

CHEMPOR 98

Fixação e Libertação de Zn por Musgos Aquáticos (*Fontinalis antipyretica* L. ex. Hedw.)

Ramiro J.E. Martins e Rui A.R. Boaventura*

LSRE -Laboratório de Processos de Separação e Reacção
Dep. Eng. Química, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto
4099 Porto Codex, Portugal

Resumo

A acumulação e posterior eliminação de zinco por uma briófito aquática- *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw.- foi estudada experimentalmente em laboratório, expondo a planta a quatro concentrações de zinco na gama, $1.0-5.0 \text{ mg l}^{-1}$ durante o período de contaminação (144 horas), seguido dum período de descontaminação (120 horas) em contacto com água isenta de metal. As experiências foram conduzidas em tanques perfeitamente agitados e a luminosidade controlada, sendo usados musgos colhidos em Fevereiro de 1997, com concentração inicial de Zn de $263.5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco. Foi usado um modelo cinético de transferência de massa de 1ª ordem no ajuste dos dados experimentais por forma a determinar as constantes de acumulação e eliminação, k_1 e k_2 , a concentração de Zn no musgo no final do período de contaminação, C_{mu} , e as concentrações de equilíbrio no final dos períodos de contaminação e descontaminação, C_{me} e C_{mr} , respectivamente.

Introdução

A determinação quantitativa de poluentes nos vários compartimentos dos ecossistemas aquáticos constitui uma tarefa importante para a identificação de focos de poluição, a avaliação de tendências de contaminação ou descontaminação e o controlo da qualidade ambiental.

Os musgos aquáticos têm uma elevada capacidade para assimilar nutrientes, compostos orgânicos tóxicos e metais pesados, produzindo no seu interior uma concentração várias vezes superior à existente no meio circundante (Wehr e Whitton, 1983; Reddy e De Busk, 1985). Pelas características que apresentam (fisiológicas, ambientais) e pela enorme distribuição geográfica, aparecendo na generalidade dos países europeus (Whitton *et al.*, 1981) têm sido utilizados com sucesso como bioindicadores da contaminação de águas superficiais (rios e lagos) por metais pesados (Mouvet, 1984, 1985; Kelly *et al.*, 1987; Gonçalves *et al.*, 1992, 1994, 1997). Esta característica advém da sua capacidade de acumulação, que permite durante longos períodos de tempo, uma integração de eventuais flutuações da concentração de metal presente na água (Whitehead e Brooks, 1969).

De um modo particular, as briófitas aquáticas satisfazem os requisitos básicos de um bom indicador biológico (Phillips, 1980), sendo simultaneamente um método de monitorizar a qualidade da água a baixo custo (Glime e Keen, 1984).

A capacidade de acumulação tem sido igualmente utilizada na remoção de metais pesados de águas poluídas (Jain *et al.*, 1989; Srivastav *et al.*, 1994).

De forma a interpretar correcta e eficientemente os resultados da biomonitorização, foram realizados vários estudos de modo a estabelecer uma cinética da acumulação e libertação de metais pesados, quer em laboratório (Gonçalves *et al.*, 1997), quer no meio natural utilizando briófitas autóctones e/ou transplantes (Mersch e Kass, 1994).

A cinética depende de factores intrínsecos à própria planta e, de vários factores ambientais como temperatura, luz, foto-período, concentração do metal, presença de outros compostos e características físico-químicas da água.

A acumulação de metais por briófitas tem sido objecto de estudo por parte de diversos autores (Pickering e Puia, 1969; Brown e Beckett, 1985) visando aperfeiçoar o conhecimento dos mecanismos de acumulação e/ou libertação e razão de acumulação no caso de soluções enriquecidas do metal.

Resultados de experiências em sistemas fechados sugerem a existência de dois (Foulquier *et al.*, 1976) ou três estágios (Pickering e Puia, 1969) durante a acumulação de metal pelas células da planta.

