

ANÁLISE DE LIQUENS PARA USO NA BIOMONITORAÇÃO DA POLUIÇÃO AMBIENTAL

Lídia K. Horimoto*, Mitiko Saiki*, Marina B. A. Vasconcellos* e Marcello P. Marcelli**

*IPEN-CNEN/SP, Supervisão de Radioquímica
Caixa Postal 11049, CEP 05422-970, São Paulo- SP

**Instituto de Botânica, Seção de Micologia e Liquenologia
Caixa Postal 4005, CEP 01061-970, São Paulo - SP

RESUMO

Apresentam-se neste trabalho, os resultados da análise por ativação com nêutrons de Al, As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cs, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb, Se, Th, V e Zn obtidos em amostras de líquens epifíticos provenientes de diferentes pontos dos Estados de São Paulo e Paraná. As amostras foram coletadas das regiões, a saber: Cidade Universitária, Campo Limpo Paulista, São Bernardo do Campo e Itanhaém do Estado de São Paulo e uma amostra de Ponta Grossa, Estado do Paraná. O objetivo destas análises foi obter informações preliminares da qualidade do ar dessas regiões de líquens para posterior seleção de uma região de interesse sob o ponto de vista da biomonitoração da poluição ambiental.

I. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, as análises de elemento traço em líquens tem sido de grande interesse nos estudos sobre a monitoração da poluição ambiental. A absorção de diversos poluentes, incluindo os metais pesados, pelos líquens é hoje altamente reconhecida, e eles são considerados monitores biológicos da qualidade do ar.

Entre as vantagens da análise de líquens como biomonitores, em vez de análises diretas dos poluentes presentes em diversos materiais do ambiente como água ou ar, estão a facilidade da coleta das amostras e sua vasta distribuição geográfica que permite a comparação de concentrações de metais de diversas regiões para um mapeamento confiável de uma ampla área. Há ainda a possibilidade de realizar o transplante de biomonitores como o líquen de uma região limpa para uma região com altas concentrações de poluentes.

Convém ainda salientar que, principalmente, nos países da Europa, trabalhos sobre análises de líquens vem sendo amplamente divulgados para avaliação de elementos tóxicos e identificação de fontes poluidoras[1-4]. Entretanto no Brasil dados sobre análises de líquens para uso na monitoração ambiental são escassos apesar da ocorrência de um grande número de espécies.

No trabalho anterior, Saiki e colaboradores[5] estabeleceram as condições experimentais apropriadas para análise de líquens pelo método de análise por ativação com nêutrons. Dando continuidade a este trabalho, foram analisadas amostras de líquens coletadas em diferentes

pontos das regiões dos Estados de São Paulo e Paraná com o objetivo de realizar uma avaliação preliminar da qualidade de ar destas regiões e também para selecionar uma região de interesse sob o ponto de vista da monitoração ambiental.

II. PARTE EXPERIMENTAL

Coleta e tratamento das amostras. As amostras de líquens foram coletadas de troncos de árvores a uma altura de cerca de 1,30 m do solo. Para facilitar a remoção dos líquens dos troncos, eles foram pré-umedecidos com água destilada e retirados com o auxílio de uma faca de titânio e guardados em embalagens de papel. As embalagens de plástico não são adequadas para guardar as amostras de líquens devido a sua umidade e formação de mofo. As amostras de líquens analisadas neste trabalho foram coletadas dos seguintes pontos:

- Ponto nº 1 - Campo Limpo Paulista, SP, localizado cerca de 100 km da cidade de São Paulo, próximo a uma estrada não pavimentada.
- Ponto nº 2 - Alto da Serra, Paranapiacaba, São Bernardo do Campo, SP, localizado numa região próxima ao topo da Serra do Mar, rodeada de floresta tropical.
- Ponto nº 3 - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN, SP, localizado na Cidade Universitária, na região urbana com tráfego de veículos.
- Ponto nº 4 - Vila Vellha, Ponta Grossa, no Estado do Paraná.

- Ponto n° 5 - próximo ao Rio Itanhaém, no Manguezal, do município de Itanhaém, SP.

Nos pontos de 1 a 3 foram coletadas amostras da espécie *Canoparmelia texana* e no ponto 4 foi coletada a amostra da espécie *Parmotrema cristiferum*.

