

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS COM ÊNFASE EM BIOLOGIA
MARINHA E COSTEIRA

THERRÉSE TESSER TORRES

BRIÓFITAS APLICADAS À FITORREMEDIAÇÃO: avaliação na remoção de metais

IMBÉ

2018

THERRÉSE TESSER TORRES

BRIÓFITAS APLICADAS À FITORREMEDIAÇÃO: avaliação na remoção de metais

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira na Universidade Federal do Rio Grande do Sul em convênio com a Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Dra. Juçara Bordin

Coorientadora: Dra. Cacinele Mariana da Rocha

Supervisor Técnico: Quím. Alan Silva

IMBÉ

2018

Aos examinadores,

Este trabalho está formatado segundo “SILVA, L. N. *et al.* **Manual de Trabalhos Acadêmicos e Científicos: Orientações Práticas à Comunidade Universitária da UERGS.** Porto Alegre: UERGS, 2013. 149 p.” que é baseado nas normas ABNT.

Tesser, Therrése Torres
Briófitas aplicadas à fitorremediação: avaliação na
remoção de metais / Therrése Torres Tesser. -- 2018.
44 f.
Orientadora: Juçara Bordin.

Coorientadores: Cacinele Mariana da Rocha, Alan
Silva.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Biociências, Curso de Ciências Biológicas: Biologia
Marinha e Costeira, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Metais. 2. Qualidade de Águas. 3.
Fitorremediação. 4. Briófitas. I. Bordin, Juçara,
orient. II. da Rocha, Cacinele Mariana, coorient.
III. Silva, Alan, coorient. IV. Título.

THERRÉSE TESSER TORRES

BRIÓFITAS APLICADAS À FITORREMEDIAÇÃO: avaliação na remoção de metais

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira na Universidade Federal do Rio Grande do Sul em convênio com a Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Dra. Juçara Bordin

Coorientadora: Dra. Cacinele Mariana da Rocha

Supervisor Técnico: Quím. Alan Silva

Aprovada em: / /

BANCA EXAMINADORA

Dra. Tatiane Araújo de Jesus
Universidade Federal do ABC – UFABC

Dra. Alice Pita Barbosa
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Dr. João Fernando Prado
Coordenador da atividade
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

IMBÉ

2018

Dedico às mulheres cientistas, que sempre possam ter garra para ir atrás de seus objetivos e sonhos por mais difícil que seja a disputa por espaço neste meio.

AGRADECIMENTOS

Em um trabalho acadêmico esta não é uma parte fácil, principalmente pela necessidade de colocar em palavras um sentimento de gratidão imenso que é praticamente indescritível.

Seria impossível iniciar esta seção sem agradecer à Deus por sempre proteger e guiar todo o meu caminho até aqui.

Minhas orientadoras e orientador, Caci, Ju e Alan, se não fosse por eles nada deste sonho teria se concretizado. Me faltam palavras para agradecê-los por terem acreditado em mim desde o início de tudo, nas primeiras fases de idealização do projeto, em que mil ideias foram surgindo, até que conseguíssemos ajustar tudo para tornar o projeto o mais viável possível de ser executado em um TCC, considerando tempo, verba e todos os empecilhos que poderiam surgir, mas nada impediu que este trabalho fosse um sucesso, e algo muito maior do que nós quatro esperávamos! Não houve distância que dificultasse essa realização, considerando que no início de tudo a Caci estava nos Estados Unidos; a Ju em Caxias; eu em Imbé; e o Alan em Porto Alegre. Posteriormente, eu em São Paulo e vocês aqui no Rio Grande do Sul, mostrando que mesmo distantes conseguimos formar um grupo de pesquisa maravilhoso. Me sinto muito agradecida e feliz por ter tido a oportunidade de trabalhar ao lado de vocês, que muito mais do que orientadores, nos tornamos amigos e parceiros na vida pessoal e acadêmica. Meu obrigada do tamanho desse mundo, por tudo!

Agradeço ao pesquisador Dr. Denilson Fernandes Peralta e ao professor Dr. João Fernando Prado que me cederam exemplares da espécie de *Ricciocarpos natans* (L.) Corda para que eu pudesse cultivá-la assim como eles e posteriormente aplicar nos testes. Ao Rushell meu colega que tem aquário de invertebrados em casa e nunca mediu esforços para me ajudar, me dar dicas e me presentear com uma bomba de oxigenação para o aquário do *Bryum muehlebeckii*. E também à professora Gabrielli que ministrou a disciplina de Elaboração de Projetos e Monografias e ajudou principalmente durante a etapa de elaboração do projeto, obrigada!

Agradeço também ao Ceclimar e a UERGS, que foram minha segunda casa durante quatro anos, e que abrigaram a idealização e a execução deste trabalho; ao curso de Biologia Marinha por proporcionar tantas oportunidades durante toda a minha vida acadêmica, desde a

formação profissional até os colegas de aula com quem dividi momentos inesquecíveis que só a faculdade nos permite.

O Laboratório de Análise de Águas, Sedimento e Biologia do Pescado (LASBP) agora Laboratório de Análise de Águas e Sedimento (LAS), que me acolheu como estagiária do primeiro ao último semestre da faculdade, e espero poder voltar ainda, pois foi muito bom trabalhar em um laboratório com chefes dedicadas e empenhadas em transmitir todo o conhecimento possível aos estagiários. Lugar em que descobri o que amava fazer, e onde tive a oportunidade amadurecer pessoalmente, trabalhando junto com colegas muito diferentes, mas especiais em suas personalidades. Contudo gostaria de agradecer principalmente à esta última equipe de mulheres do LASBP que são maravilhosas, amigas, parceiras e as quais sinto muita saudade de compartilhar minhas manhãs e tê-las presentes no meu dia a dia, Marina (que tem que ser a primeira, se não ela morre de ciúmes), Thay, Lu e Tha (que por muito tempo foi da gestão, mas nunca saiu do lab <3), as melhores, mais lindas e inteligentes chefes que já tive nessa vida: Caci, Que e Gabi, e as duas novas integrantes: Ingrid e Ju. Meu amor incondicional e eterno ao LASBP, por tudo que pude viver lá dentro, todos os aprendizados adquiridos. Uma vez laspibiana, sempre lasbipiana.

Agradeço também a minha família, especialmente à minha mãe, que é uma aquariana maravilhosa, guerreira e me criou para bater asas, sempre me apoiando em todos os meus passos, sem nunca medir esforços para que meus sonhos se tornassem realidade independentemente de quais fossem eles. Ao meu irmão, que esteve sempre ao meu lado em todos os momentos, principalmente os mais difíceis. Amo vocês!

E por último, mas não menos importante, quero agradecer a Anna, por ser um anjo da guarda na minha vida, que apesar de todas as dificuldades e distâncias está sempre por perto de alguma forma. Minha parceira da vida! Te amo, amiga.

Meu agradecimento à todos que não estão especificamente descritos acima, mas que participaram direta ou indiretamente desta jornada. Obrigada! Vocês foram fundamentais nesta caminhada.

RESUMO

A contaminação ambiental por metais é fator preocupante, principalmente quando consideradas suas características de bioacumulação e biomagnificação. Quando presentes na água, são facilmente acumulados pelos organismos e podem atingir os níveis tróficos superiores da teia trófica, incluindo o ser humano. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi testar o potencial de três espécies de briófitas aquáticas e de áreas úmidas, *Bryum muehlebeckii* Bruch & Schimp., *Ricciocarpos natans* (L.) Corda e *Sphagnum perichaetiale* Hampe, na remoção dos metais ferro (Fe) e cromo (Cr) em amostras aquosas sintéticas, visando a aplicabilidade da técnica em águas residuais e naturais, possibilitando, assim, o tratamento de água e o enquadramento dos efluentes à legislação vigente, antes do lançamento em corpos hídricos naturais. A escolha pela utilização de espécies de briófitas se deve ao fato de serem plantas cosmopolitas, poiquilohídricas e com potencial para utilização em laboratório pela simplicidade estrutural e rápida taxa de multiplicação. As espécies foram coletadas e cultivadas em aquários, isoladamente, mantidas em temperatura ambiente e regime de luz natural. Quanto aos experimentos, foram realizadas duas baterias, utilizando biomassas seca e úmida. Em ambas as baterias, as briófitas foram expostas a soluções enriquecidas com concentrações de metais, e após os experimentos, as concentrações residuais dos mesmos foram mensuradas pela técnica de espectrometria de absorção atômica (EAA). Observou-se a capacidade das espécies de remover significativamente os metais presentes na água, ainda que com eficiências diferentes. A partir do emprego da biomassa úmida, obteve-se percentuais médios de remoção de 22 % para ferro e 31 % para cromo, enquanto para biomassa seca, os percentuais médios foram de 89 % para ferro e 87 % para cromo. Quanto as diferenças de biossorção para as espécies testadas, *S. perichaetiale* se destaca, com os maiores percentuais de remoção, atingindo valores de 99 % de remoção para ambos os metais com a aplicação da biomassa seca, e 51 % nas mesmas condições para biomassa úmida. Sendo assim, concluímos que é viável a utilização das espécies testadas como agentes fitorremediadores e absorventes naturais de metais para ambientes lênticos de água doce e efluentes.

Palavras-chave: Metais pesados. Qualidade da água. Adsorção. Musgos. Hepáticas

ABSTRACT

The pollution associated to heavy metal is a worrying situation, especially when considering their properties as bioaccumulation and biomagnification. In water, the heavy metals are easily accumulated by organisms and can reach the upper trophic levels, including human beings. Having that in mind, the aim of this work was to test the potential of three species of aquatic and wetlands bryophytes, *Bryum muehlebeckii* Bruch & Schimp., *Ricciocarpos natans* (L.) Corda e *Sphagnum perichaetiale* Hampe, to remove iron (Fe) and chromium (Cr) in synthetic water samples in order to apply the technology in natural water and wastewater. The bryophytes were chosen because they are cosmopolitan, polyhydroquinones. Furthermore they are potentially applied in lab due to the simple structural and high reproduction rate. The species were collected and cultivated in aquarium with temperature and daylight regime control. The experiments were carried out in two batteries with dry and humid biomass, both the species were exposed to enriched solutions with heavy metals, iron and chromium. After the exposure, the residual concentrations of heavy metals were measured by the Atomic Absorption Spectrometry. It was observed the capability of the species to remove the heavy metals from water samples although with different efficiency. With humid biomass the mean removal of iron was 22 % and 31 % for chromium, while for dry biomass the mean removal was 89 % for iron and 87 % for chromium. The biosorption for each species presents difference, *S. perichaetiale* was the highest removal with 99 % for dry biomass and 51 % for humid biomass. So it is possible to apply the three species tested in this work as phytoremediation agents and natural absorbents of heavy metals for freshwater environments and wastewater.

Key words: Heavy metals. Water quality. Adsorption. Moss. Liverworts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Ricciocarpos natans</i> (L.) Corda	13
Figura 2 – <i>Sphagnum perichaetiale</i> Hampe	14
Figura 3 – <i>Bryum muehlenbeckii</i> Bruch & Schimp	14
Figura 4 – Esquema de experimentos.....	17
Figura 5 – Boxplot remoção dos metais entre as baterias	21
Figura 6 – Frequência das porcentagem de remoção dos metais entre as baterias.....	22
Figura 7 – Concentrações de ferro em comparação com a legislação.....	24
Figura 8 – Concentrações de cromo em comparação com a legislação	25
Figura 9 – Eficiência das massas (mg)	27
Figura 10 – Boxplot da remoção dos metais entre as biomassas aplicadas.....	29
Figura 11 – Boxplot da remoção dos metais entre as espécies testadas	31

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 ESPÉCIES ANALISADAS	13
2.2 OBTENÇÃO E CULTIVO DO MATERIAL BIOLÓGICO	15
2.3 EXPERIMENTOS E ANÁLISE LABORATORIAL	15
2.3.1 Preparo.....	15
2.3.2 Exposição	17
2.3.3 Pós-exposição	17
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	18
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
3.1 REMOÇÃO DE METAIS ENTRE AS BATERIAS.....	20
3.2 TESTES CONTROLE.....	23
3.3 LEGISLAÇÃO	24
3.4 EFICIÊNCIA DAS MASSAS	26
3.5 BIOMASSAS.....	29
3.6 ESPÉCIES.....	30
3.7 REUSO	33
3.8 CONDUTIVIDADE E pH.....	34
4 CONCLUSÃO.....	37
5 PESQUISAS FUTURAS	38
REFERÊNCIAS	39
ANEXO A.....	43

1 INTRODUÇÃO

A contaminação ambiental é um problema crescente que afeta a atmosfera, o solo, os rios, os oceanos, e todos os seres vivos (GODOI *et al.*, 2003). Nesse contexto, a poluição por metais pesados através da industrialização e a alteração nos ciclos biogeoquímicos naturais (ALI *et al.*, 2013) resulta em degradação ambiental generalizada (NRIAGU & PACYNA, 1988). Ao contrário de outras classes de poluentes, os metais apresentam características bioacumulativas, representando assim, um dos contaminantes de maior risco à saúde ambiental e humana (SILVA, 2011).

