



X Congresso Brasileiro de Engenharia Química Iniciação Científica

“Influência da pesquisa em Engenharia Química no desenvolvimento tecnológico e industrial brasileiro”

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Universidade Severino Sombra
Vassouras – RJ – Brasil

AValiação da Influência do Fósforo na Bioacumulação do Chumbo PELA *Eichhornia crassipes*

**A.P OLIVEIRA¹; F.R ESPINOZA-QUIÑONES¹; A.N MÓDENES¹;
M.E BRAGIÃO²; I.G.O. BEZERRA²**

⁽¹⁾Docente - DEQ/NBQ/UNIOESTE; ⁽²⁾Acadêmica de Iniciação científica - DEQ/NBQ/UNIOESTE;
Departamento de Engenharia Química

Núcleo de Biotecnologia e desenvolvimento de processos Químicos - UNIOESTE
Rua da Faculdade, 645, Toledo - Pr – CEP 85903-000 - e-mail: anaoliveiraeq@gmail.com

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do macronutriente fósforo no processo bioacumulação de chumbo, usando a macrófita aquática *Eichhornia crassipes*. Preparou-se diversas soluções de cultivo baseado no conjunto de macro e micronutrientes especificado na solução hidropônica de Clark, contendo ainda chumbo (0, 5, 10, 15 e 20 mg L⁻¹) e fósforo (uma, duas, quatro e oito vezes 3,2 mg L⁻¹) em diferentes concentrações. Em estufa, aproximadamente 80 g da *E. crassipes* viva e saudável, foram cultivadas em 5 L de solução de crescimento, restaurando-se as condições iniciais da solução a cada dois dias. Após o tempo de cultivo (2, 4, 8, 16 e 32 d), amostras da planta (raízes e folhas) foram coletadas, separadas, secas e digeridas para posterior análise por SR-TXRF, exceto para o fósforo, determinado pelo método colorimétrico com amarelo de vanadato. De acordo com os resultados obtidos, a sorção de íons de chumbo nas raízes e folhas das *Eichhornia crassipes* foi ligeiramente favorecida pela presença de altas concentrações de fósforo na solução de cultivo. Além disso, as concentrações elevadas de chumbo na solução influenciaram negativamente no acúmulo de fósforo nas folhas, no entanto, não foi observada relação significativa entre os elementos nas raízes da planta.

Palavras chave: METAIS, MACRONUTRIENTES, MACRÓFITAS AQUÁTICAS.

INTRODUÇÃO

A preocupação com a poluição da água pelo descarte de efluentes contendo metais pesados vem crescendo muito, por estes apresentarem diversos efeitos nocivos ao meio ambiente e prejuízos a saúde humana. Dentre esses metais, o chumbo (Pb) destaca-se pela sua elevada toxicidade, sendo encontrado em efluentes de indústrias de tintura de têxteis,

indústrias de cerâmica, refino de petróleo, fabricação de baterias e mineração (Espinoza-Quíñones *et al.* 2009[a]).

Atualmente, vários métodos estão disponíveis para a remoção de metais de águas, tais como troca iônica, osmose reversa, eletrólise, evaporação, precipitação química, adsorção, entre outros. No entanto, a aplicação destes processos apresenta restrições técnico-financeiras por reportarem elevados custos e

não serem eficientes na remoção de metais em baixas concentrações, fazendo-se necessário o desenvolvimento de métodos alternativos (Feng *et al.*, 2011; Kul e Koyuncu, 2010). Neste âmbito, a fitorremediação tem se destacado como uma potencial alternativa no polimento de efluentes (Singh *et al.*, 2012). Esta tecnologia é baseada na capacidade das plantas de depuração de águas contaminadas mediante a adsorção/remoção dos elementos contaminantes por processos físico, químico ou biológico, e acumulá-los em seus tecidos. Dentre as plantas utilizadas, a macrófita aquática *Eichhornia crassipes* é reconhecida como potencial fitorremediador (Agunbiade *et al.*, 2009; Espinoza-Quiñones *et al.*, 2009[b]).

No intuito de entender os processos de adsorção de metais pelas plantas, bem como a compreensão de como pode ser incrementada a eficiência de remoção, deve-se considerar a presença de outros elementos (macro ou micronutrientes) que possam interferir favorável ou desfavoravelmente na remoção/acumulação dos contaminantes, dentro de um meio hidropônico de cultivo.

