

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MESTRADO EM BIOQUÍMICA

USO DAS MACROALGAS VERMELHAS (*Gracilaria lemaneiformis* e *Hypnea musciformis*) COMO ESPÉCIES BIOINDICADORAS DA POLUIÇÃO POR METAIS PESADOS

Rosa Cristina César Guedes

Orientadora: **Profª Dra. Valdinete Lins da Silva**

Co-Orientadoras: **Profª Dra. Rosa Amélia Fireman Dutra**

Profª Dra. Silvana Carvalho de Souza Calado

Recife/2007

Rosa Cristina César Guedes

**USO DAS MACROALGAS VERMELHAS (*Gracilaria lemaneiformis* e
Hypnea musciformis) COMO ESPÉCIES BIOINDICADORAS DA
POLUIÇÃO POR METAIS PESADOS**

Dissertação apresentada para o
cumprimento parcial das
exigências para obtenção do título
de Mestre em Bioquímica pela
Universidade Federal de
Pernambuco.

Recife/2007

Guedes, Rosa Cristina César

Uso das macroalgas vermelhas (*Gracilaria lemaneiformis* e *hypnea musciformis*) como espécies bioindicadoras da poluição por metais pesados / Rosa Cristina César Guedes. – Recife: A Autora, 2007.

35 folhas : il., fig., map., Graf., tab.

Monografia (Mestrado) – UFPE. CCB. Bioquímica, 2007.

1. Metais pesados. 2. Bioindicadores. 3. Poluição. I. Título.

504

CDU (2.ed.)

UFPE

577

CDD (22.ed.)

CCB – 2007-044

Dedico este trabalho aos meus amores
Roger, Raquel e Regi.

AGRADECIMENTOS

- Primeiramente ao Senhor meu Deus pela oportunidade de viver e pelas bênçãos que me tem concedido.
- Aos meus pais Lúcia e Natanael Guedes por me conduzirem na vida.
- A minha irmã Luciana Caravelas por sempre me incentivar nos estudos e por me ensinar às tarefas escolares.
- Ao meu marido Reginaldo pelo apoio e incentivo a realização deste trabalho.
- As minhas cunhadas Ana e Ângela Mary, e a minha sogra Dona Mary, pelos cuidados para com meus filhos, Roger e Raquel, na minha ausência.
- A Universidade de Pernambuco e ao Centro Integrado de Saúde de Medeiros pelo incentivo, investimento e apoio que proporcionam aos seus funcionários para se especializarem.
- A Universidade Federal de Pernambuco por proporcionar o Curso de Mestrado em Bioquímica, de fundamental importância para os profissionais da Área de Ciências da Saúde e Ciências Biológicas.
 - A minha orientadora Profa. Valdinete Lins da Silva pelo projeto, pela valiosa orientação científica e pela dedicação a este trabalho.
 - A Profa. Silvana Calado pela colaboração na realização da coleta das algas, pela fundamental orientação científica e apoio técnico durante todas as fases da pesquisa.
 - A Profa. Rosa Fireman pela atenção e colaboração em todo trabalho.

- A Profa. Adilma Montenegro Cocentino pela atenção e pela avaliação das espécies de algas, sem a qual não seria possível a realização deste trabalho.
- Aos senhores Romário da Silva Costa e Daniel Gago pela ajuda na coletas das algas.
- Ao Colega de Curso Igor Teixeira e a Profa. Vera Menezes pelo incentivo durante a realização do Mestrado.
- Aos colegas do Laboratório de Engenharia Ambiental e Qualidade: Ana e André pelo suporte técnico na realização das determinações dos metais no Espectro de Absorção Atômica.
- A todos que de uma forma ou de outra contribuíram para realização deste trabalho