Considerando que a água é essencial para existência e manutenção da vida, sua qualidade se relaciona diretamente com a qualidade de vida dos organismos (DARIVA, 2011). No entanto, a intensificação das atividades antropogênicas causa um aumento na contaminação dos corpos hídricos e na concentração de metais pesados nos mesmos, gerando graves impactos ambientais (ABDEL-BAKI *et al.*, 2011).

O cromo (Cr) é um metal de transição raramente encontrado em águas naturais. Quando presente, deve-se principalmente à descarga de efluentes contaminados, sendo que seus efeitos no meio aquático variam em função da espécie do metal, temperatura, e pH, cujo abaixamento conduz ao aumento na toxicidade (MARTINS, 2004). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 1988), os níveis naturais de cromo presentes em águas não contaminadas são inferiores a $1 \mu\text{g L}^{-1}$. Os efeitos da intoxicação por cromo podem incluir irritações na pele, no aparelho respiratório e estômago, podendo comprometer o sistema reprodutor (ATSDR, 2012). Além disso, propicia o desenvolvimento de reações alérgicas e câncer no fígado e nos pulmões (OMS, 1988).

O ferro (Fe) é um elemento-traço essencial, necessário a todas as formas de vida, sendo um constituinte natural de plantas e animais, podendo também estar presente na água. No homem, o ferro participa da síntese proteica relacionada ao transporte de oxigênio e ao metabolismo oxidativo, com ingestão diária média recomendada de 17 mg/dia para homens e de 9 a 12 mg/dia para mulheres (OMS, 2017). A concentração de ferro em águas superficiais pode ser aumentada pelo carreamento do solo, devido aos processos erosivos, sendo importante parâmetro para a detecção de impactos das atividades humanas nos corpos hídricos (ROCHA *et al.*, 2018). Quando em grandes concentrações no organismo humano, o ferro pode causar siderose, que é o acúmulo deste metal nos órgãos, podendo estar associado à fibrose e cirrose no fígado, além do risco de desenvolvimento de hemocromatose idiopática, uma doença

caracterizada pela acumulação longa e lenta de ferro nos tecidos sem evidência de consumo excessivo na dieta (OMS, 2017).

A partir destes exemplos, reforça-se a urgente necessidade de remediar a contaminação por metais para minimizar os efeitos negativos destes à saúde humana e aos ecossistemas (XU *et al.*, 2015). Assim, nas últimas décadas o grande desafio tem sido desenvolver biossorventes de baixo custo e facilmente disponíveis para remoção destes contaminantes, explorando os processos biológicos e permitindo sua utilização na remediação (SINGH *et al.*, 2015). Quanto a isso, as plantas possuem uma enorme capacidade de absorver os poluentes do meio ambiente e realizar sua desintoxicação através de diversos mecanismos (ALI *et al.*, 2013). Desta forma, a fitorremediação é considerada como uma técnica promissora para reduzir a concentração dos metais pesados de áreas contaminadas devido ao fato de ser um método ecológico (HETTICK *et al.*, 2015). Em geral, não necessita de grandes volumes de absorventes e da adição de químicos, é de fácil ajuste e manipulação, e não produz subprodutos prejudiciais. Além de ser economicamente mais viável (SINGH *et al.*, 2015), apresenta grande potencial de utilização em países tropicais como o Brasil (TAVARES, 2013).

As briófitas são criptógamas avasculares, poiquilohídricas, com ciclo de vida caracterizado pela alternância de geração gametofítica e esporofítica, não apresentando estruturas diferenciadas em raiz, caule e folhas. São capazes de tolerar condições ambientais extremas e por esta razão apresentam uma ampla distribuição geográfica, com predominância especial em regiões tropicais e subtropicais, contudo sem representantes no ambiente marinho (FRAHM, 2003).

A análise de elementos-traço que se acumulam nas briófitas fornece muitas informações sobre os poluentes no ambiente, permitindo uma avaliação na mudança da qualidade do meio em que se encontra o contaminante (KLOS *et al.*, 2011), atuando a briófitas como um bioindicador. Tendo isto em vista, Barbosa & Carvalho (2016) apontam que do total de publicações relacionadas à utilização de briófitas como bioindicadores de qualidade ambiental, apenas 0,34 % foi desenvolvida no Brasil. Nesse contexto é fundamental o desenvolvimento de processos que utilizem espécies de briófitas na absorção de metais, ainda mais quando for possível explorar as características deste grupo de forma diferente. Assim, o objetivo geral deste trabalho foi testar o potencial e a aplicabilidade da utilização das espécies de briófitas aquáticas e de áreas úmidas, nativas do Rio Grande do Sul, *Bryum muehlebeckii* Bruch & Schimp, *Ricciocarpos natans* (L.) Corda e *Sphagnum perichaetiale* Hampe como alternativa à remoção de metais contaminantes em amostras aquosas sintéticas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O método aplicado neste estudo foi baseado em Martins (2004), com modificações, sendo constituído das seguintes etapas: coleta do material biológico; experimentos em laboratório e procedimentos analíticos para determinação dos metais; e análises estatísticas.

Todos os procedimentos de pesquisa e desenvolvimento tecnológico desenvolvidos neste trabalho em vista do acesso ao Patrimônio Genético estão devidamente cadastrados junto ao Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, sob o nº A6CC87C, em atendimento as exigências da Lei nº 13.123/2015.

2.1 ESPÉCIES ANALISADAS

Para o estudo, foram selecionadas três espécies de briófitas aquáticas e de áreas úmidas nativas do Rio Grande do Sul: *Ricciocarpos natans* (L.) Corda, *Sphagnum perichaetiale* Hampe, e *Bryum muehlenbeckii* Bruch & Schimp.

Ricciocarpos natans (L.) Corda (Marchantiophyta, família Ricciaceae), ilustrada pela Figura 1, é uma hepática talosa, com ampla distribuição geográfica que possui formas de vida terrestre e aquática. A forma aquática é flutuante, típica de piscinas, valas e canais ricos em minerais, podendo eventualmente estar presente em córregos de fluxo lento. Sua coloração pode variar entre verde-amarelada a verde escura ou avermelhada (LONG, 2010), ocorrendo principalmente em águas eutróficas e paradas (KRONESTEDT, 1981). A forma terrestre é principalmente típica de lamas próximas a corpos hídricos (LONG, 2010). Para os experimentos neste estudo foi utilizada a forma aquática.



Foto: Bruno Andrade Linhares

Figura 1 - *Ricciocarpos natans* (L.) Corda

Sphagnum perichaetiale Hampe (Bryophyta, família Sphagnaceae), ilustrada pela Figura 2, é um musgo com aspecto compacto e rígido, em geral cresce formando tapetes. É uma espécie típica de ambientes úmidos e alagados, mas capaz de tolerar a dessecação do ambiente. Caracteriza-se pelo tamanho pequeno e pelas células hialinas dos ramos com pseudoporos elípticos (CRUM & BUCK, 1988).



Figura 2 - *Sphagnum perichaetiale* Hampe

Foto: Bruno Andrade Linhares

Bryum muehlenbeckii Bruch & Schimp. (Bryophyta, família Bryaceae), ilustrada pela Figura 3, apresenta coloração verde escura e é típica de ambientes úmidos, encontrada principalmente fixada em rochas ao longo de córregos e rios (SHARP *et al.*, 1994).



Figura 3- *Bryum muehlenbeckii* Bruch & Schimp.

Foto: Bruno Andrade Linhares

2.2 OBTENÇÃO E CULTIVO DO MATERIAL BIOLÓGICO

As amostras de *R. natans* foram cedidas pelo pesquisador Denilson Fernandes Peralta do Instituto de Botânica de São Paulo (IBt) e pelo professor João Fernando Prado da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) que cultivam a espécie; os exemplares de *S. perichaetiale* foram coletados no município de Cidreira, Rio Grande do Sul, próximos à Lagoa Fortaleza (30°07'06" S e 50°15'41" W); e os representantes de *B. muehlebeckii* foram coletados fixados em rochas no leito do Rio Jaguarzinho, próximo à cachoeira, no município de Nova Esperança do Sul, Rio Grande do Sul (29°23'33,7" S e 54°45'52,5" W).

Posterior à obtenção, as briófitas foram cultivadas separadamente, em três aquários, contendo água da torneira sem qualquer enriquecimento. As espécies foram mantidas em temperatura ambiente, com regime de luz natural, e de acordo com o *habitat*, receberam oxigenação constante através da utilização de compressor de ar para aquário, neste caso, apenas *B. muehlebeckii* Bruch & Schimp.

2.3 EXPERIMENTOS E ANÁLISE LABORATORIAL

Antes do início dos experimentos, as espécies foram lavadas com água destilada/deionizada, para remover possíveis partículas agregadas. Os testes de remoção dos metais em água foram executados na forma de biomassa seca e úmida para as três espécies propostas.

2.3.1 Preparo

a) Biomassas

i. Biomassa úmida

Após a lavagem supracitada, as amostras foram escorridas e pesadas para obtenção da massa úmida, seguindo diretamente para exposição.

ii. Biomassa seca

Feita a lavagem de parte da biomassa úmida, as amostras foram secas em estufa a 70° C durante 24 horas. Após, o material foi triturado em moinho de facas a 28000 rpm durante, aproximadamente, 30 segundos, seguindo para exposição.

b) Meios de exposição

Após a etapa de preparo das amostras, foram confeccionadas duas baterias de testes, as quais variaram as concentrações de cromo total e ferro total em que foram expostas as espécies de briófitas. Cada espécie foi exposta, separadamente, às duas baterias de testes (bateria 1 e bateria 2). As concentrações destes metais foram definidas com base em valores, aproximadamente, 2 e 10 vezes superiores aos limites estabelecidos pela Resolução CONSEMA n° 128/2006 (Anexo A). Esta dispõe sobre a fixação de padrões de emissão de efluentes líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul.

i. Bateria 1

As soluções nas quais as briófitas estiveram expostas foram preparadas com 250 mL de água da torneira enriquecidas com as concentrações de 21,0 mg L⁻¹ de ferro e 1,4 mg L⁻¹ de cromo.

ii. Bateria 2

As soluções foram preparadas com 250 mL de água da torneira enriquecidas com as concentrações de 112,0 mg L⁻¹ de ferro e 6,5 mg L⁻¹ de cromo.

c) Amostras controle, branco e reuso

Foram realizadas replicatas de controle para cada uma das baterias, onde foram submetidas tais amostras ao experimento, contendo as respectivas concentrações de metais para cada uma das baterias, entretanto sem os espécimes de briófitas. Já os brancos foram compostos por apenas água da torneira, sem adição dos elementos ferro e cromo, sem os espécimes de briófitas.

Quanto aos testes de reuso, os mesmos foram propostos visando avaliar a possibilidade de reutilização das biomassas em um segundo ciclo de exposição aos metais e verificar sua eficiência.