Dentre os elementos comumente presentes no meio natural de cultivo de plantas pode-se citar o fósforo (P), que apresenta-se como um nutriente essencial, e muitas vezes limitante, para o crescimento das plantas atuando principalmente na produção de energia para a planta. Dessa maneira, podem exercer considerável influência sobre o acúmulo de metais e seus mecanismos tornam-se relevantes na análise de plantas como materiais acumuladores, baseado na interação entre P com os metais.

Desta forma, o objetivo principal deste trabalho foi verificar se há influência de nutrientes, como o fósforo, na adsorção do chumbo pela macrófita *E. crassipes*, e ainda se a presença de chumbo na solução de cultivo interfere na adsorção de nutrientes como o fósforo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo e cultivo da *Eichhornia crassipes*

Foram preparadas várias soluções de cultivo com base no conjunto de macro e micronutrientes especificado por Clark como sendo adequado para cultivar plantas em

condições de hidroponia, contendo ainda uma mistura de solução de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (0, 5, 10, 15 e 20 mg L^{-1} de Pb) e fósforo (uma, duas, quatro e oito vezes 3,2 mg L^{-1}), com os outros nutrientes fundamentais em concentrações constantes. As soluções de macronutrientes foram preparadas a partir de compostos de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, KNO_3 , KCl , NH_4NO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1M), e $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.023M), enquanto que as soluções de micronutrientes foram preparadas usando H_3BO_3 , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, e $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ nas concentrações de 19, 2, 0.086, 0.5, 7, 40 mM respectivamente (Clark, 1975).

Os experimentos de bioacumulação de Pb pela macrófita foram realizados em casa de vegetação, na qual foram dispostos 75 recipientes plásticos contendo 5 L de solução de Clark modificada e dopada com Pb. Estes recipientes foram divididos em 15 composições da solução, cada uma com 5 réplicas. Aproximadamente 80 g da *E. crassipes* vida e saudável, foram colocadas a crescer em cada tipo de solução de crescimento.

As condições iniciais hidropônicas e de concentração de metal foram restauradas através da troca da solução de cultivo a cada dois dias. No início e no fim do período de cultivo foi ainda verificado o peso da planta, a temperatura e o pH da solução. Após o tempo de cultivo pre definido (2, 4, 8, 16 e 32 d), amostras de solução de cultivo e planta foram coletadas para posterior análise das concentrações de Pb e de nutrientes.

Determinação das concentrações

Após o término do período de cultivo, as amostras de planta foram pesadas, para verificação da variação de massa da planta, e então as folhas e raízes da macrófita foram colocadas a secar em estufa, a 40°C até verificação de massa constante. Após secas, folhas e raízes foram trituradas. Com a biomassa seca e moída, fez-se a digestão de 0,5 gramas de macrófita e 0,5 mL de peróxido de hidrogênio 35% e 5 mL de ácido nítrico 65%. A digestão foi feita em bloco digestor a 150°C por 8 horas. Para uniformizar o resíduo da digestão, fez-se a diluição deste a 10 mL com água Mili-Q. A uma alíquota de 900 μL de amostra digerida adicionou-se 100 μL de

solução padrão de Gálio a 1000 mg L⁻¹. Para as amostras da fase fluida (solução de cultivo), a alíquota de amostra foi de 2 mL e 20 µL de solução padrão de Gálio.

Em seguida foram preparadas duplicatas dos refletores de acrílico contendo as amostras, os quais foram irradiados para determinação da concentração de Pb e demais elementos presentes nas amostras. Os refletores foram previamente limpos e então pipetou-se no centro deste 5 µL de amostra, sendo estes secos em capela de fluxo laminar. As amostras foram analisadas pela técnica da fluorescência de raios X por Reflexão Total utilizando Luz Síncrotron (SR-TXRF), instalada na linha de luz D09-XRF, do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron - LNLS, localizado em Campinas - SP. Os refletores-amostras foram irradiados sob reflexão total por um feixe policromático de raios X, na faixa de 2 a 20 keV, extraído da fonte de Luz Síncrotron, sendo os raios X detectados por um detector Si(Li). De cada acrílico-amostra foi gerado um espectro SR-TXRF, sendo as intensidades de pico das linhas K, L e M calculadas pelo ajuste dos espectros com o programa AXIL (3.6 version).

