,4	6,5	73 (63-83)	33,6 \pm 4,8	14,2	20•
Sc, ng g^{-1}	173,4 \pm 9,6	5,5	170 (150-190) •	46,6 \pm 6,9	14,7	40•
Se, ng g^{-1}	212 \pm 24	11,3	220 (180-260)	137 \pm 26	18,9	120 \pm 9
Th, ng g^{-1}	164 \pm 12	7,3	140 (120-160)	61,8 \pm 5,7	9,2	50•
Zn, $\mu\text{g g}^{-1}$	36,1 \pm 2,1	5,8	30,4 (27,0 - 33,8)	18,0 \pm 1,5	8,3	17,9 \pm 0,4
La, ng g^{-1}	676 \pm 29	4,3	660 (560-760)			
Ce, ng g^{-1}	1452 \pm 13	0,9	1280 (1110-1450)	11,9 \pm 0,5	4,1	10•
Nd, ng g^{-1}	573 \pm 141	24,6	600 (420-780) •	6,7 \pm 0,6	8,9	7•
Sm, ng g^{-1}	114 \pm 11	9,6	106 (92-120)	1,05 \pm 0,05	4,8	1•
Eu, ng g^{-1}	23,1 \pm 0,8	3,7	23 (19-27) •	199 \pm 20	10,0	170•
Tb, ng g^{-1}	14,4 \pm 3,1	21,5	14 (12-16) •	91 \pm 55	60	100•
Yb, ng g^{-1}	41,8 \pm 4,8	11,4	37 (25-49) •	184 \pm 20	10,8	200•
Lu, ng g^{-1}	7,4 \pm 0,6	8,16	6,6 (4,2-9,0) •	25,9 \pm 2,5	9,7	

- a. Média aritmética e desvio padrão de 2 a 7 determinações;
b. s_r , Desvio padrão relativo,
c. Espaço em branco indica elemento não analisado ou não certificado;
d. • Indica valor informativo.

TABELA 2. Concentrações de Elementos Obtidas nas Amostras de *Usnea meridionalis*, *Parmotrema tinctorum* e *Parmotrema dilatatum*.

Elemento	<i>Usnea meridionalis</i>		<i>Parmotrema tinctorum</i>		<i>Parmotrema dilatatum</i>	
	X ± s (n) ^a	S _r , % ^b	X ± s (n)	S _r	X ± s (n)	S _r , %
Al, µg g ⁻¹	607 ± 103 (2)	16,9	1032 ± 132 (2)	12,8	1126 ± 120 (2)	10,6
As, ng g ⁻¹	410 ± 55 (3)	13,4	349 ± 16 (3)	4,6	421 ± 24 (5)	5,7
Br, µg g ⁻¹	0,81 ± 0,02 (3)	2,5	2,43 ± 0,15 (3)	6,1	4,21 ± 0,40 (5)	9,5
Ca, µg g ⁻¹	1494 ± 119 (3)	7,9	747 ± 22 (4)	2,9	1529 ± 30 (3)	2,0
Cl, µg g ⁻¹	62 ± 16 (2)	25,8	270 ± 13 (2)	4,8	323 ± 43 (3)	13,3
Cs, ng g ⁻¹	110,5 ± 9,5 (2)	8,6	157,8 ± 7,3 (4)	4,6	157,8 ± 6,9 (3)	4,4
Cr, ng g ⁻¹	676 ± 77 (3)	11,4	1029 ± 83 (3)	8,1	1132 ± 76 (3)	6,7
Co, ng g ⁻¹	161 ± 14 (2)	8,7	111,9 ± 6,5 (4)	5,8	129,9 ± 8,1 (3)	6,2
Fe, µg g ⁻¹	360 ± 40 (3)	11,1	499 ± 35 (4)	7,0	626 ± 84 (3)	13,4
Hf, ng g ⁻¹	56 ± 7 (3)	12,5	141 ± 13 (3)	9,2	150 ± 22 (3)	14,7
K, µg g ⁻¹	1530 ± 208 (4)	13,6	1117 ± 82 (4)	7,5	1150 ± 26 (3)	2,3
Mg, µg g ⁻¹	938 ± 43 (3)	4,6	638 ± 48 (2)	8	745 ± 59 (3)	7,9
Mn, µg g ⁻¹	149 ± 13 (4)	8,7	44,5 ± 2,8 (2)	6,3	57,4 ± 1,2 (3)	2,1
Mo, ng g ⁻¹	757 ± 203 (3)	26,8	693 ± 62 (3)	8,9	576 ± 24 (2)	4,1
Na, µg g ⁻¹	55,0 ± 6,1 (3)	11	34,8 ± 1,3 (2)	3,7	31,1 ± 1,1 (4)	3,5
Rb, µg g ⁻¹	5,4 ± 0,7 (3)	12,1	6,3 ± 0,5 (4)	7,6	5,4 ± 0,4 (3)	7,9
Sb, ng g ⁻¹	28,4 ± 2,8 (3)	9,8	32,6 ± 2,0 (3)	6,1	43,6 ± 1,7 (3)	3,9
Sc, ng g ⁻¹	193 ± 24 (6)	12,4	161 ± 6 (8)	3,9	207 ± 24 (3)	11,6
Se, ng g ⁻¹	100,6 ± 8,3 (4)	8,3	73,3 ± 1,0 (3)	1,4	91,3 ± 8,4 (3)	9,2
Th, ng g ⁻¹	102 ± 20 (3)	19,6	130,6 ± 7,4 (4)	5,7	156 ± 13 (3)	8,3
V, µg g ⁻¹	0,99 ± 0,15 (4)	15,1	1,42 ± 0,24 (2)	16,9	1,57 ± 0,05 (2)	3,2
Zn, µg g ⁻¹	7,1 ± 1,6 (3)	22,5	27,4 ± 1,2 (3)	4,4	16,3 ± 1,6	9,8
La, ng g ⁻¹	788 ± 77 (3)	9,8	589 ± 19 (3)	3,2	773 ± 23 (3)	2,9
Ce, ng g ⁻¹	2021 ± 184 (3)	9,1	1517 ± 44 (4)	2,9	2020 ± 151 (3)	7,5
Nd, ng g ⁻¹	791 ± 63 (3)	7,9	494 ± 38 (3)	7,7	972,0 ± 7,6 (3)	0,8
Sm, ng g ⁻¹	135 ± 10 (3)	7,4	104 ± 6 (3)	5,8	145 ± 13 (3)	8,9
Eu, ng g ⁻¹	33,6 ± 4,1 (3)	12,2	25,3 ± 1,2 (4)	4,7	39,6 ± 1,7 (3)	4,3
Tb, ng g ⁻¹	20,1 ± 1,2 (3)	5,8	14,6 ± 1,0 (4)	6,8	24,1 ± 0,5 (3)	2,2
Yb, ng g ⁻¹	39,8 ± 7,1 (3)	17,8	42,8 ± 3,8 (4)	8,8	61,1 ± 6,7 (3)	10,9
Lu, ng g ⁻¹	7,7 ± 1,1 (3)	14,2	8,5 ± 0,4 (3)	4,7	11,2 ± 0,6 (3)	5,3