Desta forma, elencados todos os testes, temos nove testes para cada uma das baterias conforme ilustrado pela Figura 4.

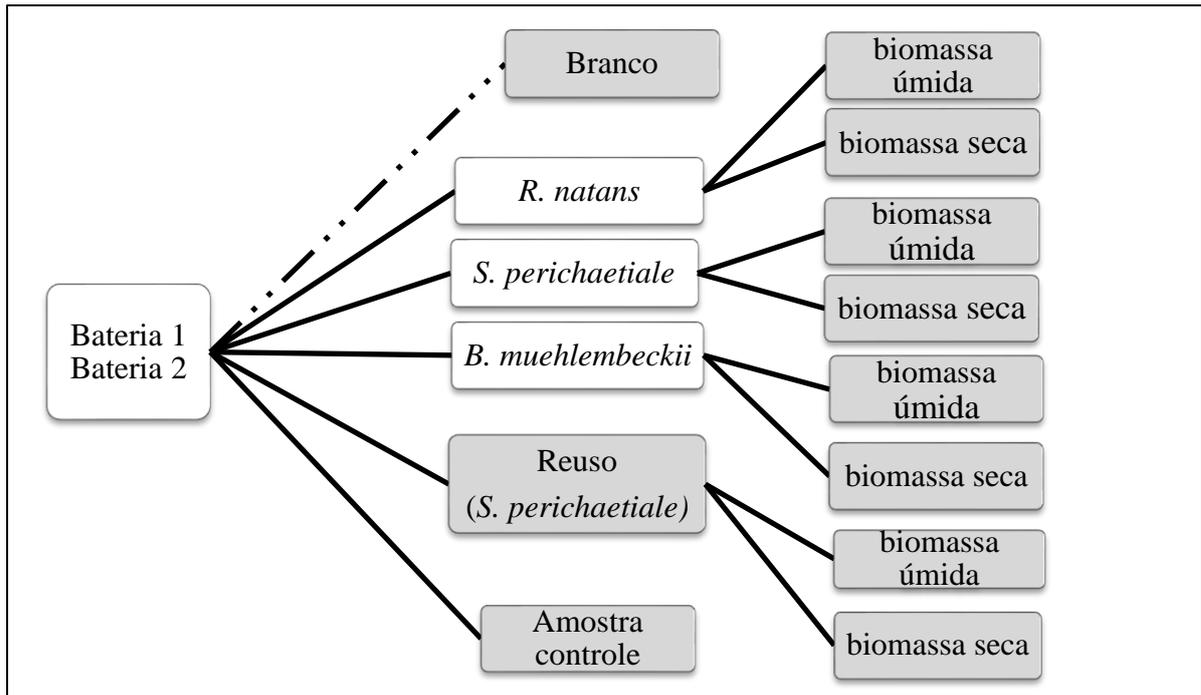


Figura 4 – Esquema de testes das baterias 1 e 2, considerando os experimentos de biomassa seca e biomassa úmida para cada espécie, além do reuso e das amostras controle e branco.

2.3.2 Exposição

Antes de iniciarem as exposições foi coletada uma alíquota da água da torneira para determinar as concentrações iniciais de ferro e cromo.

As suspensões foram mantidas em agitação mecânica, a 100 rpm durante 24 horas com refrigeração a, aproximadamente, $25 \pm 1^\circ \text{C}$ e sob fonte de iluminação de uma lâmpada de LED 9 W, com distância do agitador de aproximadamente 15 cm, com temperatura de cor de 300 K, respeitando os mesmos intervalos de iluminação natural. O pH das amostras foi ajustado, previamente, para valores próximos de 7,00 e a condutividade foi medida.

2.3.3 Pós-exposição

Após o tempo de experimentação, as soluções contendo biomassa úmida passaram por peneiramento, para separar as briófitas das soluções aquosas. Para as soluções contendo biomassa seca, as amostras foram centrifugadas para separar o conteúdo sólido da solução aquosa. Posteriormente, as amostras de água tiveram o pH e a condutividade mensurados, e em seguida foram retiradas alíquotas de 50 mL para determinação da concentração dos metais

(ferro e cromo) residuais. As amostras foram armazenadas em frascos previamente tratados com banho de ácido nítrico (HNO_3) 10 % (v/v) durante 7 dias.

Para determinação da concentração dos metais foi utilizada a técnica de espectrometria de absorção atômica (EAA) por chama, sendo avaliadas as amostras de água às quais foram expostos cada um dos espécimes (secas e úmidas), além das provas em branco, controles, reuso e amostra de água da torneira recolhida antes das exposições.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados numéricos foram tratados estatisticamente usando os softwares Microsoft Excel 2013[®] e R version 3.5.0[®].

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizados 31 experimentos sendo que destes, oito eram controles, quatro testes foram com a espécie *Bryum muehlebeckii* Bruch & Schimp., três com *Ricciocarpos natans* (L.) Corda, doze utilizando *Sphagnum perichaetiale* Hampe, e quatro testes de reuso, sendo estes referentes a reutilização da massa de *S. perichaetiale* Hampe em um segundo ciclo de exposição.

Observou-se uma significativa capacidade de remoção de metais em amostras aquosas, através do emprego de biomassa úmida ou seca. Em relação a biomassa úmida, os percentuais médios de remoção de ferro e cromo foram de 22 % e 31 % respectivamente. A partir do emprego da biomassa seca, obteve-se um aumento na capacidade de remoção dos poluentes, alcançando percentuais médios de 89 % e 87 % para ferro e cromo, respectivamente. A Tabela 1 apresenta os resultados de eficiência na remoção de ferro e cromo nos experimentos, para as três espécies testadas.

Tabela 1 - Eficiência média de remoção dos metais (ferro e cromo), observada nos experimentos para as três espécies testadas, entre as baterias.

Biomassas	Porcentagem de remoção (%)			
	Massa seca		Massa úmida	
Cromo (Cr)	87 %		31 %	
Ferro (Fe)	89 %		22 %	
Baterias	Bateria 1	Bateria 2	Bateria 1	Bateria 2
Cromo (Cr)	95 %	96 %	47 %	39 %
Ferro (Fe)	96 %	99 %	28 %	30 %
Espécies	<i>B. muehlebeckii</i>	<i>R. natans</i>	<i>S. perichaetiale</i>	
Cromo (Cr)	50 %	70 %	78 %	
Ferro (Fe)	48 %	62 %	71 %	

A partir da análise dos dados expostos na Tabela 1, é possível constatar os altos percentuais de remoção de ferro e cromo entre as baterias, e a maior eficiência de *S. perchaetiale* Hampe em adsorver os contaminantes. Desta forma, foram realizados testes de reuso com as biomassas seca e úmida desta espécie (Tabela 2), sendo que estas também apresentaram bons resultados de bioissorção, possibilitando assim, o reaproveitamento da biomassa em mais de um ciclo ao menos.

Tabela 2 - Eficiência média de remoção de metais para *Sphagnum perichaetiale* nos experimentos de biomassa úmida e seca, e testes de reuso.

<i>Sphagnum perichaetiale</i>				
Testes	Biomassa seca		Biomassa úmida	Reuso
Remoção (%)	99 %		51 %	21 %
Testes de Reuso de Biomassa				
Biomassas	Massa seca		Massa úmida	
Baterias	Bateria 1	Bateria 2	Bateria 1	Bateria 2
Remoção (%)	82 %	10 %	0 %	10 %

Fonte: autora (2018)

3.1 REMOÇÃO DE METAIS ENTRE AS BATERIAS

A utilização de briófitas como indicadores de contaminação ambiental se deve a uma série de características morfológicas e fisiológicas destas plantas, como a ausência de cutícula, e as propriedades de troca iônica na parede celular (ZECHMEISTER *et al.*, 2003).

A Figura 5 expressa a remoção de ferro e cromo entre as baterias, considerando que a bateria 1 demonstrou uma faixa de redução mais ampla, enquanto na bateria 2 os percentuais de remoção apresentam, em sua maioria, valores mais elevados, para ambos os metais testados.

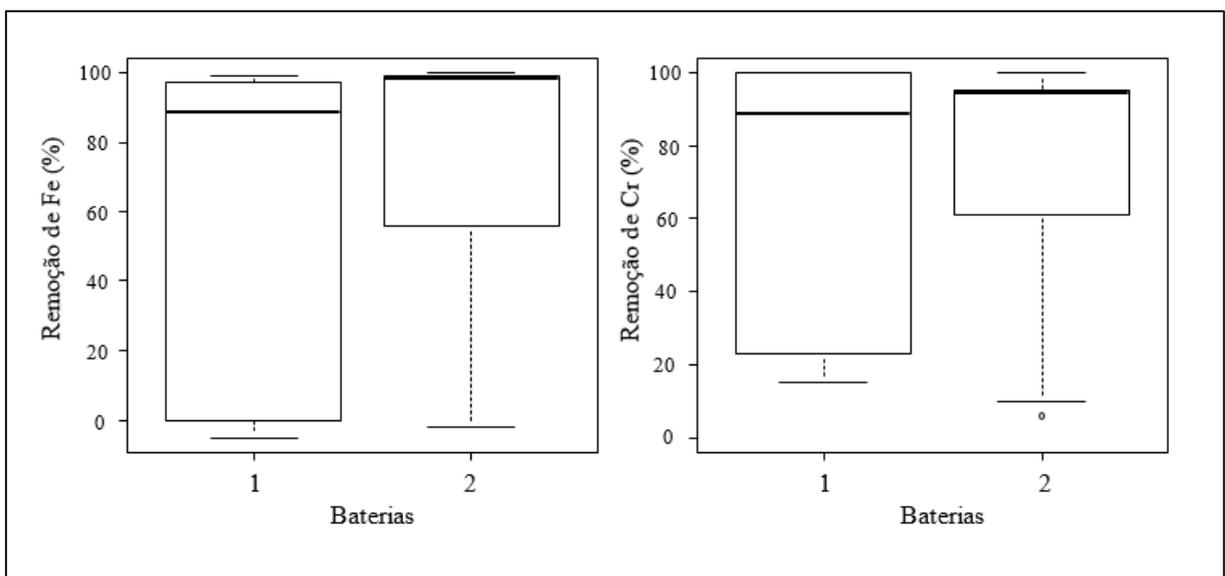


Figura 5 – Boxplot dos resultados de remoção de ferro e cromo entre as baterias 1 e 2, sem considerar as amostras controle e os testes de reuso.

Os dados apresentados na Figura 5 corroboram com os resultados encontrados por Xu *et al.* (2012), através de testes relacionados a capacidade de acumulação de cádmio (Cd) e cromo (Cr) por duas espécies de briófitas terrestres, *Hypnum hamulosum* Schimp. e *Brachythecium brotheri* Paris, em que observaram que os coeficientes de enriquecimento de cádmio e cromo aumentaram com o aumento da concentração de ambos os metais.

A Figura 6 mostra mais detalhadamente o percentual de remoção dos metais entre as baterias, acompanhada da frequência de ocorrência desta remoção, considerando o número total de experimentos, exceto os testes de reuso e as amostras controle (n=19).

Observa-se, a partir da análise da figura 6, que para ambas as baterias, o ferro apresentou, em baixas frequências, percentuais negativos de remoção, ou seja, liberou metal na solução ao invés de absorver. Quanto ao cromo, não houve percentuais negativos de adsorção, e obteve-se altas frequências de elevadas porcentagens de remoção, sendo que entre o total (n=19), seis amostras removeram 100 % de cromo, cinco delas na bateria 1, e uma amostra na bateria 2.