Para determinação da concentração elementar na fase aquosa (solução nutritiva, raízes ou folhas digeridas) utilizou-se a Equação (1). No entanto, a determinação da concentração dos elementos presentes nas amostras de planta na fase sólida foi feita pela Equação (2).

$$C_{FL}(mg.L^{-1}) = \frac{I_i}{I_{Ga}} \cdot \frac{C_{Ga}}{S(Z)} \quad (1)$$

$$C_{FS}(mg.g^{-1}) = C_{FL} \cdot \frac{V}{M} \quad (2)$$

onde I_i representa a intensidade fluorescente do elemento, C_{FL} a concentração do elemento na fase líquida, C_{Ga} a concentração de Gálio, S a sensibilidade relativa do elemento, C_{FS} a concentração do elemento na fase sólida, M a massa de planta seca digerida e V o volume de diluição após a digestão.

Embora a técnica TXRF permita detectar o elemento P, dada sua baixa sensibilidade nessa região do espectro, os resultados obtidos por esta técnica não foram confiáveis. Dessa forma, a concentração de P total presente na

Eichhornia crassipes, foi determinada pelo método colorimétrico com amarelo de vanadato (Malavolta *et al.*, 1997).

Para determinação da concentração de P na amostra fez-se a digestão nítrico perclórica das folhas e raízes da *E. crassipes*, consistindo em digerir 0,5 gramas de biomassa seca e moída, com 6 mL de uma mistura de HNO₃ e HClO₄ na proporção de 2:1 (v/v). A digestão foi realizada em bloco digestor inicialmente a 160°C e após redução de 50 % do volume, com acréscimo de temperatura para 210°C até obtenção de um extrato incolor. Ao resíduo da digestão adicionou-se água deionizada perfazendo 50 mL. Fez-se então a leitura das amostras em espectrofotômetro UV-Vis em comprimento de onda de 420 nm. As amostras analisadas consistiram de 1 mL do extrato, 4 mL de água destilada e 2 mL do reativo composto por parte iguais de solução de molibdato de amônio a 5% e metavanato de amônio a 0,25%. A concentração de P nas plantas foi correlacionada com uma curva analítica padrão de dihidrogenofosfato de potássio, sendo determinada pela Equação (3).

$$C_p(mg.g^{-1}) = \frac{0,05.C(\mu g / 5mL)}{M} \quad (3)$$

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Comportamento da biomassa durante o período de cultivo

Na Figura 1 apresenta-se os resultados obtidos para o desenvolvimento da macrófita empregando-se diferentes concentrações de Pb na solução de cultivo e mantida a concentração hipotética de P constante em 3,2 mg L⁻¹.

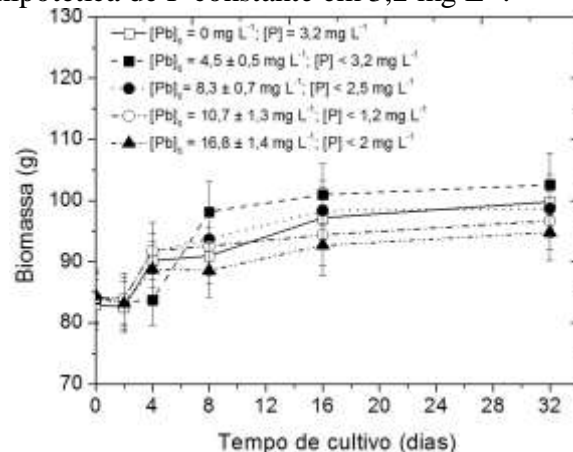


Figura 1 – Comportamento da planta durante o período de cultivo para diferentes concentrações de Pb e concentração de P constante.

A variação na concentração de P para cada dose de metal, apresentada na Figura 1, deve-se ao fato que a presença de íons PO_4^{4-} e Pb^{2+} em solução promoveram a formação de precipitado, na faixa de pH de trabalho (3,7 a 4,3). No entanto, todos os resultados apresentados neste estudo já levam em conta a formação de espécies insolúveis, de forma que as concentrações tanto de Pb como de P representam a concentração disponível em solução para o processo de adsorção.

Embora o metal Pb seja tóxico para organismos vivos como a *Eichhornia crassipes*, as concentrações de metal empregadas neste estudo não alcançaram doses letais à planta, não se verificando morte ou sinais de clorose nas mesmas. No entanto, como observado na Figura 1, houve redução nas taxas de crescimento devido à disponibilização de maiores concentrações de Pb na solução de cultivo.