Após uma secagem preliminar das amostras à temperatura ambiente, foi realizada a sua limpeza com o auxílio de uma pinça com suas pontas revestidas de teflon, e por meio de exame das amostras em um microscópio estereoscópio da marca OLYMPUS SZ40. Esta limpeza foi necessária para eliminar eventual substrato da casca da árvore que ficou aderido ao líquen. A lavagem dos líquens foi feita com água destilada num béquer e com o auxílio de um copo plástico com fundo constituído de tela de nylon, o líquen foi separado da água de lavagem. Em seguida as amostras foram guardadas em um freezer para posterior liofilização por cerca de 16 horas sob pressão de cerca de 4×10^{-2} mm Hg.

Os líquens secos foram então triturados manualmente na forma de pó, utilizando um almofariz de ágata, e guardados em frascos plásticos em um dessecador.

Procedimento para Análise por Ativação. Cerca de 150 mg da amostra pesados em invólucros de polietileno foram submetidos a irradiação com nêutrons térmicos do reator de pesquisa IEA-R1m juntamente com os padrões sintéticos dos elementos a serem analisados. Estes padrões sintéticos foram preparados pipetando alíquotas das soluções padrões simples ou multielementares sobre tiras de papel de filtro os quais foram deixados no dessecador para a secagem. A massa dos elementos nestes padrões variou de 1 a 1000 µg.

Foram realizadas duas séries de irradiações:

- curtas: por um período de 5 minutos sob um fluxo de nêutrons térmicos de $4,5 \times 10^{11} \text{ n.cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, para determinação dos elementos Al, Br, Cl, Mg, Mn, Na e V.

- longas: por um período de 16 horas sob um fluxo de nêutrons térmicos de $10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, para determinação dos seguintes elementos: As, Br, Ca, Cd, Co, Cs, Fe, Hf, K, Na, Rb, Se, Th e Zn.

Após adequados tempos de decaimento as amostras e os padrões irradiados foram medidos usando um detector Ge hiperpuro da marca Canberra modelo GX2020 acoplado a um Processador Integrado de Sinais Modelo 1510 e a placa analisadora multicanal sistema S100 ambos da marca Canberra, instalados num microcomputador. A resolução do sistema utilizado foi de 0,87 keV para o fotopico de 121,97 keV do ^{57}Co e de 1,87 keV para o fotopico de 1332,49 keV do ^{60}Co . Para a aquisição dos dados espectrais foi utilizado o programa S100 da Canberra e a análise dos espectros gama foi efetuada utilizando o programa VERSAO2 (uma nova versão do programa VISPECT desenvolvido na Divisão), que nos fornece as energias dos raios gama e as taxas de contagens. Os radioisótopos foram identificados pelas energias dos raios gama e pela meia vida. As concentrações dos elementos foram calculadas pelo método comparativo de análise por ativação.

Para examinar a exatidão e a precisão dos resultados obtidos, foram analisados os materiais certificados de referência IAEA 336 Lichen da Agência Internacional de Energia Atômica, Áustria e NIST 1547 Peach Leaves do

National Institute of Standards and Technology, USA, utilizando as mesmas condições experimentais aplicadas na análise de líquens.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na TABELA 1 estão os resultados obtidos na análise do material de referência IAEA 336 Lichen, juntamente com os valores certificados para comparação. Verificou-se que os resultados obtidos estão dentro das faixas apresentadas no certificado, o que indica uma boa exatidão. Também os dados obtidos indicam uma boa precisão com desvios padrões relativos inferiores a 9,4 % para a maioria dos elementos.

TABELA 1 Análise do Material de Referência IAEA 336 Lichen

Elemento	Média ± s	Sr, %	Er, %	Ref. [6]
Al, µg/g	746 ± 56	7,5		680(570-790) ¹
As µg/g	0,65 ± 0,03	4,5	2,4	0,63(0,55-0,71)
Br, µg/g	12,4 ± 1,0	8,1	3,9	12,9(11,2-14,6)
Ca, %	0,23 ± 0,02	9,0		
Cl, µg/g	1940 ± 146	7,5		1900(1600-2200) ¹
Co, µg/g	0,270 ± 0,013	4,8	8,1	0,29(0,24-0,34)
Cs, µg/g	0,108 ± 0,008	7,4	1,8	0,110(0,097-0,123)
Fe, µg/g	425 ± 23	5,3	1,3	430(380-480)
Hf, ng/g	65 ± 6	9,4		
K, µg/g	1919 ± 103	5,4	4,3	1840(1640-2040)
Mg, µg/g	766 ± 52	6,8		
Mn, µg/g	62,1 ± 4,7	7,6	1,4	63(56-70)
Na, µg/g	334 ± 22	6,4	4,3	320(280-360)
Rb, µg/g	1,70 ± 0,08	4,7		1,76(1,54-1,98) ¹
Se, ng/g	0,23 ± 0,02	8,7	4,5	0,22(0,18-0,26)
Th, ng/g	156,2 ± 3,5	2,2		
V, µg/g	1,53 ± 0,14	8,9		
Zn, µg/g	31,3 ± 0,8	2,6		30,4(27,0-33,8)