Um modelo cinético de transferência de massa de primeira ordem, corresponde em certas situações a uma aproximação bastante satisfatória. A concentração de equilíbrio e consequentemente o Factor de Bioconcentração (BCF) (Walker, 1990), razão entre a concentração de metal no equilíbrio na planta e na água, pode ser determinado por dois métodos. Um, expondo a planta a água contaminada durante um período de tempo suficientemente longo até se atingirem as condições de estado estacionário, o que nem sempre é fácil de constatar. Alternativamente a concentração de equilíbrio pode ser calculada a partir das constantes cinéticas de acumulação e eliminação de metal. São determinadas experimentalmente contaminando a planta durante um pequeno período (poucos dias), seguido de uma exposição em água não contaminada durante alguns dias (Walker, 1990).

Esta metodologia foi usada na determinação de factores de bioconcentração de zinco por *Gammarus Pulex* (L.) (Xu e Pascoe, 1993) e, no estudo da cinética de acumulação e eliminação de cobre pela *Fontinalis antipyretica* (Gonçalves *et al.*, 1997), definindo-se também neste caso, um novo factor relacionado com a eliminação de metal pela planta, Factor de Eliminação Biológica (BEF).

Dados de estudos de campo (Say *et al.*, 1981) e laboratório (Srivastav *et al.*, 1994) demonstraram que a acumulação de metais pesados por briófitas aquáticas depende das espécies seleccionadas. Experiências em laboratório mostraram que a acumulação de zinco por *Rhynchosyrium riparioides* é pelo menos duas vezes superior à conseguida pela *Fontinalis antipyretica* (Wehr, 1983).

Nos últimos anos tem-se observado um aumento crescente pelo interesse da transferência de massa em membranas, pela sua potencial aplicação nas áreas de oxigenação artificial, diálise, separação de gases e extracção de metais (Belfort, 1987).

A pesquisa em membranas líquidas com um agente complexante tem como objectivo a aproximação dos sistemas *in vitro* dos encontrados nas membranas biológicas.

Diferentes modelos têm sido apresentados na descrição do transporte activo através de membranas, pelo seu interesse na previsão das taxas de transferência de massa em sistemas industriais de separação.

O fenómeno de “bombagem química” de um soluto no sentido oposto à diferença de concentração ainda não é bem conhecido na sua essência biológica.

A utilização experimental de membranas sintéticas como agentes complexantes e de transporte para separação de iões metálicos é apresentada por Lee *et al.*(1987).

A *Fontinalis antipyretica* tem sido reconhecida como um bom indicador de metais pesados, bem como confirmado por diversos estudos referidos na literatura (Mersch e Kass,

1994). No caso de uma descarga acidental, o conhecimento das razões de acumulação e eliminação é essencial na previsão, após um curto período de exposição, da concentração de metal na água a partir da quantidade presente nos musgos. Mais ainda, torna-se possível a partir destas razões verificar se o tempo decorrido entre o início da descarga e a amostragem de musgos é ou não suficientemente longo para assumir que as condições de equilíbrio foram atingidas.

Materiais e Métodos

Musgos

As experiências foram realizadas com uma espécie de briófitas aquáticas, *Fontinalis antipyretica* (Hedw.) colhida no Rio Selho, localidade de Aldão, na bacia hidrográfica do Rio Ave, antes de cada ensaio laboratorial. As amostras foram retiradas dum trecho do rio isento a montante de contaminação metálica, apresentando um teor de metais pesados considerado natural. Procedeu-se à sua lavagem no local de amostragem, directamente na água corrente de forma a remover sedimentos acumulados e invertebrados que se tenham fixado aos musgos. No laboratório foram lavados com água destilada, seleccionando as partes verdes e rejeitando as mais escurecidas. Foram conservados durante algumas horas a baixa temperatura em recipiente adequado, até se iniciarem as experiências. Os musgos usados na realização da parte experimental foram colhidos no mês de Fevereiro de 1997.

Descrição experimental

A instalação experimental consta de quatro tanques rectangulares em acrílico, perfeitamente agitados e em funcionamento contínuo. Um sistema de recirculação da água promove a agitação e homogeneização, o que foi comprovado pela análise da distribuição dos tempos de residência usando um marcador (KCl).