Segundo Pinho e Ladeiro (2012), o Pb influencia negativamente o crescimento da planta através da redução da absorção e transporte de nutrientes, tais como Ca, Fe, Mg, Mn, P, e Zn, atuando no bloqueio da entrada ou ligação dos íons o que os torna indisponíveis para a absorção e transporte das raízes para as folhas. Assim, o Pb interfere em vários processos fisiológicos e bioquímicos, sendo a fotossíntese um dos mais afetados.

Avaliação da influência da concentração de Pb em solução de cultivo na adsorção de P pela *E. crassipes*

A composição do meio de cultivo escolhida para avaliar o comportamento da

concentração do nutriente em estudo consistiu de disponibilização dos macro e micronutrientes em concentrações definidas pela solução de Clark e diferentes concentrações de Pb (Figura 2).

Na Figura 2(a), verificou-se que o aumento da concentração de Pb na fase aquosa não alterou significativamente a concentração de P nas raízes da planta. O comportamento distinto para concentração de $4,5 \pm 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Pb, pode ser explicado pelo crescimento superior da macrófita neste experimento, como verificado na Figura 1. Tendo em vista, que o ganho de massa da planta foi superior, consequentemente o P distribuiu-se em uma maior quantidade de biomassa, reduzindo-se sua concentração. Dessa forma, não é possível afirmar influência da concentração de metal na redução nos níveis de P nas raízes da planta.

Por outro lado, no caso das folhas da *E. crassipes* (Figura 2(b)), a presença de concentrações mais elevadas de Pb na fase líquida, propiciaram ligeira redução na concentração de P na parte aérea da planta. Esse comportamento pode ser um indicativo da impossibilidade da translocação do P para a parte aérea da macrófita na presença de metal em concentrações mais elevadas.

Esta relação prejudicial pode estar aliada ao fato de o Pb se ligar com o P presente na raiz, ficando imobilizado nesta região. Dessa forma, com o passar do tempo de cultivo, como o P não consegue se deslocar para as folhas, começa haver redução deste na parte aérea, visto que este nutriente está envolvido com o processo de fornecimento de energia a planta e é continuamente consumido por esta.

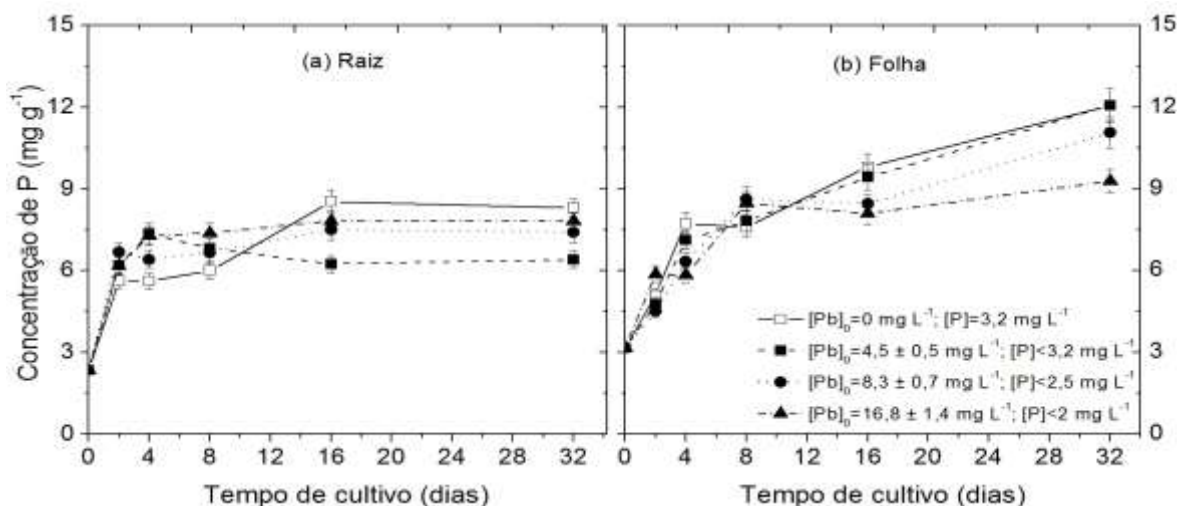


Figura 2 - Avaliação da concentração do nutriente P nas (a) raízes e (b) folhas da *E. crassipes* em função do tempo para diferentes concentrações de Pb.