1 - dados informativos

A TABELA 2 apresenta os resultados da análise do material de referência NIST 1547 Peach Leaves e verifica que há uma boa concordância dos resultados obtidos com os valores certificados, com exceção do resultado obtido para Se. Os desvios padrões relativos obtidos nestas análises foram inferiores a 16,2 %. Resultados menos precisos foram obtidos para Na, Se e V devido as suas baixas concentrações na amostra.

Na TABELA 3 estão os resultados obtidos de quatro amostras de líquens da espécie *Canoparmelia texana* coletados em diferentes regiões de São Paulo e de uma região do Paraná e uma da espécie *Parmotrema cristiferum* coletado em Itanhaém, SP.

AGRADECIMENTOS

TABELA 2 Análise do Material de Referência NIST 1547
Peach Leaves

À FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Elemento	Média ± s	Sr, %	Er, %	Ref. [7]
Al, µg/g	277 ± 24	8,5	11,7	248 ± 8
Br, µg/g	11,7 ± 1,0	8,5		(11) ¹
Ca, %	1,60 ± 0,044	2,8	2,6	1,56 ± 0,02
Cl, µg/g	357 ± 20	5,6	0,8	360 ± 19
Co, ng/g	72,8 ± 5,7	7,8		(70) ¹
Cs, µg/g	75,6 ± 3,6	4,8		
Fe, µg/g	217,5 ± 5,5	2,5	0,2	218 ± 14
Hf, ng/g	89,3 ± 6,7	7,5		
K, %	2,35 ± 0,19	8,2	3,1	2,43 ± 0,03
Mg, %	0,46 ± 0,03	6,0	7,0	0,432 ± 0,008
Mn, µg/g	100,8 ± 3,0	3,0	2,9	98 ± 3
Na, µg/g	25,1 ± 3,7	14,7	4,6	24 ± 2
Rb, µg/g	19,4 ± 0,7	3,6	1,6	19,7 ± 1,2
Se, ng/g	165 ± 24	14,5	37,5	120 ± 9
Th, ng/g	57,3 ± 5,1	8,9		(50) ¹
V, µg/g	0,37 ± 0,06	16,2	0	0,37 ± 0,03
Zn, µg/g	17,6 ± 1,4	8,0	1,7	17,9 ± 0,4

1 - dados informativos

Os resultados obtidos indicam concentração de Ca nos líquens da ordem de porcentagens. Para os elementos Al, Br, Cl, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb, V e Zn as concentrações encontradas foram da ordem de µg/g, enquanto que os elementos As, Cd, Co, Cs, Se e Th, as concentrações encontradas foram da ordem de ng/g.

Em uma análise preliminar comparativa dos resultados da TABELA 3 verifica-se que os líquens provenientes da região de Ponta Grossa - Paraná apresentaram as mais baixas concentrações para a maioria dos elementos analisados, com exceção de Mg e Ca. Isto indica que esta região poderá ser escolhida para um futuro programa de biomonitoração. No caso, as amostras desta região poderão ser utilizadas para a obtenção de valores normais de concentrações de elementos para *Canoparmelia texana*. Também a amostra proveniente de Paranapiacaba, apresentou as mais altas concentrações de Cl, Cs, Fe, Se e V devido, provavelmente, aos poluentes atmosféricos emitidos pelas indústrias os quais foram absorvidos pelos líquens. Também as amostras coletadas no IPEN apresentaram concentrações relativamente altas de Br, Cd, K e Zn devido provavelmente a poluição originária do tráfego de grande número de veículos.