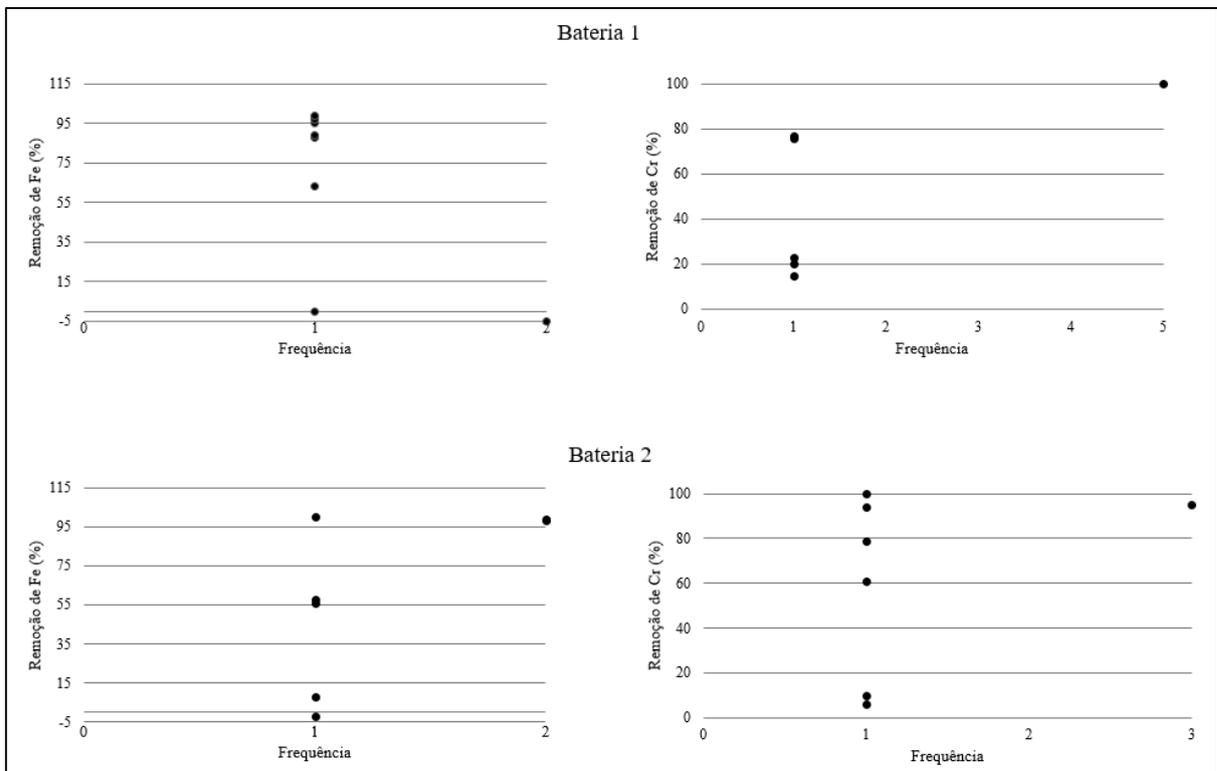


Figura 6 - Frequência das porcentagens de remoção de ferro e cromo entre as baterias 1 e 2, sem considerar as amostras controle e reuso.

Esposito *et al.* (2012) testando a toxicidade de metais pesados, chumbo (Pb) e cádmio, e metais essenciais (Cu) e zinco (Zn), no musgo aquático *Leptodictyum riparium* Hedw.

observaram que os altos níveis de metais essenciais são melhores tolerados pela espécie, do que a toxicidade dos metais pesados. O mesmo não foi observado no presente estudo, em que o cromo foi tão ou mais tolerado pelas espécies de briófitas quanto o ferro, que é considerado como um metal essencial.

Martins (2004) através de seu estudo com a acumulação de zinco, cádmio, chumbo e cromo em *Fontinalis antipyretica* Hedw., observou que a acumulação dos metais pela espécie testada se deve essencialmente a um mecanismo que envolve o transporte de íons, mediado por transportadores ou canais proteicos, e a partir de seus experimentos constatou que *F. antipyretica* Hedw. sofreu efeitos tóxicos ou inibidores com o aumento da concentração dos metais, sugerindo a possibilidade de ocorrência de danos na planta, ou até a morte da biomassa durante o tempo dos experimentos, o que alterou o mecanismo de acumulação. Estes fatores também podem ser os responsáveis pelo aumento na concentração de ferro na solução, principalmente considerando que o ferro é um metal essencial ao metabolismo das plantas (OMS, 2017), entretanto, entendemos que as espécies já continham o mesmo em seu organismo antes do início dos testes, possibilitando assim a liberação deste na solução em vista das trocas catiônicas entre o meio e a briófitas.

3.2 TESTES CONTROLE

Com relação aos dados dos controles, foi obtido um percentual médio de remoção de aproximadamente 8,44 %. Esta redução na concentração dos metais nas amostras controle pode ser justificada pelas características físico-químicas das soluções as quais os experimentos foram submetidos, e pode ser comparada com os processos naturais como a autodepuração dos corpos d'água, que em geral está vinculada ao restabelecimento do equilíbrio no meio aquático, após a ocorrência de alterações induzidas pelo recebimento de contaminantes (COSTA & TEIXEIRA, 2010; NAGALLI & NEMES, 2009).

Em geral, os metais não sofrem processos de degradação, volatilização ou decaimento por fotólise, assim não seria esperado que estes contaminantes, em função de suas propriedades, fossem capazes de sofrer algum processo de autodepuração na água, sendo assim seu destino em sistemas aquáticos é controlado principalmente pelos meios de transporte. Tendo em vista que a transferência de elementos-traço é um processo fundamental para o entendimento da dinâmica destes elementos, ainda que em baixas concentrações, os metais são suficientes para

alterar a capacidade de autodepuração do corpo receptor devido ao seu poder em inibir a ação biológica dos organismos responsáveis pela decomposição da matéria orgânica (GUILHERME *et al.*, 2005; ASSIS, 2014). Quanto a isso, podemos considerar que a redução ocorrida em nossos testes controle, embora pequena, se deva ao fato de serem amostras aquosas sintéticas e, por este motivo, não sofram as mesmas influências bióticas e abióticas a que estariam sujeitas caso fossem amostras de água naturais.

Ainda, segundo Avenant-Oldewage & Marx (2000) há outros fatores abióticos que influenciam na disponibilidade dos metais para os organismos, como temperatura e pH. Variáveis estas que foram controladas durante os experimentos, reguladas com base nos valores médios históricos para as lagoas costeiras da Bacia Hidrográfica do Rio Tramandaí, e também dos efluentes municipais tratados pela Companhia Rio Grandense de Saneamento (CORSAN), o que restringiu a influência pela variação destas entre os testes.

3.3 LEGISLAÇÃO

As concentrações finais de metais presentes nas amostras de água foram comparadas com os limites estabelecidos pela Resolução do CONSEMA n° 128/2006, tendo como objetivo verificar se a partir da aplicação das biomassas de briófitas nas soluções, estas amostras seriam capazes de serem recondicionadas ao enquadramento exigido pela legislação.

Assim, a Figura 7 apresenta as concentrações inicial e final de ferro nas amostras de água, e o limite estabelecido para o mesmo metal na Resolução CONSEMA n° 128/2006.

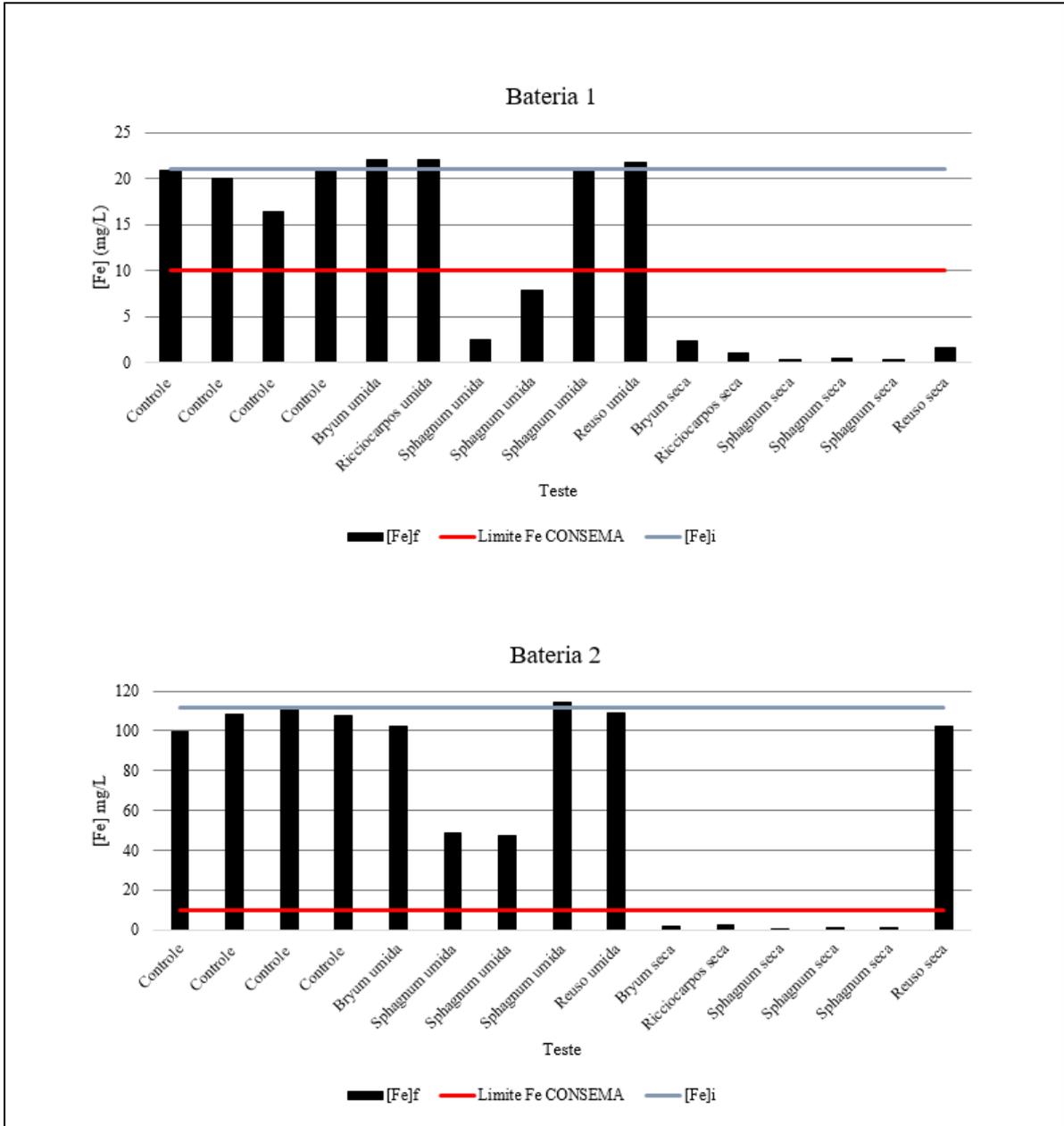


Figura 7 - Concentrações inicial ($[Fe]_i$) e final ($[Fe]_f$) de ferro (Fe) das baterias 1 e 2 em comparação com o limite proposto pela Resolução n° 128/2006 da CONSEMA.

Quanto à Figura 8, semelhante à figura anterior, apresentam-se os valores de concentrações inicial e final de cromo nas soluções, e o limite estabelecido para este metal na Resolução CONSEMA n° 128/2006.