Cada tanque foi alimentado a partir de um reservatório com água previamente desclorada, em coluna de carvão activado, usando uma bomba peristáltica. A cada uma das correntes, antes da entrada nos tanques, foi adicionada a solução de metal utilizando uma bomba multi-canal. As diferentes concentrações de zinco nos tanques, na gama de 1.0 a 5.0 $mg\ l^{-1}$, foram conseguidas usando na aspiração da solução aquosa de cloreto de zinco tubos de diferentes diâmetros. O caudal de alimentação foi de 600 $ml\ min^{-1}$ e manteve-se um nível constante nos tanques. As experiências decorreram à temperatura ambiente, 17- 20° C.

A simulação da iluminação foi feita com uma lâmpada de luz branca de 40W e outra rosa de 36W, que se mantiveram ligadas durante toda a experiência. As lâmpadas estavam a 0.9 m da superfície da água, tendo-se registado uma intensidade luminosa média de 1723 Lux.

As amostras de musgo em quantidade suficiente para análises em duplicado, colocadas em saquetas de rede plástica, foram imersas na água contaminada com zinco. As experiências tiveram um período de contaminação de 144 horas seguido de descontaminação durante 120 horas, sendo retiradas amostras de musgos e de água de cada um dos tanques, a intervalos de tempo previamente definidos.

Procedimento analítico

As amostras retiradas de cada tanque foram lavadas com água destilada e secas na estufa a 70°C durante aproximadamente 24 horas. Procedeu-se então à sua moagem em moinho de

anéis aço-crómio (RETSCH S1) durante 90 segundos a 1400 rpm. Cada amostra de musgo foi analisada em duplicado. A digestão ácida foi feita numa caixa de teflon previamente lavada com ácido nítrico a 10%, para a qual se pesou aproximadamente 100 mg de musgo moído a que se adicionou 4 ml de HNO_3 a 65%. A caixa foi fechada e introduzida numa bomba Parr de 23 ml que se colocou num forno de microondas de 14 litros, a uma potência de 600 Watts durante 60 segundos. Após a digestão deixou-se repousar durante 2 horas, sendo a solução transferida para um balão e diluída a 25 ml com água destilada e desionizada, filtrada por membrana $0.45 \mu m$, e analisado o zinco por espectrofotometria de absorção atômica (EAA). A concentração de zinco nos musgos foi expressa em $\mu g g^{-1}$ peso seco.

Modelo Cinético

Para um sistema de dois compartimentos (água-planta), em que existem quantidades residuais de metal, a transferência de iões metálicos de e para as briófitas aquáticas, pode ser razoavelmente descrita por um modelo de transferência de massa de primeira ordem (Walker, 1990; Gonçalves et al., 1997), como o representado:



onde

C_w = concentração de metal na água, $mg l^{-1}$

C_m = concentração de metal na planta, $\mu g g^{-1}$

C_{m0} = concentração inicial de metal na planta, $\mu g g^{-1}$

k_1 = constante cinética de acumulação, h^{-1}

k_2 = constante cinética de eliminação, h^{-1}

A variação da concentração de metal na planta durante o período de acumulação é dada pela equação diferencial:

$$\frac{dC_m}{dt} = k_1 C_w - k_2 (C_m - C_{m0}) \quad (2)$$

com t = tempo, h .

Integrando a eq.(2), para a condição inicial $C_m = C_{m0}$ para $t=0$ e considerando C_w = constante, vem:

$$C_m = C_{m0} + \frac{k_1}{k_2} C_w (1 - e^{-k_2 t}) \quad (3)$$

Quando $t \rightarrow \infty$, a concentração de metal na planta tende para concentração de metal na planta no equilíbrio (C_{me}), dada por:

$$C_{me} = C_{m0} + \frac{k_1}{k_2} C_W \quad (4)$$

Assim, no estado estacionário a bioacumulação é representada pelo factor de bioconcentração (BCF) (Walker, 1990):

$$BCF = \frac{C_{me} - C_{m0}}{C_W} = \frac{k_1}{k_2} \quad (5)$$

Interrompida a adição de metal à água, no instante $t = t_d$, termina o período de contaminação e inicia-se o período de descontaminação. Estudos experimentais têm demonstrado que neste período a eliminação de metal não é total, tendendo para um valor residual superior a C_{m0} . Nesta fase, a variação da concentração de metal com o tempo é dada por:

$$\frac{dC_m}{dt} = -k_2 (C_m - C_{mr}) \quad (6)$$

com C_{mr} = concentração residual de metal na planta, $\mu g g^{-1}$.