REFERÊNCIAS

- [1] Nimis, P. L., Castello, M. and Perotti, M., **Lichens as Bioindicators of Heavy Metal Pollution: A Case Study at La Spezia (N Italy)**. In *Plants as Biomonitors*. Edited by B. Markert, New York, VCH, p 265-284, 1992.
- [2] Steinnes, E. and Krog, H., **Mercury, Arsenic and Selenium Fall-out from an Industrial Complex Studied by Means of Lichens Transplants**, *Oikos*, vol. 28, p 160-164, Copenhagen, 1977.
- [3] Monaci, F., Bargagli, R. and Gasparo, D., **Air Pollution Monitoring by Lichens in a Small Medieval Town of Central Italy**, *Acta Botanica Neerl*, vol. 46 n. 4, p 403-412, 1997.
- [4] Nash III, T. H., **Lichens as Indicators of Air Pollution**, *Naturwissenschaften*, vol. 63, p 364-367, 1976.
- [5] Saiki, M., Chaparro, C. G., Vasconcellos, M. B. A. and Marcelli, M. P., **Determination of Trace Elements in Lichen by Instrumental Neutron Activation Analysis**, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, vol. 217, p 111-115, 1997.
- [6] International Atomic Energy Agency, **Certificate of Analysis, Reference Material IAEA-336 Trace and Minor Elements in Lichen**, 1999.
- [7] National Institute of Standard & Technology, **Certificate of Analysis - Standard Reference Material 1547 Peach Leaves**, 1992.

ABSTRACT

This work presents the results of Al, As, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cs, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb, Se, Th, V and Zn obtained by instrumental neutron activation analysis in the analyses of epiphytic lichen samples collected in different sites of the States of São Paulo and Parana. These lichens were collected in the following sites: Cidade Universitária, Campo Limpo Paulista, São Bernardo do Campo and Itanhaen situated in the State of São Paulo and one sample was from Vila Velha, Ponta Grossa of Parana State. The purpose of these analyses were to obtain preliminary information of air quality of these regions and also select a region of interest for biomonitoring studies.

TABELA 3 Análises de Líquens Coletados em Diferentes Regiões

Elemento	Amostra de líquens dos locais				
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5
Al, µg/g	306 ± 9(*)	1164 ± 33	789 ± 24	734 ± 22	1548 ± 49
As ng/g	787 ± 9	708 ± 9	469 ± 11	343,0 ± 5,6	418 ± 58
Br, µg/g	5,68 ± 0,03	10,88 ± 0,08	22,94 ± 0,07	3,3 ± 0,01	11,6 ± 0,07
Ca, %	1,68 ± 0,03	4,79 ± 0,08	2,67 ± 0,02	5,81 ± 0,03	0,62 ± 0,01
Cd, ng/g	600 ± 15	139 ± 5	1626 ± 105	1140 ± 122	124 ± 7
Cl, µg/g	601 ± 24	712 ± 40	529 ± 21	549 ± 20	281 ± 9
Co, ng/g	585 ± 8	358 ± 6	239 ± 5	110 ± 2	255 ± 4
Cs, ng/g	276 ± 5	356 ± 7	155 ± 4	95 ± 3	168 ± 4
Fe, µg/g	1637 ± 7	4276 ± 19	540 ± 4	626 ± 4	1420 ± 8
K, µg/g	682 ± 249	1482 ± 15	2516 ± 87	96 ± 42	3218 ± 180
Mg, µg/g	122 ± 18	865 ± 96	781 ± 76	982 ± 68	973 ± 70
Mn, µg/g	114,6 ± 1,8	73,2 ± 1,3	138,2 ± 2,1	60,6 ± 1,0	28,8 ± 0,3
Na, µg/g	96,0 ± 7,1	118,4 ± 0,3	74,8 ± 7,0	20,6 ± 0,3	320,6 ± 6,2
Rb, µg/g	13,8 ± 0,2	9,1 ± 0,2	12,9 ± 0,2	1,1 ± 0,1	4,9 ± 0,1
Se, ng/g	278 ± 22	837 ± 29	141 ± 0,17	98 ± 15	411 ± 18
Th, ng/g	802 ± 4	412 ± 4	278 ± 2	133 ± 2	365 ± 2
V, µg/g	0,40 ± 0,03	3,9 ± 0,2	2,7 ± 0,2	1,9 ± 0,1	2,7 ± 0,2
Zn, µg/g	73,0 ± 0,3	71,6 ± 0,4	97,8 ± 0,4	31,9 ± 0,2	96,0 ± 0,3

(*) - As incertezas foram calculadas considerando erros nas contagens da amostra e padrão.

Ponto 1 - Campo Limpo Paulista - São Paulo, SP; Ponto 2 - Paranapiacaba - São Bernardo do Campo, SP; Ponto 3 - IPEN - Cidade Universitária, SP - saída da portaria geral; Ponto 4 - Vila Velha - Ponta Grossa - Paraná; Ponto 5 - Manguezal - Itanhaém - São Paulo, SP