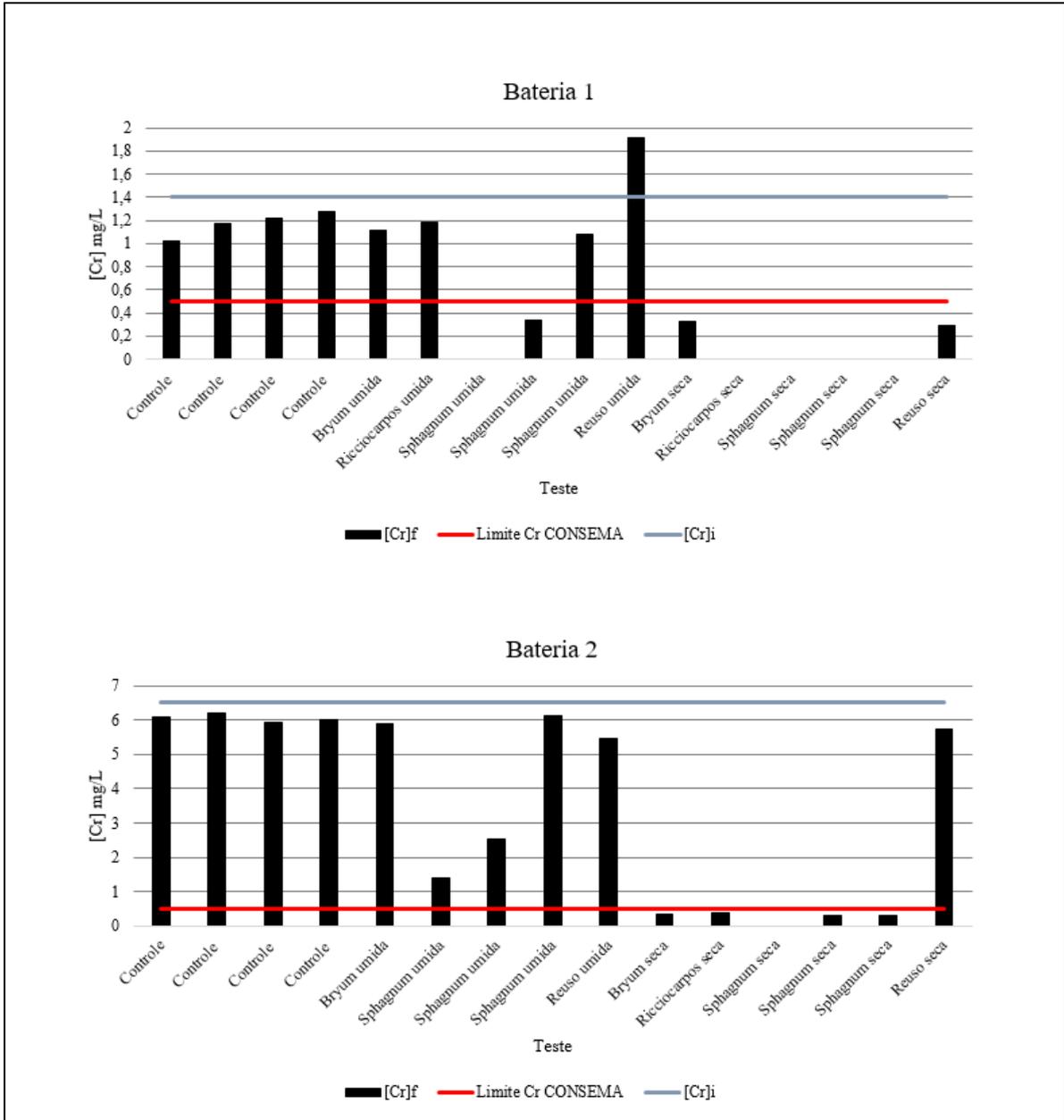


Figura 8 - Concentrações inicial ($[Cr]_i$) e final ($[Cr]_f$) de Cromo (Cr) das baterias 1 e 2 em comparação com o limite proposto pela Resolução n° 128/2006 da CONSEMA.

Com a análise dos resultados expostos acima, pode-se observar que para os dois metais testados, e para ambas baterias, todas as amostras de biomassa seca removeram os contaminantes a ponto de enquadrá-los na legislação, não importando de qual concentração partiam os testes. Quanto às amostras de reuso, o sucesso de sua aplicação no enquadramento das concentrações na legislação, foi observado apenas na bateria 1 e para biomassa seca.

Especificamente para a bateria 1, nota-se que biomassa úmida que removeu os metais das amostras a ponto de enquadrá-los na legislação pertence a espécie *S. perichaetiale*, sendo

importante considerar que neste caso, das três amostras testadas com esta espécie, apenas duas atingiram esta redução, possivelmente em função da biomassa utilizada, que foi de aproximadamente 20 g, enquanto no outro teste a quantidade de biomassa úmida utilizada foi de aproximadamente 10 g.

Nesse sentido, PIRES *et al.* (2009) estudando a viabilidade do uso da *Moringa oleifera* Lam. e da argila, como adsorventes naturais na remoção dos metais cobre, cromo, chumbo e cádmio pelo processo de adsorção, verificaram através de diferentes experimentos, com variações de tempo de exposição e diferentes quantidades de massa, que os testes com maior massa de adsorvente apresentaram melhor capacidade de remoção. Isto esteve vinculado principalmente pelo fato de que quando há maior quantidade de adsorvente, maior a probabilidade de haver contato entre os sítios ativos disponíveis, podendo assim auxiliar o processo de remoção.

Em concordância, Aksu (1998) e Martins (2004) apontam que no tratamento de águas residuais por materiais biológicos contendo íons de metais, que deve-se considerar o tipo de planta e as respectivas diferenças na composição da parede celular, bem como do metal em análise para haver sucesso. Além de considerar fatores como pH, intensidade luminosa, temperatura, fluxo de água, o estado fisiológico e a natureza da biomassa, os materiais e o método utilizado no tratamento, além da presença de outros íons em solução, podem competir pelos sítios de ligação.

3.4 EFICIÊNCIA DAS MASSAS

Para verificar a relação entre a quantidade de massa utilizada nos experimentos com a porcentagem de remoção dos metais testados, foi realizado um teste de eficiência das massas utilizando como base a quantidade de biomassa úmida empregada. Para os testes com biomassa úmida, foram tomadas as massas empregadas diretamente nos testes após a lavagem, enquanto para os testes de biomassa seca empregou-se a quantidade inicial de biomassa úmida estabelecida antes do processo de secagem.

Desta forma, foi estabelecida graficamente a eficiência na remoção considerando as biomassas úmidas empregadas para todos os testes, exceto reuso e controles, diferenciadas as três espécies analisadas, contra os resultados de remoção obtidos (Figura 9).

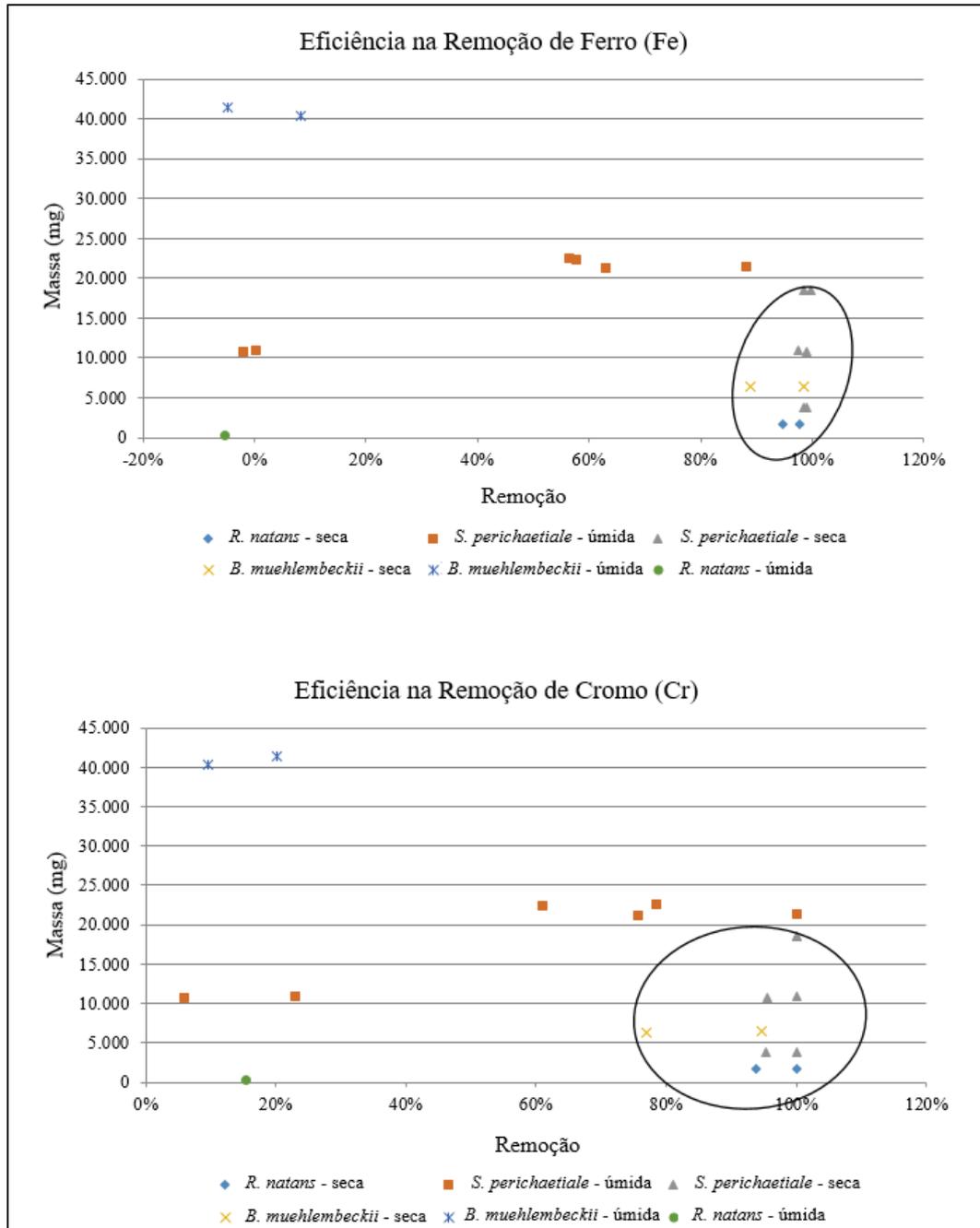


Figura 9 – Gráfico de distribuição da eficiência das massas (mg) utilizadas nos testes contra as porcentagens de remoção dos metais, ferro e cromo, com destaque para os testes com melhor desempenho.

Analisando a Figura 9, é possível verificar que ambos metais apresentaram um comportamento similar em relação a eficiência de remoção pelas massas, demonstrando semelhanças de absorção, inclusive entre as espécies.

Itouga *et al.* (2017) estudando a capacidade de *Funaria hygrometrica* Hedw. em tolerar e acumular chumbo percebeu que 80 % do metal adsorvido se encontrava na parede celular,

sugerindo que os constituintes e a estrutura da parede celular desta espécie são os responsáveis pela capacidade de acumulação do metal. Além disso, os mesmos autores, através de análises de espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) sugeriram que os componentes da parede celular de *F. hygometrica* são similares aos dos demais musgos, mas diferente dos constituintes da parede celular das plantas terrestres e das algas, sendo a pectina o maior componente da parede celular das briófitas.

Ainda com relação ao exposto na Figura 9, é possível perceber que para biomassa úmida, no caso de *S. perichaetiale*, os testes em que foram empregadas aproximadamente 10 g de biomassa, demonstraram remoção inferior a 30 % para ambos metais, ferro e cromo, enquanto com o emprego de aproximadamente 20 g de biomassa as reduções nas concentrações dos metais variaram entre 60 % e 90 %. Inclusive, a variação na quantidade de massa nestes experimentos com *S. perichaetiale* foram executados justamente para verificar a eficiência na remoção dos metais nas soluções. Estes resultados reforçam os dados expostos por PIRES *et al.* (2009), referenciado na seção anterior, em que as diferentes quantidades de massa empregadas refletiram proporcionalmente na acumulação dos metais, sendo que entre os metais testados pelos autores estão cobre, cádmio, chumbo e cromo.

Além das características físico-químicas, Aksu (1998) também aponta como fatores interferentes na bioadsorção de metais a quantidade de biomassa utilizada, além de íons interferentes.

Para mais, com base nos gráficos das Figuras 9 e 10, verifica-se a maior eficiência de remoção vinculada à biomassa seca, não importando a espécie aplicada, ao passo de que nos testes de biomassa úmida, o sucesso de bioadsorção está condicionado à espécie empregada, sendo os melhores resultados observados com *S. perichaetiale*.

