

EFEITO DA DUREZA DA ÁGUA NA FIXAÇÃO E LIBERTAÇÃO DO ZINCO PELA *Fontinalis antipyretica*

R.J.E. MARTINS e R.A.R. BOAVENTURA

LSRE-Laboratory of Separation and Reaction Engineering; FEUP; 4050-123 Porto

RESUMO

Foi estudada a influência da dureza da água sobre a cinética de contaminação/descontaminação por zinco do musgo aquático *Fontinalis antipyretica* L. *Ex Hedw.* Durante um período de contaminação de 144 h, as plantas foram expostas a concentrações de metal de 3,40, 4,85 e 3,49 mg l⁻¹, em água com dureza de 104, 142 e 150 mg CaCO₃ l⁻¹, respectivamente. Seguiu-se uma fase de descontaminação também de 144 horas, em que as plantas contactaram com água isenta de metal. As experiências foram conduzidas em tanques perfeitamente agitados com intensidade de iluminação controlada, sendo usados musgos com concentrações iniciais de Zn de 139,55 (Tanques I e II) e 96,75 (Tanque III) µg g⁻¹ (peso seco). Foi usado um modelo cinético de transferência de massa de 1^a ordem no ajuste dos dados experimentais por forma a determinar as constantes de acumulação e eliminação, k₁ e k₂, a concentração de Zn no musgo no final do período de contaminação, C_{mu} e as concentrações de equilíbrio na contaminação e descontaminação, C_{me} e C_{mr} respectivamente. Definiu-se um factor de bioconcentração, BCF (razão da concentração de Zn no musgo, em peso seco, pela concentração de Zn na água), obtendo-se valores de 1435, 1220 e 1352, para as experiências I a III. Foi ainda calculado um factor de eliminação do Zn, BEF (razão entre a concentração de metal eliminado do musgo na fase de descontaminação e a concentração final na fase de contaminação), registando-se valores de 0,78, 0,83 e 0,66, respectivamente.

PALAVRAS CHAVE: bioacumulação, dureza, *Fontinalis*, musgo aquático, zinco.

INTRODUÇÃO

As plantas aquáticas, com destaque para as briófitas, têm demonstrado ser um dos mais aptos bioindicadores no ecossistema aquático. Phillips, 1980, constatou que as briófitas cumprem todos os critérios de bom indicador: fácil colheita, tolerância a elevadas concentrações de metal, fácil manipulação em laboratório, acumulação de quantidade de metal suficiente para uma análise sem pré-concentração e exibem correlação simples entre a concentração de metal acumulado e a concentração no meio circundante.

As briófitas aquáticas possuem uma considerável capacidade de assimilação de nutrientes, metais pesados e compostos orgânicos tóxicos, que se traduz na obtenção de concentrações no seu interior várias vezes superior à registada no meio envolvente (Gonçalves *et al.*, 1994; Martins e Boaventura, 1998), devido à grande capacidade de

troca de catiões dos seus tecidos, ausência de cutícula protectora e grande razão superfície/peso. Funcionam, simultaneamente, como um método de monitorização da qualidade da água com custo reduzido (Glime and Keen, 1984). Dadas as características evidenciadas, fisiológicas e morfológicas, e a sua enorme distribuição geográfica, existindo na generalidade dos países europeus (Whitton *et al.*, 1981) tem-se registado um evidente sucesso na utilização como bioindicadores da contaminação por metais pesados, quer de ecossistemas terrestres (Markert *et al.*, 1996), quer de ecossistemas aquáticos (Siebert *et al.*, 1996), sendo, neste caso, possível quantificar a qualidade no meio hídrico (Tyler, 1990). Em particular nos sistemas aquáticos, a capacidade de acumulação permite que para longos períodos de tempo haja uma integração de eventuais flutuações da concentração de metal presente na água (Whitehead e Brooks, 1969), possibilitando deste modo uma informação que não pode ser obtida medindo a qualidade da água em diferentes locais e instantes de tempo.

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

Para os resultados da biomonitorização efectuada poderem ser interpretados de uma forma correcta e eficiente, foram realizados vários estudos de modo a estabelecer uma cinética da acumulação e libertação de metais pesados, em laboratório (Martins e Boaventura, 1998), ou no meio natural utilizando briófitas autóctones e/ou transplantes (Mersch e Kass, 1994).