Entretanto, não foi possível obter o esclarecimento de qual o mecanismo desta interação, havendo a necessidade de aplicação de técnicas mais adequadas para determinação dos grupos funcionais disponíveis na estrutura interna da planta e alguma possível ligação com os íons P ou Pb. Além disso, o melhor entendimento das funções biológicas da planta propiciaria a definição de quais os efeitos, do ponto de vista fisiológico, da exposição da *E. crassipes* a elevados níveis de P e Pb.

Avaliação da influência da concentração de fósforo em solução de cultivo na adsorção de chumbo pela *E. crassipes*

Na Figura 3 apresenta-se o comportamento obtido para a concentração de chumbo nas partes da planta ao longo do período de cultivo, com concentração de chumbo na fase líquida de $7,2 \pm 1,2 \text{ mg L}^{-1}$, sendo testadas diferentes concentrações de fósforo em solução.

Como observado na Figura 3 (a), a disponibilização de P em excesso na solução de cultivo, mantendo-se a concentração de metal na fase fluida constante, favoreceu a adsorção de Pb nas raízes da macrófita. Dessa forma, pode-se supor que há relação favorável entre este macronutriente e o metal avaliado durante o processo de captura destes íons da solução.

Porém, este comportamento não foi reproduzido para as folhas, visto que não foi verificada influência significativa na bioacumulação do Pb pela presença de maiores concentrações de P em solução. Dessa forma, não se pode esperar que a maior concentração de metal adsorvida nas raízes promova a presença de maiores concentrações do Pb

translocadas para a parte aérea da planta.

A adsorção de elementos metálicos pelas raízes é facilitada por mecanismos próprios de transporte e acumulação, pois vários metais são necessários às plantas como micronutrientes. No entanto, a planta não pode evitar a entrada de elementos tóxicos pelos mesmos mecanismos (Valitutto, 2004).

Pesquisadores como Pinho e Ladeiro (2012) e Peralta-Videa *et al.* (2009) também reportaram o maior acúmulo de chumbo nas raízes, sendo citado pelos autores que como a maior parte do Pb absorvido permanece nas raízes, esta por sua vez atua como primeira barreira para a translocação de Pb para a parte aérea da planta. Uma vez no interior das raízes, a maior parte do Pb apresenta-se sob a forma de íons ligados nas paredes celulares e precipitado extracelular de fosfato, sulfato e carbonato, íons estes normalmente encontrados na rizosfera das plantas ou ainda no caso deste estudo, fornecidos na solução hidropônica. O Pb não ligado é movido por meio de canais de transporte de nutrientes e se acumula próximo a endoderme.

Comparando-se os resultados apresentados na Figura 3 (a) e (b), como o aumento do Pb adsorvido nas raízes devido o aumento da concentração de P na solução não representa aumento de metal nas folhas, sugere-se que o chumbo se liga ao fósforo na estrutura das células das raízes, havendo a precipitação do composto formado por esses elementos na parte radicular da planta, o que impossibilita o seu transporte para as folhas.

Esse fato pode ser atribuído à elevada concentração do P na água de cultivo relativo à quantidade requerida pelo metabolismo da planta. Como as plantas necessitam apenas de

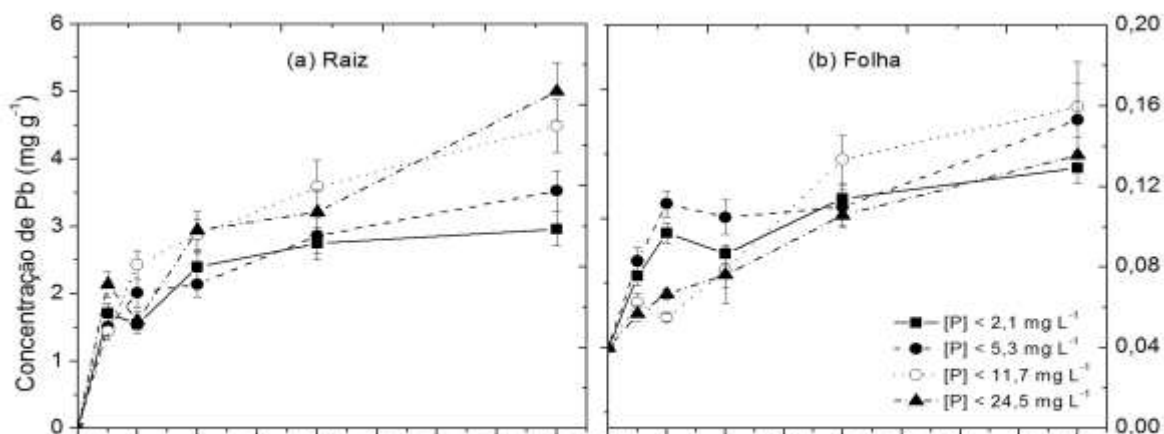


Figura 3 - Avaliação da concentração de Pb nas (a) raízes e (b) folhas da *E. crassipes* em função do tempo para diferentes concentrações de P.