3.5 BIOMASSAS

Embora condições ótimas de adsorção de íons de metais pelos organismos sejam conhecidas, é necessário entender como as combinações de íons metálicos afetam os processos ecológicos da biomassa, e a capacidade desta em acumular estes metais. Desta forma, sugere-se que os bioprocessos de acumulação de metal, em geral, se enquadram em duas categorias: absorção por biomassa morta, ou produtos desta biomassa; e bioacumulação por células vivas (AKSU, 1998). Considerando isso, foram avaliados os resultados vinculados ao tipo de

biomassa empregado (Figura 10) que expressa os resultados para os dois tipos de biomassas empregadas nos testes de remoção de metais, incluindo os controles.

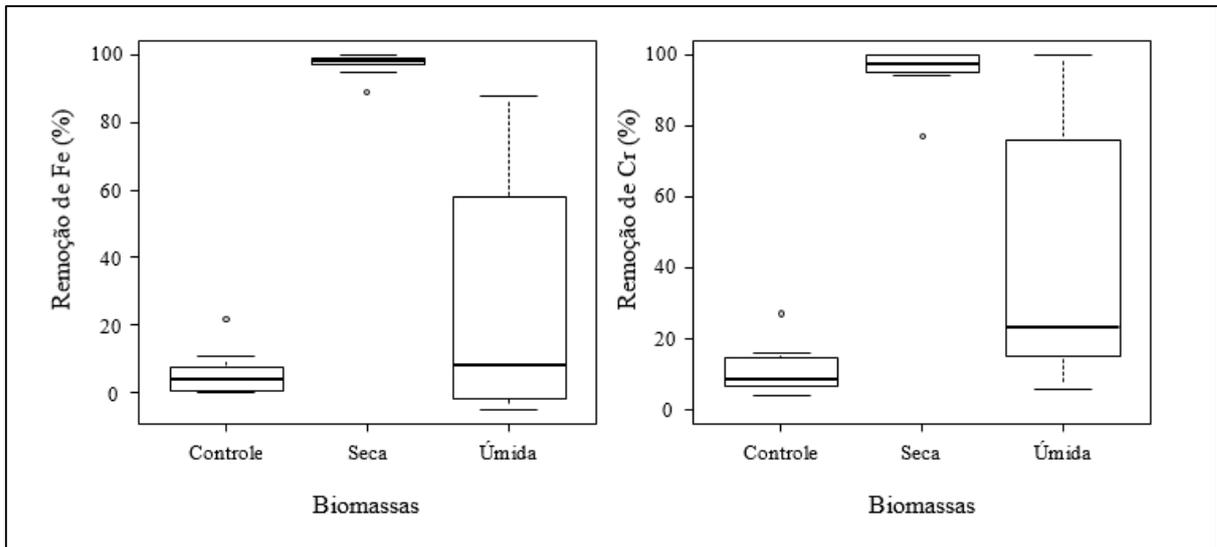


Figura 10 – Boxplot dos resultados de remoção dos metais ferro e cromo entre os tipos de biomassa, seca e úmida (exceto reuso), e as amostras controle.

Com a análise da Figura 10, nota-se que a biomassa úmida apresentou uma ampla faixa de redução dos metais, mas com medianas de remoção próximas de 20 %. Ao analisar a biomassa seca, percebe-se elevada remoção para ferro e cromo, com medianas próximas de 100 %, ou seja, a biomassa seca se mostrou mais eficiente na remoção dos metais presentes nas amostras aquosas em comparação com a biomassa úmida.

Quanto a utilização dos diferentes tipos de biomassa, biomassas seca e úmida, Martins (2004) observou para cádmio e zinco que a cinética de acumulação apresentou um aumento com a utilização da biomassa seca, diminuindo também o tempo de contato necessário. Também Aksu (1998) destacou que as células mortas, seja por processo de secagem, acidificação ou outro tratamento químico, mostram acumular metais em proporção igual ou maior do que as células vivas. Desta forma, o uso da biomassa seca se torna mais vantajoso para o tratamento de águas, pois os organismos mortos não são afetados por resíduos tóxicos, e não necessitam de nutrientes para sua manutenção, além de mais facilmente armazenáveis, desde que em condições adequadas.

Na biomassa morta, as células são mais permeáveis, permitindo mais facilmente que os metais entrem e possibilitando assim, a ligação destes nos componentes internos e na superfície da célula, o que aumenta a bioabsorção de metal (MARTINS, 2004). Na biomassa viva, os

mecanismos de captação são, em geral, intracelulares e influenciados por vários aspectos do metabolismo da planta, sendo assim, a entrada dos contaminantes no plasma celular é determinada pela afinidade do elemento com um sítio de ligação apropriado, competitividade entre os elementos, os gradientes de concentração e a energia necessária para execução destes processos. Deste modo, elementos localizados no interior das células das briófitas, que influenciam no metabolismo celular, apresentam taxas de absorção inferiores em comparação com os locais de absorção extracelular (ZECHMEISTER *et al.*, 2003).

3.6 ESPÉCIES

A diversidade de organismos vivos tem sido cada vez mais considerada para limpeza de ecossistemas poluídos e contaminados por metais, ganhando um destaque comercial no campo da biotecnologia ambiental (PRASAD & FREIRAS, 2003).

De acordo com Esposito *et al.* (2012), na divisão Bryophyta existem distintos mecanismos de respostas a metais pesados, que determinam com eficiência as diferenças na tolerância ao estresse nas espécies. Carginale *et al.* (2004) relata a alta capacidade das briófitas em acumular metais em função da sua relação superfície-volume, que em geral é alta, e da frequente ausência de cutícula.

Em vista disso, a Figura 11 apresenta os dados de remoção dos metais, ferro e cromo, entre as três espécies de briófitas testadas: *Ricciocarpos natans* (L.) Corda, *Sphagnum perichaetiale* Hampe, e *Bryum muehlenbeckii* Bruch & Schimp., considerando ainda as amostras controle e os testes de reuso, oportunizando uma avaliação específica.

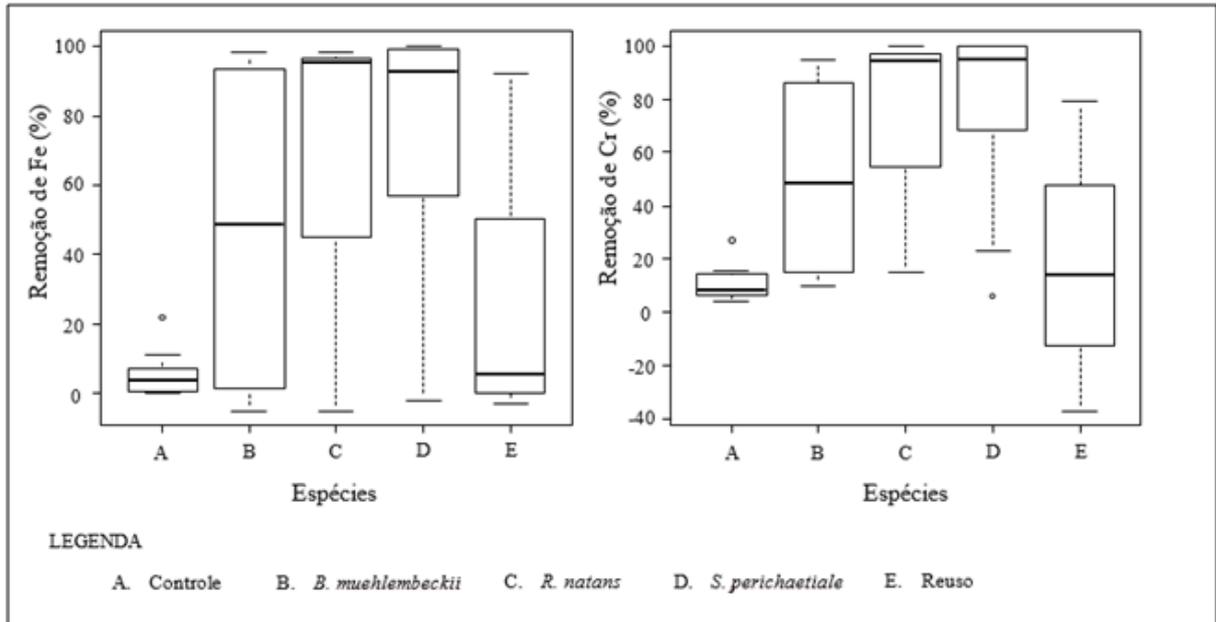


Figura 11 – Boxplot dos resultados de remoção dos metais, ferro e cromo, entre as espécies de briófitas testadas, os testes controle e reuso.

A análise da figura 11 permite-nos interpretar que as amostras controle mantiveram as concentrações residuais de metais na solução praticamente inalteradas durante o tempo do experimento, apresentando porcentagens de remoção próximas a 8 %. Quanto as três espécies avaliadas, nota-se que o comportamento geral entre os metais testados foi bastante semelhante, sendo que *B. muehlebeckii* evidenciou uma ampla faixa de remoção dos metais, com mediana próxima de 50 % para ambos (ferro e cromo). *S. perichaetiale*, assim como *R. natans* demonstraram-se capazes de remover praticamente toda a concentração dos metais na solução para a maioria dos testes, com medianas de remoção acima de 90 %.

A ligação dos metais nas células é determinada pelo número de locais de troca iônica disponíveis, os tipos de poluentes e pela estrutura das briófitas, que diferem de espécie para espécie. Adicionalmente, deve-se considerar que as condições no meio influenciam muito no metabolismo dos organismos poiquilohídricos (ZECHMEISTER *et al.*, 2003).

Não há estudos anteriores que tenham empregado as mesmas espécies deste trabalho, seja como bioindicadores, monitores de poluição ambiental ou mesmo agentes fitorremediadores. No entanto, o gênero *Sphagnum* é reconhecido pela sua resistência e capacidade de acumulação. Saxena *et al.* (2002) testando a acumulação de chumbo em *Sphagnum squarrosum* Crome sugeriu que esta espécie seja considerada como uma espécie hiperacumuladora e tolerante a concentrações elevadas de metais pesados. Engleman &

McDiffet (1996) utilizando também uma espécie do gênero *Sphagnum* na remoção de ferro, observaram que esta desempenhou boa capacidade de absorção do metal nas soluções em que foi exposta. Em comparação com nossos resultados, *S. perichaetiale* demonstrou aptidão na remoção de ferro e cromo das soluções aquosas, tanto com a utilização da biomassa úmida, quanto com a biomassa seca, inclusive com a utilização de diferentes quantidades de biomassa aplicada, além da eficiência de remoção de metais nos testes de reuso.

Vukoječić *et al.* (2005) identificando espécies de musgo capazes de crescer em ambientes degradados pelo processo de queimada, visou estabelecer se as espécies encontradas poderiam ser consideradas como hiperacumuladoras de metais, e estimar o potencial fitorremediador das mesmas. As briófitas mais difundidas na área deste estudo foram *Bryum capillare* Hedw. e *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., e foram consideradas pelos autores como espécies hiperacumuladoras de ferro, chumbo, cobre, manganês (Mn) e zinco, sendo o ferro o metal mais acumulado por elas, e com maior concentração no ambiente. Através da avaliação de nossos resultados, apesar do *B. muehlebeckii* ter removido os metais da solução, esta não pode ser apontada como uma espécie hiperacumuladora de metais, uma vez que plantas hiperacumuladoras são apenas aquelas capazes de absorver altos níveis de contaminantes, como por exemplo, acumulação superior a 1000 µg/g de cobalto (Co), cobre, cromo, chumbo ou níquel (Ni), e mais de 10000 µg/g de manganês (Mg) e zinco (WANTANABE, 1997; BAKER & BROOKS, 1989).