A cinética depende de factores intrínsecos à própria planta (morfológicos e fisiológicos) e de vários factores ambientais, como temperatura, intensidade e período de iluminação, 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 com metal (Martins e Boaventura, 1998).

Experiências realizadas num sistema simplificado, em que é possível fazer variar isoladamente um só parâmetro ou um conjunto pré-definido, permitem um conhecimento mais detalhado da sua influência específica como factor ambiental, o que torna mais fácil o estabelecimento de modelos cinéticos. Resultados de experiências em sistemas descontínuos sugerem que dois (Foulquier *et al.*, 1976) ou três estágios (Pickering e Puia, 1969) são identificáveis 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 as concentrações de metal, em equilíbrio, na planta e na água, 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 (Gonçalves e Boaventura, 1998; Martins e Boaventura, 1998).

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 (Gonçalves e Boaventura, 1998) e zinco (Martins e Boaventura, 1998) pela briófita aquática *Fontinalis antipyretica*. Gonçalves e Boaventura, 1998, definiram um novo factor relacionado com a eliminação de metal pela planta, Factor de Eliminação Biológica (BEF).

MATERIAIS E MÉTODOS

Plantas aquáticas

As experiências foram realizadas com a briófita aquática *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw., colhida no Rio Selho, localidade de Aldão, na bacia hidrográfica do Rio Ave. 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 areias, sedimentos acumulados e invertebrados fixados 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 em 3 de Novembro de 1998.

Descrição experimental

A instalação experimental pode ser observada na Figura 1. Consta de três tanques rectangulares em acrílico, perfeitamente agitados e em funcionamento contínuo. A recirculação da água por meio de uma bomba centrífuga (C) promove a agitação e homogeneização, o que foi comprovado pela análise da distribuição dos tempos de residência usando a técnica dos marcadores (KCl).

Cada tanque é alimentado a partir de um reservatório (R₁) com água previamente desclorada em coluna de carvão activado (F), usando uma bomba peristáltica (P). A cada uma das correntes, antes da entrada nos tanques, é adicionada a solução de cloreto de zinco utilizando uma bomba multi-canal. As concentrações de zinco nos tanques variaram entre 3,4 e 4,9 mg l⁻¹. Às soluções concentradas de cloreto de zinco (3 reservatórios) foram adicionadas diferentes quantidades de cloreto de cálcio em palhetas por forma a ter diferentes valores de dureza total na água dos tanques. O caudal de alimentação foi próximo de 600 ml min⁻¹ e manteve-se um nível constante nos tanques. As experiências decorreram à temperatura ambiente, 15-17° C.

A iluminação natural foi simulada recorrendo ao uso de duas lâmpadas, uma de luz branca de 40W e outra rosa de 36W, que se mantiveram ligadas no decurso da experiência, 24 horas por dia. 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

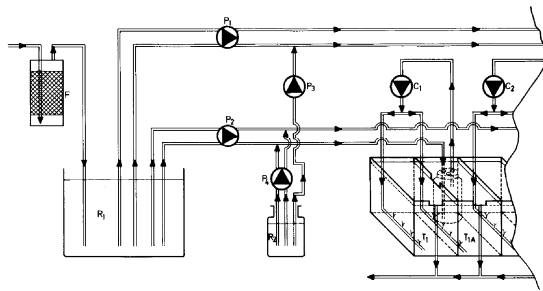


Fig. 1 - Instalação experimental

experiências decorreram em dois períodos, um de contaminação de 144 horas seguido de descontaminação com igual duração, sendo retiradas amostras de musgos e de água de cada um dos tanques, a intervalos de tempo previamente definidos.

Digestão das amostras e análise dos metais pesados

As amostras foram lavadas com água destilada e secas na estufa a 70°C durante aproximadamente 24 horas. Num moinho de anéis aço-crômio (RETSCH S1) procedeu-se à sua moagem durante 90 segundos a 1400 rpm. As amostras de musgo foram analisadas em duplicado. Na digestão ácida (Martins e Boaventura, 1998) usou-se uma caixa de teflon de 23 ml previamente lavada com ácido nítrico a 10%, para onde 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 que se colocou num forno de microondas, a uma potência de 600 Watts durante 60 segundos. Após a digestão deixou-se arrefecer durante 2 horas, sendo a solução transferida para um balão e diluída a 25 ml com água destilada e desionizada, filtrada por membrana de 0,45 μm 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). O método para a digestão e determinação analítica foi validado por aplicação ao material de referência BCR 61 (*Platihypnidium riparioides*, aquatic moss). As amostras de água foram filtradas e doseado o zinco de forma idêntica à dos musgos, sendo a concentração expressa em $mg l^{-1}$.