Substituindo na eq.3 t por t_d , temos a concentração de metal no fim do período de contaminação dada por:

$$C_{mu} = C_{m0} + \frac{k_1}{k_2} C_W (1 - e^{-k_2 t_d}) \quad (7)$$

em que t_d = tempo ao fim do qual termina o período de acumulação, h

Com a condição inicial: $t = t_d$; $C_m = C_{mu}$ e substituindo em (6) vem:

$$C_m = C_{mr} + (C_{mu} - C_{mr}) * e^{-k_2(t-t_d)} \quad (8)$$

Quando $t \rightarrow \infty$, $C_m \rightarrow C_{mr}$ podendo ser definido um factor de eliminação biológica (BEF) para o período de descontaminação:

$$BEF = \frac{C_{mu} - C_{mr}}{C_{mu}} = 1 - \frac{C_{mr}}{C_{mu}} \quad (9)$$

Resultados e Discussão

Os parâmetros de qualidade da água usada ao longo das experiências foram relativamente constantes (Tabela 1) e as concentrações de zinco nos tanques tiveram variações pequenas (Figura 1).

Tabela 1. Parâmetros da qualidade da água ao longo das experiências

Parâmetro	mínimo	máximo
pH	6.5	7.0
Condutividade, $\mu S/cm$	220	240
Alcalinidade, $mg CaCO_3/l$	50.0	58.2
Dureza Total, $mg CaCO_3/l$	95.5	106.0
Nitratos, mg/l	2.3	2.5
Cloretos, mg/l	13.4	13.8
Zinco, mg/l	<0.03	<0.03
COT, mg/l	14.4	14.7

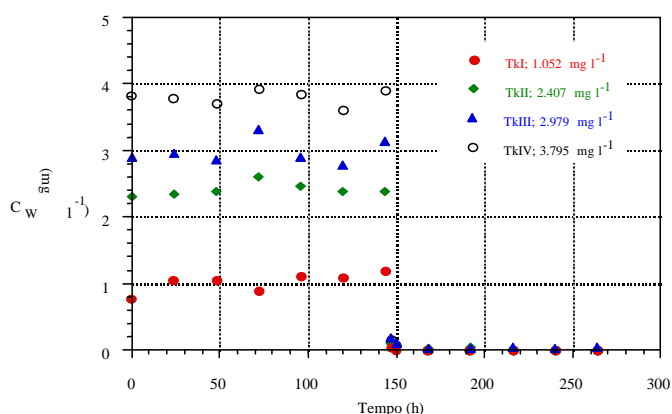


Fig.1. Concentrações de zinco registradas nos tanques I a IV.

Os dados experimentais do período de acumulação foram ajustados à eq.3 para determinar as constantes cinéticas k_1 e k_2 . A concentração de metal no equilíbrio (C_{me}) e a concentração no fim do período de contaminação (C_{mu}) foram calculadas usando as eq.(s) 4 e 7, respectivamente. Do ajuste dos dados experimentais da descontaminação à eq.8 obteve-se a concentração residual de metal (C_{mr}). Os parâmetros calculados estão representados na tabela 2. A evolução da concentração de zinco nos musgos e a prevista pelo modelo podem observar-se na figura 2.