ÍNDICE ANALÍTICO

AGRADECIMENTOS.....	iii'
LISTA DE FIGURAS.....	vi'
LISTA DE TABELAS.....	vii'
RESUMO.....	viii'
ABSTRACT.....	ix'
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	19
3. ARTIGO.....	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
1.INTRODUÇÃO.....	23
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
2.1. Estudo da área.....	24
2.2. Coleta das amostras.....	24
2.3. Seleção das algas.....	25
2.4. Preparação das amostras.....	26
2.5. Materiais.....	26
2.6. Extração.....	26
2.7. Análise instrumental.....	27
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	27
3.1. Elementos bio-essenciais.....	29
3.2. Elementos não essenciais.....	30
4. CONCLUSÕES.....	31
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1	Mapa da Praia de Jaguaribe, Ilha de Itamaracá, Norte de Pernambuco.....	25
Fig. 2	Variações das concentrações médias dos metais pesados na <i>H. musciformis</i> e <i>G. lemaneiformis</i>	28
Fig. 3	Variações das concentrações médias de Fe na <i>H. Musciformis</i> e na <i>G. lemaneiformis</i>	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados das médias dos metais analisados no material de referência.....	27
Tabela 2 Valores das médias das concentrações, desvio padrão da média, mediana, mínimo e máximo, obtidos nas determinações dos metais.....	28

RESUMO

A Praia de Jaguaribe, litoral norte de Pernambuco, vem sofrendo pela ação dos efluentes domésticos e das indústrias da região, as quais processam diversos tipos de metais pesados e os lançam diretamente no rio e no mar de Jaguaribe. Objetivando realizar o monitoramento da área para verificar se a mesma está ou não impactada por esses agentes, foram utilizadas duas espécies de macroalgas vermelhas *Gracilaria lemaneiformis* e *Hypnea musciformis* como organismos bioindicadores da poluição por metais pesados. As espécies foram consideradas por serem abundantes na região, pela capacidade de adsorção por metais pesados, por estarem localizadas em um banco de algas aproximadamente a 600 metros de fontes contaminantes e por serem espécies potencialmente resistentes às ações antropogênicas. Os metais estudados foram Fe, Zn, Mn, Cu, Cd e Pb, sendo realizadas quatro coletas, sempre na baixa mar, nos meses de setembro a dezembro de 2006. Para extrair os metais das algas utilizou-se os ácidos nítrico a 65% e perclórico concentrado a quente, e posteriormente as amostras foram analisadas no espectrofotômetro de absorção atômica. Apesar da Praia de Jaguaribe estar próximo a fontes contaminantes por efluentes domésticos e industriais, as duas espécies de algas estudadas apresentaram valores para o Fe, Zn, Mn e Cu dentro da faixa considerada normal por diversos autores. Os valores para o Cd e o Pb se mostraram elevados, em relação a outros estudos. A *H. musciformis* exibiu maiores níveis para o Fe e para o Pb, e a *G. lemaneiformis* exibiu para o Cu e para o Zn. Para o Cd e Mn ambas exibiram resultados similares. Tanto a *H. musciformis* como a *G. lemaneiformis* se mostraram adequadas bioindicadoras para o Cd.

Palavras chaves: Algas marinhas, Metais pesados, Poluição.

ABSTRACT

The Beach of Jaguaribe, the coast north of Pernambuco, comes suffering for the action of the effluent domestic servants and of the industries of the region, which process diverse types of metals heavy and they directly launch them in the river and the sea of Jaguaribe. Objectifying to carry through the monitoramento of the area to verify if the same one or it is not impactada by these agents, had been used two red macroseaweed species *Gracilaria lemaneiformis* and *Hypnea musciformis* as organisms bioindicators of the pollution for heavy metals. The species had been considered by being abundant in the region, for the capacity of adsorption of heavy metals, for being located in a seaweed bank approximately the 600 meters of contaminantes sources and for being potentially resistant species to the antropogênicas actions. The studied metals had been Fe, Zn, Mn, Cu, Cd and Pb, being carried through four collections, always in low the sea, the months of September to the December of 2006. To extract metals of the seaweed were used acid nitric 65% and concentrated perclórico, the hot one, and the samples had been later analyzed in espectrofotômetro of atomic absorption. Although the Beach of Jaguaribe to be next the contaminantes sources for effluent domestic servants and industrials, the two studied seaweed species had presented values for the Fe, Zn, Mn and Cu inside of the band considered normal for diverse authors. The values for the Cd and the Pb if had shown high, in relation to other studies. The *H. musciformis* showed greater levels for the Fe and the Pb, and the *G. lemaneiformis* showed for the Cu and the Zn. For Cd and Mn both had shown resulted similar. As much the *H. musciformis* as the *G. lemaneiformis* if had shown adequate bioindicadoras for the Cd.