MODELO CINÉTICO

Para um sistema de dois compartimentos (água|planta), em que existam concentrações residuais de metal ($t=0$; $C_m = C_{m0}$), o movimento de iões metálicos de e para o musgo aquático é descrito com razoabilidade por um modelo de transferência de massa de 1ª ordem (Walker, 1990; Gonçalves e Boaventura, 1998; Martins e Boaventura, 1998):



onde

C_w = concentração de metal na água, mg l^{-1} k_1 = constante cinética de acumulação, h^{-1}
 C_m = concentração de metal no musgo, $\mu\text{g g}^{-1}$ k_2 = constante cinética de eliminação, h^{-1}
 C_{m0} = concentração inicial de metal no musgo, $\mu\text{g g}^{-1}$

A variação da concentração de metal no musgo com o tempo, durante os períodos de acumulação e descontaminação, é descrita pelas equações diferenciais (2) e (3) respectivamente:

$$\frac{dC_m}{dt} = k_1 C_w - k_2 (C_m - C_{m0}); \quad \frac{dC_m}{dt} = -k_2 (C_m - C_{mr}) \quad (\text{Eqs.2 e 3})$$

Com as condições iniciais $t = 0$, $C_m = C_{m0}$, e $C_w = \text{constante}$, a solução da equação 2 para a fase de acumulação vem:

$$C_m = C_{m0} + \frac{k_1}{k_2} C_w (1 - e^{-k_2 t}) \quad (\text{Eq.4})$$

Em estado estacionário a bioacumulação pode ser representada por um factor de bioconcentração (BCF) (Walker, 1990):

$$BCF = \frac{C_{me} - C_{m0}}{C_w} = \frac{k_1}{k_2} \quad (\text{Eq.5})$$

em que $C_{me} = C_m$ para $t \rightarrow \infty$.

Na eq.4, substituindo t por t_d , obtemos a concentração de metal no fim do período de contaminação (C_{mu}):

$$C_{mu} = C_{m0} + \frac{k_1}{k_2} C_w (1 - e^{-k_2 t_d}) \quad (\text{Eq.6})$$

em que t_d representa o tempo (em horas) ao fim do qual termina a fase de acumulação.

Para a condição inicial: $t = t_d$; $C_m = C_{mu}$, da integração da equação 3 resulta:

$$C_m = C_{mr} + (C_{mu} - C_{mr}) * e^{-k_2(t-t_d)} \quad (\text{Eq.7})$$

em que $C_{mr} = C_m$ para $t = \infty$.

Pode definir-se um factor de eliminação biológica, BEF, para o período de descontaminação:

$$BEF = \frac{C_{mu} - C_{mr}}{C_{mu}} = 1 - \frac{C_{mr}}{C_{mu}} \quad (\text{Eq.8})$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros da qualidade da água da rede pública permaneceram relativamente constantes durante o trabalho experimental. As concentrações de zinco (Figura 2) e a dureza da água (Tabela 1) nos tanques variaram, embora numa gama muito pequena.

As concentrações de zinco no material usado (139,5 e 96,75 $\mu\text{g g}^{-1}$) correspondem inteiramente às concentrações naturais determinadas para musgos aquáticos provenientes de locais não poluídos (Gonçalves *et al.*, 1994).

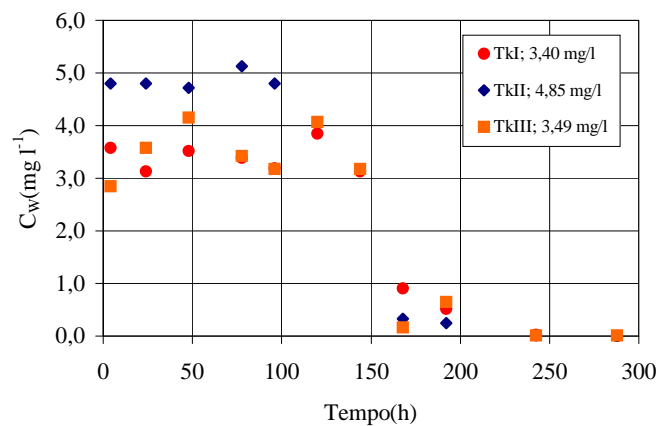


Fig. 2 - Variação da concentração de zinco nos tanques durante o período experimental.