Tabela 2. Constantes cinéticas e concentrações de equilíbrio para as fases de acumulação e eliminação de zinco

$C_w (mg l^{-1})$	$k_1 (h^{-1})$	$k_2 (h^{-1})$	$C_{me} (\mu g g^{-1})$	$C_{mr} (\mu g g^{-1})$
1.052	145	0.032	5030	656
2.407	85	0.025	8447	1288
2.979	82	0.025	10035	1455
3.795	59	0.020	11459	2342

A constante cinética k_1 , variando de 145 a 59 h^{-1} com o aumento da concentração de metal na água ($1.052 - 3.795 \text{ mg l}^{-1}$), indicia um efeito tóxico do metal na planta que lhe reduz a capacidade de acumulação nas células. Para a fase de descontaminação k_2 pode ser considerado constante, e logo independente da concentração de metal na água, apresentando um valor médio de 0.026 h^{-1} . Comparando os valores teóricos de C_{me} e as concentrações observadas no fim da fase de acumulação, foi adequado o período de 144 horas escolhido. Quanto à duração do período de descontaminação seria conveniente ter uma duração superior às 120 horas, o que se constata da observação directa da figura 2.

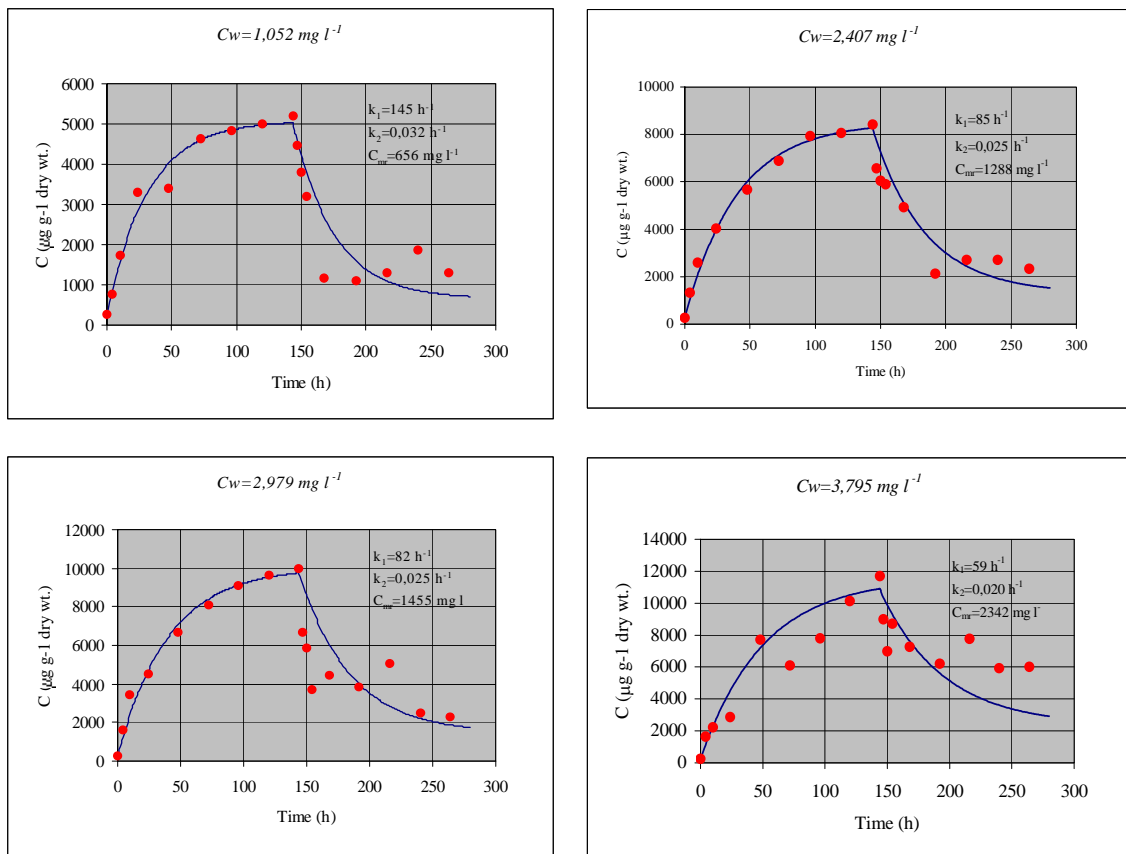


Fig.2. Contaminação e descontaminação da *Fontinalis antipyretica* pelo zinco (-●- valores experimentais; — modelo)