Carginale *et al.* (2004) testando a acumulação de cádmio em *Lunularia cruciata* (L.) Lindb., uma hepática, assim como *R. natans*, observaram que esta fora mais dependente do tempo de exposição do que da concentração de metal no meio. A partir dos dados obtidos no presente estudo, não é possível afirmar que *R. natans* teve sua porcentagem de remoção associada ao tempo de exposição, pois este não foi um fator que variou nos experimentos. No entanto, durante o tempo total de exposição, 24 horas, a espécie demonstrou capacidade de remover grande parte dos metais dissolvidos na solução, principalmente considerando a quantidade de massa aplicada nos testes (Figura 6), a menor entre todas as espécies.

A baixa quantidade de massa empregada nos testes se deve a relativa dificuldade de cultivo da espécie *R. natans* em locais onde não se tem a temperatura do ambiente controlada, o que foi verificado principalmente durante o inverno, com a redução no tamanho dos espécimes, e influenciou na disponibilidade de massa para aplicação nos testes. Martins (2004) comparando a eficiência de espécimes entre duas diferentes épocas do ano, outono e verão,

constatou que o estado fisiológico da planta, como reflexo da época de colheita, interferiu significativamente na cinética de acumulação do zinco.

3.7 REUSO

Em consequência de seus mecanismos de ciclagem e absorção de nutrientes, as briófitas são consideradas como plantas muito resistentes a substâncias tóxicas e tendem a acumular poluentes como metais pesados, radionuclídeos e outros compostos orgânicos (ZECHMEISTER *et al.* 2003).

Para execução dos testes de reuso foi empregada apenas a espécie *S. perichaetiale* utilizando as biomassas seca e úmida, em um segundo ciclo de exposição, em vista de que esta espécie apresentou boa capacidade de remoção de metais nos testes iniciais.

Assim, considerando a Figura 11, em relação aos testes de reuso se observa uma faixa ampla de remoção com os 1° e 3° intervalos interquartil (IIQ) apresentando porcentagens de remoção entre 0 e 50 % para os dois metais testados. É possível notar, que algumas amostras se destacam positivamente, apresentando remoção próxima de 90 % para ferro e 80 % para cromo; e uma amostra com remoção negativa deste último metal, apresentando um valor de - 37 % na solução, ou seja, nesta amostra, a briófitas liberou cromo na solução ao invés de absorver. Aumentando a concentração da solução de 1,400 mg/L para 1,911 mg/L, no teste com biomassa úmida.

Zechmeister *et al.* (2003) destaca que a translocação interna de elementos no organismo das briófitas desempenha um importante papel no organismo destas plantas, embora a maioria das espécies não possua tecidos condutores. Martins (2004) em seus testes de ciclos consecutivos de acumulação e eliminação de metais, observou que após o musgo ser sujeito a um ciclo de acumulação/eliminação ele é capaz de manter certa capacidade acumular zinco. No entanto, apresenta diferenças entre os períodos de acumulação, com desvantagem no 2° ciclo, iniciando este com as plantas já contaminadas e concentrações muito acima das naturais, o que pode influenciar negativamente as constantes cinéticas de acumulação e eliminação dos metais. Igualmente, isto foi observado nos testes de reuso do presente estudo e explica a liberação do cromo na solução pela biomassa viva.

Com os experimentos de biomassa seca não ocorreu a liberação de metais na água, e Aksu (1998) destaca que a utilização de células mortas é mais vantajosa no tratamento de água,

pelo fato de a biomassa não ser afetada pelos resíduos presentes na solução, o que facilita sua utilização em ciclos consecutivos, como os testes de reuso apresentados aqui.

Ainda em relação à liberação dos metais contidos na biomassa viva na solução, Engleman & McDiffet (1996) observaram que casos em que as briófitas aquáticas são transferidas de locais não poluídos para locais poluídos com diferenças de pH, essa situação pode influenciar as concentrações de metais pesados, sendo constatado, em seu estudo, um declínio nas concentrações de ferro em musgos transplantados de ambientes mais ácidos para soluções neutras. Considerando isso, temos que em nossos aquários de cultivo, as espécies eram mantidas com água em pH 5, sem presença de íons contaminantes, e foram transferidas para as soluções experimentais com pH 7, com a presença de metais pesados, o que pode ter influenciado na acumulação de metais. Além disso, somam-se as altas concentrações apresentadas nos testes de reuso, ou seja ciclos consecutivos, em que as biomassas não foram previamente expostas a soluções descontaminadas para eliminação dos metais antes do início do 2º ciclo de acumulação.

3.8 CONDUTIVIDADE e pH

Assim como em solos, o pH tem grande influência nos elementos-traço na água, podendo afetar a solubilidade destes compostos e a formação de complexos (GUILHERME *et al.*, 2005), influenciando na disponibilidade e absorção dos poluentes pelos organismos (ZECHMEISTER *et al.*, 2003).

Considerando isso, foram feitos testes de correlação de Pearson entre as massas empregadas e as variações no pH, na condutividade, e nas concentrações de ferro e cromo ao longo dos testes de remediação.

A perspectiva estaria em perceber efeitos nas variações destes parâmetros em virtude da remoção dos metais, bem como das massas empregadas. Entretanto, foram poucas as correlações observadas, possivelmente, em vista do baixo número amostral.

Em uma avaliação por grupos de biomassas, seca e úmida, foram verificadas correlações significativas como observado na Tabela 3.

Tabela 3 - Correlação entre as variações nas concentrações de metais e pH, e as quantidades de massa aplicadas para os diferentes tipos de biomassas aplicadas nos testes.

Biomassa	Correlações (r²)	Δ[Fe]	ΔpH
Seca/Úmida	Δ[Cr]	0,99**	
Seca	Δ[Cr]	0,99**	
	Massa		0,70*
Úmida	Δ[Cr]	0,98**	
	Massa		0,61**

Legenda: *p<0,01; **p<0,05

Estes resultados evidenciam variações de remoção de metais praticamente iguais, comportamento semelhante ao observado nos testes de eficiência (Figura 6).

Além disso, ainda que mais baixa, há correlação significativa entre as massas aplicadas e as variações de pH quando observadas as biomassas seca e úmida de forma isolada. Possivelmente um maior número de testes confirmaria esta correlação.

Em relação às espécies, na Tabela 4 estão elencados os resultados dos testes de correlação entre estas e a variação nas concentrações dos metais testados, além das variações de pH e condutividade e a quantidade de massa aplicada nos experimentos.

Tabela 4 - Testes de correlação entre as três espécies avaliadas e a variação nas concentrações dos metais, as variações de pH e condutividade e a quantidade de massa utilizada nos testes.

Espécie	Correlações	Δ [Fe]	ΔpH	Δcondutividade
Todas	Δ[Cr]	0,99**		
<i>B. muehlebeckii</i>	Δ[Cr]	0,99**		
<i>S. perichaetiale</i>	Δ[Cr]	0,99**		
<i>R. natans</i>	Δ[Cr]	1,00**		0,97
	Massa		1,00**	
	Δcondutividade	0,98		

Legenda: *p<0,01; **p<0,05

As elevadas e significativas correlações demonstram, igualmente, que a variação nas concentrações de ambos os metais são praticamente iguais para todas as espécies, avaliadas conjuntas ou isoladamente.

Além destas, a espécie *R. natans* apresentou correlação significativa entre a massa aplicada nos testes e a variação de pH nos mesmos, além de correlações entre a variação de condutividade e dos metais, ferro e cromo. Considerando que alteradas as condutividades dos

testes concomitante com as variações de metais, isso pode indicar que esta espécie absorva outros cátions e ânions paralelamente. Aksu (1998) destaca que diferentes cátions e ânions têm diferentes afinidades aos locais de ligação nas células, o que pode indicar a não exclusão de absorções em paralelo.

Além disso, as correlações existentes entre as massas aplicadas nos testes e as variações de pH, justificam-se segundo Martins (2004) pela hidrólise do musgo na água, o que permite a criação de sítios com carga positiva na superfície dos biossorventes.

4 CONCLUSÃO

A utilização de agentes fitorremediadores e absorventes naturais para a remoção de metais é, atualmente, uma alternativa ecológica e sustentável, considerando tanto sua aplicação no tratamento de efluentes, quanto para a descontaminação de corpos hídricos naturais, devido a facilidade de manuseio, e ao baixo custo de aplicação e manutenção.

Através do desenvolvimento deste trabalho, foi possível verificar o potencial das espécies testadas, observando maiores eficiências de remoção de ferro e cromo na seguinte ordem *Sphagnum perichaetiale* Hampe, *Ricciocarpos natans* (L.) Corda e *Bryum muehlebeckii* Bruch & Schimp. Além disso, entre as biomassas testadas, biomassa úmida e a biomassa seca, a biomassa seca apresentou maior potencial de remoção dos metais testados e melhor aplicabilidade.

Deste modo conclui-se que as três espécies de briófitas testadas possuem potencial de utilização como fitorremediadoras em águas contaminados por ferro e cromo; a biomassa seca é mais eficiente na remoção de ferro em cromo; a espécie *Sphagnum perichaetiale* Hampe foi a que melhor removeu ferro e cromo presentes nas amostras aquosas; e ainda é necessário o desenvolvimento de mais estudos e a continuidade dos experimentos uma vez que novas possibilidades surgiram através deste projeto

5 DEPÓSITO DE PATENTE DE INVENÇÃO E POSSIBILIDADES DE PESQUISAS FUTURAS

O presente estudo, sendo considerado como um dos pioneiro nestes tipos de testes no Brasil e também Rio Grande do Sul, possibilitou a descoberta do potencial de *Sphagnum perichaetiale*, *Bryum muehlebeckii* e *Ricciocarpos natans* em remover metais presentes em soluções aquosas. Com isso, foi elaborada uma proposta de patente de invenção denominada: “USO DA BIOMASSA DE BRIÓFITAS COMO AGENTE FITORREMEIADOR EM SOLUÇÕES CONTAMINADAS POR METAIS E NUTRIENTES E MÉTODO DE OBTENÇÃO DAS BIOMASSAS SECA E ÚMIDA”, a qual foi depositada junto ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) em 23/10/2018, constituindo este o primeiro depósito de patente do Centro de Estudos Limnológicos Marinhos e Costeiros (CECLIMAR) e da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (Uergs).

A partir deste trabalho constatamos que as pesquisas nesse campo de estudo podem e devem ser ampliadas visando a obtenção de respostas mais aprofundadas com relação a testes que não foram passíveis de aplicação durante o decorrer deste trabalho, em função do tempo disponível para execução, da viabilidade de recursos financeiros e dos poucos dados prévios acerca do tema. Com isso, algumas questões ficam em aberto para desenvolvimentos futuros, como:

- ensaios com aplicação de outros metais e/ou contaminantes orgânicos e inorgânicos em solução;
- testes de sinergia, com experimentos que contenham ao mesmo tempo mais de uma espécie de briófitas;
- análise das plantas para verificar a quantidade de metais presentes naturalmente nas mesmas;
- como as espécies reagem, metabólica, morfológica e fisiologicamente aos metais a que são expostas;
- verificar se há algum tipo de seletividade na absorção de contaminantes presentes em uma mesma solução, caso mais próximo da realidade ambiental;
- qual o ponto de saturação dos testes, a melhor quantidade de biomassa a ser empregada e o tempo ideal de exposição;
- realização de maior quantidade de testes com reuso das biomassas, testando também ciclos de eliminação dos metais e o possível reaproveitamento dos mesmos, tanto para casos de biomassa seca quanto úmida.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-BAKI, A. S., DKHIL, M. A., AL-QURAI SHY, S. Bioaccumulation of some heavy metals in tilapia fish relevant to their concentration in water and sediment of Wadi Hanifah, Saudi Arabia. *African Journal of Biotechnology*. v. 10, n. 13, p. 2541-2547, 2011. ISSN: 1684-5315
- AKSU, Z. Biosorption of heavy metals by microalgae in batch and continuous systems. In: *Wastewater Treatment with Algae*, WONG Y. S., TAM, N. F. Y. Springer. p. 37-53, 1998.
- ALI, H., KHAN, E., SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals – Concepts and applications. *Chemosphere*. v. 91, p. 869-881, 2013.
- ASSIS, L. R. Avaliação do Impacto em Corpos D'água Devido ao Lançamento de Resíduos de uma Estação de Tratamento de Água de Juiz de Fora – MG. Monografia (Bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária). Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, 2014.
- ATSDR – Agency for Toxic Substances and disease Registry. Toxicological profile for chromium. U.S. Department of Health and Human Services - Public Health Service. 502 p. 2012.
- AVENANT-OLDEWAGE, A. & MARX, H. M. Bioaccumulation of chromium, copper and iron in the organs and tissues of *Clarias gariepinus* in the Olifants River, Kruger National Park. *Water SA*. South Africa. v. 26, n. 4, p. 569-582, 2000. ISSN 0378-4738
- BAKER, A. J. M. & BROOKS, R. R. Terrestrial Higher Plants which Hyper-accumulate Metallic Elements – A Review of their Distribution, Ecology and Phytochemistry. *Biorecovery*. v. 1, p. 81-126, 1989
- BARBOSA, F. S. & CARVALHO, M. A. S. Análise Cienciométrica da Utilização de Briófitas como Bioindicadores. *Journal of Bryology*. v. 28, n. 1, p. 34-47, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.17058/cp.v28i1.4596>
- CARGINALE, V., SORBO, S., CAPASSO, C., TRINCHELLA, F., VAFIERO, G. & BASILE, A. Accumulation, localisation, and toxic effects of cádmium in the liverwort *Lunularia cruciata*. *Protoplasma*. n. 223, p. 53-61, 2004. DOI 10.1007/s00709-003-0028-0
- CONSEMA – Conselho Estadual de Meio Ambiente. Resolução nº 128, de 24 de novembro de 2006. Dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. 2006.
- COSTA, D. J. L. & TEIXEIRA, D. Aplicação de Modelo de Autodepuração para Avaliação da Qualidade da Água do Ribeirão do Ouro, Araraquara-SP. *Revista Uniara*. v. 13, n. 1, p. 49-62, 2010.
- CRUM, H. & BUCK, W.R. A contribution to the Sphagnum (Sphagnaceae) flora of Paraguay. *Brittonia* vol. 40, n. 2, p. 188-194, 1988.
- DARIVA, F. G. Qualidade da Água para Consumo Humano e seus Resíduos em Tramandaí, RS. Imbé, 2011. 36 p. Monografia (Graduação) – Universidade Estadual do Rio Grande do

Sul e Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Bacharel do Curso de Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira, Imbé, 2011.

ENGLEMAN, C. J. & McDIFFETT, W. F. Accumulation of aluminum and iron by briophytes in streams affected by acid-mine drainage. *Environmental Pollution*. v. 94, n. 1, p. 67-74, 1996. doi:10.1016/s0269-7491(96)00055-3

ESPOSITO, S., SORBO, S., CONTE, B., & BASILE, A. Effects of Heavy Metals on Ultrastructure and HSP70S Induction in the Aquatic Moss *Leptodictyum riparium* Hedw. *International Journal of Phytoremediation*. v. 14, p. 443-455, 2012. DOI: 10.1080/15226514.2011.620904

FRAHM, J. P. *Manual of Tropical Bryology*. *Tropical Bryology*. v. 23, 196p, 2003.

GODOI, A. F. L., FAVORETO, R., SANTIAGO-SILVA, M. Contaminação Ambiental por Compostos Organoestânicos. *Química Nova*. v. 26, n. 5, 2003. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422003000500015>

GUILHERME, L. R. G., MARQUES, J. J., PIERANGELI, M. A. P., ZULIANI, D. Q., CAMPOS, M. L. & MARCHI, G. Elementos-traço em solos e sistemas aquáticos. *Tópicos em Ciência do Solo*. v. 4, p. 345-390, 2005.

HETTICK, B. E., CAÑAS-CARRELL, J. E., FRENCH, A. D., KLEIN, D. M. Arsenic: A Review of the Element's Toxicity, Plant Interactions, and Potential Methods of Remediation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 63, n. 32, p. 7097-7107, 2015. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b02487

ITOUGA, M., HAYATSU, M., SATO, M., TSUBOI, Y., KATO, Y., TOYOOKA, K., SUZUKI, S., NAKATSUKA, S., KAWAKAMI, S., KAKUCHI, J., SAKAKIBARA, H. Protonema of the moss *Funaria hygrometrica* can function as a lead (Pb) adsorbent. *PLOS ONE*. v. 12, n. 12, p. 1-19, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189726>

KLOS, A., RAJFUR, M., WACLAWEK, M. Application of enrichment factor (EF) to the interpretation of results from the biomonitoring studies. *Ecological Chemistry and Engineering*. v. 18, n. 2, p. 171-183, 2011.

KRONESTEDT, E. Anatomy of *Ricciocarpus natans* (L.) Corda, Studied by Scanning Electron Microscopy. *Annals of Botany*. v. 47, n. 6, p. 817-827, 1981. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a086081>

LISBOA, R. C. L. & ILKIU-BORGES, A. L. Diversidade das Briófitas de Belém (PA) e seu Potencial como Indicadoras de Poluição Urbana. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Botânica*. n. 11, p. 199-225, 1995.

LONG, D. *Ricciocarpos natans*. In: ATHERTON, I., BOSANQUET, S. & LAWLEY, M. *Mosses and Liverworts of Britain and Ireland: a field guide*. British Bryological Society. p. 260, 2010. ISBN 978-0-9561310-1-0

MARTINS, R. J. E. Acumulação e liberação de metais pesados por briófitas aquáticas. 2004. 588 f. Dissertação (Doutorado) – Universidade do Porto. Faculdade de Engenharia. Departamento de Engenharia Química, Portugal, 2004.

NAGALLI, A. & NEMES, P. D. Estudo da Qualidade de Água de Corpo Receptor de Efluentes Líquidos Industriais e Domésticos. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais*. v. 7, n. 2, p. 131-144, 2009.

NRIAGU, J. O. & PACYNA, J. M. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*. v. 333, n. 6169, p. 134-139, 1988. DOI: 10.1038/333134a0

OMS - Organização Mundial da Saúde. *Environmental Health Criteria 61: Chromium - International Programme on Chemical Safety*. Geneva, 1988.

OMS - Organização Mundial da Saúde. 571. Iron (WHO Food Additives Series 18). *IPCS Inchem*. 2017.

PIRES, K. A. D., LACERDA, N. M., PANIAGUA, C. E. S. & AMORIM, E. Estudo das capacidades de adsorção dos metais pesados Cd, Cu, Cr e Pb sobre adsorventes naturais (Moringa oleífera e argila) – Efeito da massa do adsorvente, do tempo de contato e sinergia. In: IX Encontro Interno & XIII Seminário de Iniciação Científica, 2009. Minas Gerais: Universidade Federal de Uberlândia, p. 1-10, 2009.

PRASAD, M. N. V. & FREITAS, H. M. O. Metal hyperaccumulation in plants – Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*. v. 6, n. 3, 2003. DOI: 10.2225/vol6-issue3-fulltext-6

ROCHA, C. H. B., FERREIRA, R. C., ALONSO, M., OLIVEIRA, M. Capacidade de Resiliência da Represa de São Pedro, Juiz de Fora (MG), Brasil. In: III Simpósio de Recursos Hídricos da Bacia do Rio Paraíba do Sul, 2018. Minas Gerais: Universidade Federal de Juiz de Fora, p. 1-10, 2018.

SAXENA, A., SAXENA, D. K. & SRIVASTAVA, H. S. The Influence of Glutathione on Physiological Effects of Lead and its Accumulation in Moss *Sphagnum squarrosum*. *Water, Air, and Soil Pollution*. v. 143, p. 351-361, 2003.

SHARP, A.J., CRUM, H. & ECKEL, P. The Moss Flora of Mexico. *Memoirs of The New York Botanical Garden*. v. 69, 1113p, 1994.

SILVA, L. M. Metais pesados em tecidos de *Chelonia mydas* encalhadas no litoral do Rio Grande do Sul. Imbé, 2011. 38 p. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Estadual do Rio Grande do Sul. Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira, Imbé, 2011.

SILVA, L. N., SOUZA, C. A., BRESOLIN, M., AZEVEDO, G., SEMENSATTO, S. Manual de Trabalhos Acadêmicos e Científicos: Orientações práticas à comunidade universitária da UERGS. Universidade Estadual do Rio Grande do Sul. 150 p. 2013.

SINGH, R., SINGH, S., PARIHAR, P., SINHG, V. P., PRASAD, S. M. Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. v. 112, p. 247-270, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.10.009>

TAVARES, S. R. L. Técnicas de Remediação. In: _____. *Remediação de Solos e Águas Contaminadas por Metais Pesados: Conceitos Básicos e Fundamentos*. Rio de Janeiro: Embrapa Solos (CNPS), 2013, p. 61-89.

- VUKOJEVIC', V., SABOVLJEVIC', M. & JOVANOVIC', S. Mosses accumulate heavy metals from the substrata of coal ash. *Archives of Biological Sciences*. v. 57, n. 2, p. 101-106, 2005.
- WATANABE, M. E. Phytoremediation on the Brink of Commercialization. *Environmental Science & Technology*. v. 31, n. 4, p. 182-186, 1997.
- XU, J., BRAVO, A. G., LAGERKVIST, A., BERTILSSON, S., SJÖBLÖM, R., KUMPIENE, J. Sources and remediation techniques for mercury contaminated soil. *Environment International*. v. 74, p. 42-53, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.09.007>
- XU, Y. Y., ZHEN, Y. Y., YU, J., GUO, S. L. & CAO, T. Experimental Studies on the Potential of Two Terrestrial Mosses in Monitoring Water Contaminated by Cd and Cr. *Polish Journal of Environmental Studies*. v. 21, n. 5, p. 1453-1459, 2012.
- ZECHMEISTER, H. G., GRODZINSKA, K., SZAREK-LUKASZEWSKA, G. (2003). Bryophytes. - In: MARKERT, B. A., BREUERE, A. M. AND ZECHMEISTER, H. G. *Bioindicators & Biomonitors – Principles, Concepts and Applications*. Elsevier Science, 329-375.

ANEXO A - Tabela Art. 10 da Resolução CONSEMA 128/2006 que dispõe sobre os padrões de emissão de efluentes líquidos em águas superficiais, direta ou indiretamente.

Alumínio Total	10 mg Al/L
*Arsênio total	0,1 mg As/L
Bário total	5,0 mg Ba/L
Boro total	5,0 mg B/L
*Cádmio total	0,1 mg Cd/L
*Cianeto total	0,2mg CN/L
Cobalto total	0,5 mg Co/L
*Cobre Total	0,5mg Cu/L
Cor	não deve conferir mudança de coloração (cor verdadeira) ao corpo hídrico receptor.
*Cromo hexavalente	0,1 mg Cr ⁺⁶ /L
*Cromo total	0,5 mg Cr/L
*Chumbo total	0,2mg Pb/L
Espumas	virtualmente ausentes
Estanho total	4,0 mg Sn/L
Fenóis total (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	0,1 mg/L
Ferro Total	10 mg Fe/L
Fluoreto	10 mg F/L
Lítio total	10 mg Li/L
Manganês Total	1,0 mg Mn/L
Materiais flutuantes	ausentes
*Mercúrio total	0,01 mg Hg/L
Molibdênio total	0,5 mg Mo/L
Níquel total	1,0 mg Ni/L
Odor	livre de odor desagradável.
Óleos e Graxas: Mineral	≤ 10 mg/L
Óleos e Graxas: Vegetal ou Animal	≤ 30 mg/L
pH	entre 8,0 e 9,0
Prata total	0,1 mg Ag/L
*Selênio total	0,05 mg Se/L
Sólidos Sedimentáveis	≤ 1,0 ml/L em teste de 1 (uma) hora em Cone Imhoff
Substâncias tenso-ativas que reagem ao azul de metileno	2,0 mg MBAS/L
Sulfeto	0,2 mg S ⁻² /L
Temperatura	< 40° C
Vanádio total	1,0 mg V/L
Zinco total	2,0 mg Zn/L