TABELA 1
Evolução da dureza da água ao longo da experiência

	Dureza da água (mg CaCO ₃ l ⁻¹)		
	TkI	TkII	TkIII
	Contaminação		
Mínimo	94,5	118,8	98,7
Máximo	112,9	159,5	162,7
Valor médio	104	142	150
	Descontaminação		
Mínimo	103,5	90,6	84,4
Máximo	108,8	100,3	90,0
Valor médio	106,2	95,5	87,2

A concentração de zinco na *F. antipyretica* ($\mu\text{g Zn}$ por grama de planta seca) durante as fases de acumulação e eliminação encontra-se representada na Figura 3. Utilizou-se um programa de minimização da soma dos quadrados de m equações não-lineares a n variáveis, baseado no algoritmo de diferenças finitas Levenberg-Marquardt, para ajustar os dados experimentais ao modelo cinético descrito nas equações (4) e (7), tendo sido determinadas as constantes cinéticas de acumulação (k_1) e eliminação (k_2) e a concentração residual de metal (C_{mr}). As concentrações de metal no equilíbrio (C_{me}) e no fim do período de contaminação (C_{mu}) foram calculadas pelas equações (4) e (7), respectivamente (Tabela 2). As curvas de bioconcentração e eliminação de metal nos musgos, calculadas com os parâmetros do modelo, para as três concentrações de zinco e de dureza total são apresentadas na Fig. 3.

TABELA 2
Constantes cinéticas e concentrações de equilíbrio para os períodos de contaminação e descontaminação

C_w (mg l ⁻¹)	C_{m0} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Dureza (mg CaCO ₃ l ⁻¹)	k_1 (h ⁻¹)	k_2 (h ⁻¹)	C_{me} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	C_{mr} ($\mu\text{g g}^{-1}$)
3,40	139,55	104	61	0,042	5013	1110
4,85	139,55	142	96	0,079	6060	1057
3,49	96,75	150	139	0,103	4815	1648

A constante cinética de acumulação ao variar de 139 para 96 h⁻¹, para dureza semelhante mas concentrações crescentes de zinco na água (3,49 e 4,85 mg l⁻¹, respectivamente) vem confirmar estudos anteriores (Martins e Boaventura, 1998), em

que é evidenciado o efeito tóxico do metal na planta diminuindo a sua capacidade de acumulação nas células. A concentrações de cálcio maiores correspondem valores crescentes de k_1 , sendo necessários intervalos de tempo menores para se atingir as condições de equilíbrio, o que em alguns casos se traduz em períodos inferiores a 24 horas. De forma similar, os maiores valores de k_2 (obtidos nos ensaios em que as plantas estiveram expostas a água com maior dureza na fase de contaminação) implicam que o equilíbrio no período de descontaminação se atinge mais rapidamente. Uma explicação plausível poderá residir na competição do cálcio com o zinco, ficando uma maior fracção deste metal acumulada no espaço livre de Donnan da membrana celular (zona mais periférica), em prejuízo de uma acumulação, bem mais interna, quer no protoplasto quer nos vacúolos das células.

Da comparação dos valores previstos pelo modelo para a concentração de zinco no equilíbrio e dos dados experimentais no fim da fase de acumulação ($t = 144$ h), podemos concluir que para a gama de concentrações de zinco usada, a duração de 144 h para o período de acumulação foi uma escolha acertada, confirmando idêntica conclusão em estudo anterior (Martins e Boaventura, 1998). De salientar também, que a adopção de 144 horas para a fase de descontaminação, comparativamente com 120 horas no estudo anterior, proporcionou para a concentração de metal residual uma grande semelhança entre valores teóricos e observados.