Na tabela 3 encontram-se os valores dos factores de bioconcentração (BCF) e bioeliminação (BEF) calculados a partir das equações 5 e 9, respectivamente. Como k_2 pode ser considerado constante, temos que BCF é proporcional a k_1 e varia na razão inversa da concentração de zinco na água, uma vez que a toxicidade aumenta com a concentração. Para concentrações de zinco

Tabela 3. Factores de bioconcentração (BCF) e bioeliminação biológica (BEF)

C_w (mg l^{-1})	BCF	BEF
1.052	4531	0.87
2.407	3400	0.84

2.979	3280	0.85
3.795	2950	0.78

baixas (1.052 mg l^{-1}), os musgos conseguem acumular na ordem das 4500 vezes mais (peso seco) que a concentração de zinco na água, diminuindo para valores de 3000 vezes para concentrações elevadas (3.795 mg l^{-1}). Na gama de concentrações escolhida foi observada uma relação linear entre BCF e C_w , representada na figura 3:

$$BCF = 5067.4 - 590.61C_w; r^2 = 0.97; 1.052 < C_w < 3.795 \text{ mg l}^{-1}$$

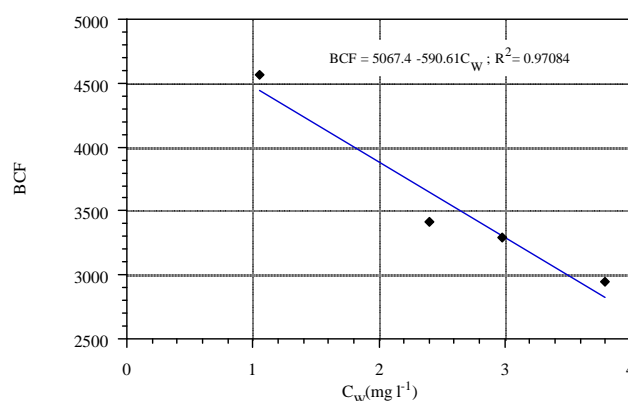


Fig.3. Relação linear entre o factor de bioconcentração (BCF) e a concentração de zinco na água (C_w).

No período de descontaminação, em que a planta é posta em contacto com água isenta de metal, a eliminação de zinco pelos musgos atingiu valores bastante elevados entre 78 e 87%, podendo considerar-se um valor médio de 84%. Isto significa que a concentração de zinco residual no fim do período de descontaminação é proporcional ao máximo atingido na fase de contaminação. Uma explicação para este facto poderá estar nas elevadas concentrações de Zn utilizadas neste trabalho, que terão provocado uma deterioração fisiológica profunda nas plantas.

Na presente investigação com *Fontinalis antipyretica* as concentrações de zinco previstas pelo modelo e as observadas nas experiências não foram significativamente diferentes, podendo concluir-se que o modelo cinético de 1ª ordem empregue se ajusta à acumulação e eliminação do zinco pela *Fontinalis antipyretica*, permitindo o cálculo das constantes cinéticas e concentrações de equilíbrio.

Bibliografia

- Belfort, G., 1987, "Membrane Separation Technology: An overview in Advanced Biochemical Engineering", Eds. H.R. Bungay and G. Belfort, Wiley, New York, 239-297.
- Brown, D.H. and Beckett, R.P., 1985, "Intracellular and extracellular uptake of cadmium by the moss *Rhytidiadelphus squarrosus*", *Annals of Bot.*, **55**, 179-188.