pequena quantidade para o seu desenvolvimento, a tendência é que este nutriente seja adsorvido pela planta e se acumule na parte radicular, em função da quantidade biodisponível, porém sendo transportado para as folhas somente a quantidade consumida nos processos metabólicos da planta. Neste sentido, cita-se a possibilidade do Pb ser carregado para a parte aérea pela mesma rota que o macronutriente em estudo.

CONCLUSÕES

Quanto a capacidade de adsorção de chumbo, pode-se concluir pelos resultados obtidos que a presença de excesso do nutriente fósforo na fase aquosa contribui para um leve favorecimento no processo de adsorção dos íons Pb para as raízes da planta. Este comportamento, entretanto, não foi observado para as folhas da macrófita, mostrando que o chumbo adsorvido em maior proporção na raiz pela presença de maiores níveis de fósforo, não é translocado em maiores níveis para as folhas em função do aumento da concentração de fósforo.

No caso da influência do metal no acúmulo de P na macrófita, não foi observada relação significativa entre os elementos nas raízes da planta. Porém para as folhas constatou-se ligeira redução nos níveis de P pela presença de maiores níveis de Pb em solução.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUNBIADE, F. O.; OLU-OWOLABI, B. I.; ADEBOWALE, K. O.; Phytoremediation potential of *Eichornia crassipes* in metal-contaminated coastal water. *Bioresource Technology*; v. 100; p. 4521–4526; 2009.

CLARK, R. B.; Characterization of phosphates in intact maize roots. *Journal Agriculture Food Chemistry*; v. 23; p. 458-460; 1975.

ESPINOZA-QUÍÑONES, F.R., MODENES, A.N., THOME, L.P., PALACIO, S.M., TRIGUEROS, D.E.G., OLIVEIRA, A.P., SZYMANSKI, N.; Study of the bioaccumulation kinetic of lead by living aquatic macrophyte *Salvinia auriculata*.

Chemical Engineering Journal; v. 150; p. 316–322; 2009 [a].

ESPINOZA-QUÍÑONES, F.R.; RIZZUTTO, M.A.; ADDED, N.; TABACNIKS, M.H.; MÓDENES, A.N.; PALÁCIO, S.M.; SILVA, E.A.; ROSSI, F.L.; MARTIN, N.; SZYMANSKI, N.; PIXE analysis of chromium phytoaccumulation by the aquatic macrophytes *Eichornia crassipes*. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. B*; v. 267; p. 1153–1157; 2009. [b]

FENG, N.; GUO, X.; LIANG, S.; ZHU, Y.; LIU, J.; Biosorption of heavy metals from aqueous solutions by chemically modified orange peel. *Journal of Hazardous Materials*; v. 185; p. 49–54; 2011.

KUL, A. R.; KOYUNCUB, H.; Adsorption of Pb(II) ions from aqueous solution by native and activated bentonite: Kinetic, equilibrium and thermodynamic study. *Journal of Hazardous Materials*; v. 179; p. 332–339; 2010.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A.; Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2a Edicao, Piracicaba. Potafos. 1997.

PERALTA-VIDEA, J. R.; LOPEZ, M. L.; NARAYAN, M.; SAUPE, G.; GARDEA-TORRESDEY, J.; The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain; *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*; v. 41; p. 1665–1677; 2009.

PINHO, S.; LADEIRO, B.; Phytotoxicity by Lead as Heavy Metal Focus on Oxidative Stress; *Journal of Botany*; v. 2012; ID 369572; 10 pages; 2012.

SINGH, D.; TIWARI, A.; GUPTA, R.; Phytoremediation of lead from wastewater using aquatic plants; *Journal of Agricultural Technology*; v. 8; p. 1-11; 2012.

VALITUTTO, R. S.; Acumulação de poluentes inorgânicos por macrófitas aquáticas nos reservatórios de Santana e Vigário, Barra do Piraí-RJ. Universidade Federal Fluminense. Dissertação (Mestrado em Química). Niterói-RJ. 2004.