Os factores de bioacumulação (BCF) e eliminação biológica (BEF), calculados de acordo com as equações (5) e (8), são apresentados na tabela 3. No período de contaminação verifica-se que, para concentrações similares de Zn na água, a adsorção competitiva entre os iões de Zn e Ca conduz a uma diminuição de BCF para valores crescentes de dureza. Para água de consumo doméstico (dureza ≈ 104 mg CaCO_3 l^{-1}) os musgos conseguiram acumular 1435 vezes mais zinco (em peso seco) que a sua concentração no meio. Quando a dureza da água é idêntica, dado o efeito tóxico do metal sobre o musgo ser maior para concentrações mais elevadas de Zn, temos como consequência um decréscimo de BCF.

A fase de eliminação começou quando as plantas foram expostas a água isenta de metal. Para concentrações de Zn próximas de $5,0$ mg l^{-1} , em que o efeito tóxico é considerável, os musgos apresentaram um valor para BEF bastante elevado, 0,83 (Tabela 3). Confirma-se assim, que o valor de BEF está na dependência directa do nível máximo de Zn atingido no final do período de acumulação. Uma razoável explicação para o caso pode residir na deterioração fisiológica que a planta sofre quando sujeita a níveis de metal altamente tóxicos. Estes resultados ($C_w = 3,40$ mg l^{-1} ; dureza da água = 104 mg CaCO_3 l^{-1} ; BEF = 0,78) estão de acordo com os registados para a mesma espécie de musgos (embora em condições fisiológicas provavelmente diferentes, devido à época de colheita) e concentrações de zinco idênticas (Martins e Boaventura, 1998).

Para concentrações de cálcio crescentes, pelo motivo já referido da competitividade entre iões de Ca e Zn, obtiveram-se valores decrescentes para o factor de eliminação biológica.

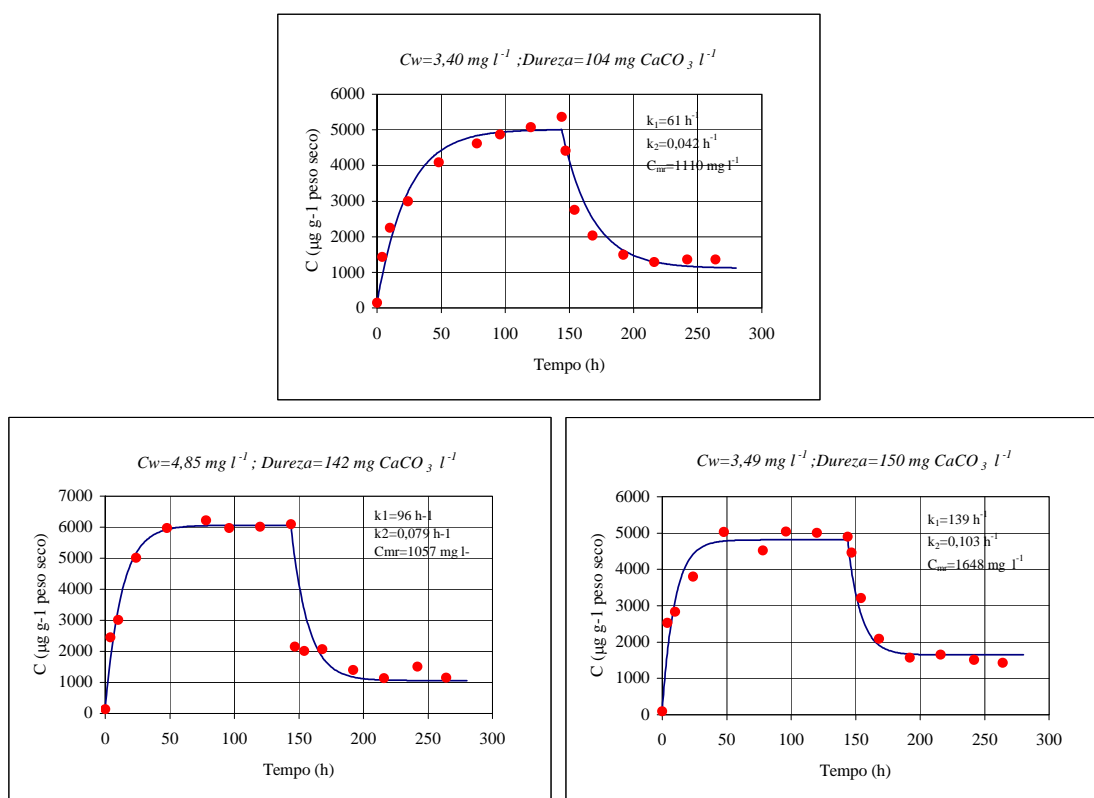


Fig. 3 – Efeito da dureza total da água sobre a acumulação e eliminação biológica de zinco pela *F. antipyretica* – resultados experimentais (●) e modelo teórico (—).