- Foulquier, L. and Hébrard, J.P., 1976, "Étude expérimentale de la fixation et de la décontamination du sodium ²² par une mousse dulcaciquole *Platyhypnydium riparioides* (Hedw.) Dix.", *Oecologia Plantarum*, **11**, 3, 267-276.
- Glime, J.M. and Keen, R.E., 1984, "The importance of bryophytes in a man-centered world", *J. Hattori Bot. Lab.*, **55**, 133-146.
- Gonçalves, E.P.R., Boaventura, R.A.R. and Mouvet, C., 1992, "Sediments and aquatic mosses as pollution indicators for heavy metals in the Ave river basin (Portugal). *Sci. Total Envir.*, **114**, 7-24.
- Gonçalves, E.P.R., Boaventura, R.A.R., 1997, "Uptake and release kinetics of copper by the aquatic moss *Fontinalis antipyretica*", *Water Res.*(accepted).
- Gonçalves, E.P.R., Soares, H.M.V.M., Boaventura, R.A.R., Machado, A.A.S.C. and Silva, J.C.G.E., 1994, "Seasonal variations of heavy metals in sediments and aquatic mosses from the Cávado river basin (Portugal). *Sci. Total Envir.*, **142**, 143-156.
- Jain, S.K., Vasudevan, P. and Jha, N.K., 1989, "Removal of some heavy metals from polluted water by aquatic plants: Studies on Duckweed and water Velvet", *Biol. Wastes*, **28**, 115-126.
- Kelly, M.G., Girton, C. and Whitton, B.A., 1987, "Use of moss-bags for monitoring heavy metals in rivers", *Water Res.*, **21**, 11, 1429-1435.
- Lee, K.H., Evans, D.F. and Eussler, E.L., 1978, "Selection copper recovery with two types of liquid membranes", *AIChE*, **24** (5), 860-868.
- Mersch, J. and Johansson, L., 1993, "Transplanted aquatic mosses and freshwater mussels to investigate the trace metal contamination in the rivers Meur the and Plaine, France", *Envir. Technol.*, **14**, 1027-1036.
- Mersch, J. and Kass, M., 1994, "La mousse aquatique *Fontinalis antipyretica* comme traceur da la contamination radioactive de la Moselle en aval da la Centrale nucléaire de Cattenom", *Bull. Soc. Nat. Luxemb.*, **95**, 109-117.
- Mouvet, C., 1984, "Accumulation of chromium and copper by the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex. Hedw. transplanted in a metal-contaminated river", *Envir. Technol. Letters*, **5**, 541-548.
- Mouvet, C., 1985, "The use of aquatic bryophytes to monitor heavy metal pollution of freshwaters as illustrated by case studies", *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **22**, 2420-2425.
- Philips, D.J.H., 1980, "The preliminary selection of an indicator organism". In: *Quantitative Aquatic Biological Indicators*, pp. 16-17. Applied Science Publishers Ltd., London.
- Pickering, D.C. and Puia, I.L., 1969, "Mechanism for the uptake of zinc by *Fontinalis antipyretica*", *Physiol.*, **22**, 653-661.

CHEMPOR 98

Reddy, K.R. and De Busk, W.F., 1985, "Nutrient removal potential of selected aquatic macrophytes", *J. Envir. Qual.*, **14**, 459-462.

Say, P.J., Harding, J.P.C. and Whitton, B.A., 1981, "Aquatic mosses as monitors of heavy metal contamination in the River Etherow, Great Britain", *Envir. Pollut. Ser. B.*, **2**, 295-307.

Srivastav, R.K., Gupta, S.K., Nigam, K.D.P. and Vasudevan, P., 1994, "Treatment of chromium and nickel in wastewater by using aquatic plants", *Water Res.*, **28**, 1631-1638.

Walker, C.H., 1990, "Kinetic models to predict bioaccumulation of pollutants", *Funct. Ecol.*, **4**, 295-301.

Wehr, J.D. and Whitton, B.A., 1983, "Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 2. *Rhynchostegium riparioides*", *Hydrobiologia*, **100**, 261-284.

Wehr, J.D., 1983, "Accumulation of heavy metals by aquatic bryophytes in streams and rivers in Northern England", Ph.D. Thesis, University of Durham, 432 pp.

Whitehead, N.E. and Brooks, R.R., 1969, "Aquatic bryophytes as indicators of uranium mineralisation", *Bryologist*, **72**, 501-507.

Whitton, B.A., Say, P.P. and Wehr, J.D., 1981, "Use of plants to monitor heavy metals in rivers; Heavy metals in Northern England". Environmental and Biological Aspects, Eds. P.J. and B.A. Whitton. Univ. of Durham, England.

Xu, Q. and Pascoe, D., 1993, "The bioconcentration of zinc by *Gammarus pulex* (L.) and the application of a kinetic model to determine bioconcentration factors", *Water Res.*, **27**, 11, 1683-1688.