a. (n) = número de determinações

b. s_r = Desvio padrão relativo

REFERÊNCIAS

- [1] Sloof, J. E., **Environmental Lichenology: Biomonitoring Trace-element Air Pollution**, Ph. D. Thesis, Delft University of Technology, The Netherlands, 1993.
- [2] GARTY, J., **Biomonitoring Atmospheric Heavy Metals With Lichens**, Crit. Rev. Plant Sci., vol. 20, p. 309-371, 2001.
- [3] FREITAS, M. C.; NOBRE, A. S., **Bioaccumulation of Heavy Metals Using *Parmelia sulcata* and *Parmelia caperata* for Air Pollution Studies**, J. Radioanal. Nucl. Chem., vol. 217, p. 17-20, 1997.
- [4] DE BRUIN, M., **Applying Biological Monitors and Neutron Activation Analysis in Studies of Heavy Metal Air Pollution**, IAEA Bull., vol. 4, p. 22-27, 1990.
- [5] SAIKI, M., CHAPARRO, C. G., VASCONCELLOS, M. B. A., MARCELLI, M. P., **Determination of Trace Elements in Lichens by Instrumental Neutron Activation Analysis**, J. Radioanal. Nucl. Chem., vol. 217, p. 111-115, 1997
- [6] SAIKI, M., HORIMOTO, L. K., VASCONCELLOS, M. B. A., MARCELLI, M.P., COCCARO, D. M. B., **Survey of Elemental Concentrations in Lichen Samples Collected from São Paulo State**, J. Radioanal. Nucl. Chem., vol. 249, p. 317-320, 2000.
- [7] PICCOT, D., Comunicação Pessoal
- [8] DE SOETE, D., GIBELS, R., HOSTE, J., **Neutron Activation Analysis**, Wiley Interscience, New York, 1972.
- [9] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Reference Material IAEA-336 - Trace and Minor Elements in Lichen**, Reference Sheet, 1999.
- [10] NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, **Certificate of Analysis. Standard Reference Material NIST 1547 Peach Leaves**, 1992.

ABSTRACT

In this work, neutron activation analysis method was applied in the analysis of epiphytic lichen species *Usnea meridionalis*, *Parmotrema tinctorum* and *Parmotrema dilatatum*, collected in Vila Piraputanga, MS, Brazil. Concentrations of the elements Al, Br, Ca, Cl, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb, V and Zn were determined at the levels of $\mu\text{g g}^{-1}$ and As, Cs, Cr, Co, Hf, Mo, Sb, Sc, Se, Th and lanthanide elements at ng g^{-1} levels. Results obtained showed that these three lichen species could be used in the environmental biomonitoring purposes. The precision and the accuracy of the results were also evaluated by analyzing certified reference materials IAEA 336 Lichen and 1547 NIST Peach Leaves.