TABELA 3

Factores de bioconcentração (BCF) e de eliminação biológica (BEF) para os diferentes valores da dureza total da água

C_w (mg l ⁻¹)	Dureza da água (mg CaCO ₃ l ⁻¹)	BCF	BEF
3,40	104	1435	0,78
4,85	142	1220	0,83
3,49	150	1352	0,66

CONCLUSÕES

Para concentrações de Zn entre 3,40 e 4,85 mg l⁻¹, e dureza total da água entre 104 e 150 mg CaCO₃ l⁻¹, a *Fontinalis antipyretica* acumulou metal obtendo-se, ao fim de 144 horas, concentrações (peso seco) entre 1220 e 1435 vezes superiores às da água.

A razão de acumulação do metal, para idêntica dureza, diminuiu quando a concentração de Zn na água aumenta, sugerindo um efeito tóxico nos musgos.

Confirmaram-se estudos anteriores quanto à adsorção competitiva entre os íons de zinco e cálcio. Para concentrações de Zn semelhantes regista-se uma diminuição da bioacumulação para valores crescentes da dureza total da água.

Os valores do Factor de Eliminação Biológica foram elevados, 0,66 a 0,83, dependendo do nível máximo de metal no fim do período de acumulação.

Um modelo de transferência de massa de primeira ordem descreve adequadamente as fases de acumulação e libertação do zinco, permitindo calcular as constantes cinéticas e as concentrações de equilíbrio.

REFERÊNCIAS

- Foulquier, L. and Hébrard, J.P. 1976. Étude expérimentale de la fixation et de la décontamination du sodium 22 par une mousse dulcaciquole *Platyhypnidium 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. 1998. Uptake and release kinetics of copper by the aquatic moss *Fontinalis antipyretica*. *Water Res.* **32**, 1305-1313.
- 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.
- Markert, B., Herpin, U., Siewers, U., Berlekamp, J. and Lieth, H. 1996. The German heavy metal survey by means of mosses. *The Science of the Total Environment* **182**, 159-168.
- Martins, R.E. and Boaventura, R.R. 1998. Uptake and Release of Zn by Aquatic Mosses (*Fontinalis Antipyretica* L. ex Hedw.): Proceedings of 7th International Conference of Chemical Engineering-CHEMPOR'98, 24-26 of September of 1998, IST, Lisboa.
- Mersch, J. and Kass, M. 1994. La mousse aquatique *Fontinalis antipyretica* comme traceur de la contamination radioactive de la Moselle en aval de la Centrale nucléaire de Cattenom. *Bull. Soc. Nat. Luxemb.* **95**, 109-117.
- Philips, D.J.H. 1980. The preliminary selection of an indicator organism. In: Quantitative Aquatic Biological Indicators. Applied Science Publishers Ltd., London. 16-17 pp.
- Pickering, D.C. and Puia, I.L. 1969. Mechanism for the uptake of zinc by *Fontinalis antipyretica*. *Physiol.* **22**, 653-661.
- Siebert, A., Bruns, I., Krauss, G.-J., Miersch, J. and Markert, B. 1996. The use of the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. as bioindicator for heavy metals. 1. Fundamental investigations into heavy accumulation in *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. *The Science of the Total Environment* **177**, 137-144.
- 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.
- Steinnes, E. 1993. Some aspects of biomonitoring of air pollutants using mosses, as illustrated by the 1976 Norwegian survey. In: Markert, B., editor, "Plants as biomonitors-indicators for heavy metals in the terrestrial environment", Weinheim, New York, Cambridge, Basel: VCH Verlagsgesellschaft, 381-394.
- Tyler, G. 1990. Bryophytes and heavy metals. A literature review. *Bot. J. Linn. Soc.* **104**, 231-253.
- Walker, C.H. 1990. Kinetic models to predict bioaccumulation of pollutants. *Funct. Ecol.* **4**, 295-301.
- 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.