Key-words: Seaweeds, Heavy metal, Pollution.

1. INTRODUÇÃO

O ambiente marinho vem sofrendo com as ações dos poluentes decorrentes das atividades antropogênicas: como na agricultura, pelo uso de pesticidas; as indústrias que lançam seus resíduos químicos sem prévio tratamento; as plataformas de petróleo, através dos eventuais vazamentos de óleos e os efluentes domésticos que são lançados diretamente nos rios e oceanos.

De forma geral, considerando o tempo de permanência no ambiente, os poluentes podem ser classificados como biodegradáveis, a exemplo da matéria orgânica dos esgotos domésticos, e não biodegradáveis, como os metais pesados, os pesticidas e a radiação, que permanecem por longo tempo no ambiente aquático, causando danos a toda população marinha (Pereira, 2002)

A determinação da concentração dos poluentes através de métodos físico-químicos, por meio de coleta direta das águas, não tem sido suficiente para interpretação das reais alterações que os organismos marinhos têm sofrido pelas ações desses agentes (Steubing, 1982; Markert, 1993).

Organismos vivos, presentes no meio ambiente, são capazes de interagir com os poluentes respondendo rapidamente através de alterações bioquímicas, fisiológicas, morfológicas e até mesmo genéticas, permitindo o estudo dessas alterações, as quais o homem também está sujeito (Steubing, 1982; Markert, 1993; Aderold, Williams & Edyvean, 1996; Amado Filho et al., 1997; Brown et al., 1999; Sánchez-Rodrigues et al., 2001).

Esses organismos são denominados de bioindicadores e têm sido usados para avaliar o comportamento desses agentes no ambiente, possibilitando o monitoramento de áreas para verificar se estão ou não contaminadas (Lama, 2003)

BIOINDICADORES

Os bioindicadores podem fornecer informações sobre as condições de um ecossistema, como por exemplo, valor do pH ou a concentração de metais pesados no ambiente. Certas espécies de vegetais respondem a alterações ambientais, como o surgimento de poluentes, desaparecendo ou se multiplicando. Geralmente o monitoramento realizado empregando-se vegetais é mais freqüente do que utilizando-se a fauna, uma vez que os vegetais têm requerimentos ambientais mais fáceis de serem monitorados, permanecem no lugar e são mais numerosos.

As macroalgas marinhas têm sido indicadas como organismos bioindicadores sob condições de laboratórios para estudo da poluição marinha ocasionada por metais pesados por atenderem as várias demandas que são feitas a um bioindicador:

1. Facilidade de manipulação (são sedentárias) e tratamento
2. São abundantes
3. Os efeitos da poluição são quantificáveis
4. As respostas podem ser avaliadas estatisticamente
5. Facilmente padronizáveis

As macroalgas marinhas constituem uma ferramenta eficiente nos estudos de avaliação de risco e impacto ao ambiente aquático, pois conseguem realizar a detecção

precoce dos efeitos reais que possam estar ocorrendo aos seres vivos em virtude da exposição aos poluentes ambientais (Markert, 1993).

ALGAS MARINHAS

As algas marinhas são encontradas em todos oceanos, ocorrendo em três cores básicas: marrom (filó *Phaeophyta*), vermelha (filó *Rhodophyta*) e verde (filó *Chlorophyta*). As algas marrons e vermelhas são quase que exclusivamente marinhas, mas a grande maioria das algas verdes é de água doce e terrestre. A coloração marrom da *Phaeophyta* é proveniente do pigmento fucoxantina que mascara outros pigmentos, enquanto a coloração das algas vermelhas é devido à presença do pigmento ficoeretrina, que reflete a luz vermelha e absorve a luz azul. A coloração verde da *Chlorophyta* provém da clorofila *a* e *b* e essas algas são as principais responsáveis pela produção de oxigênio molecular no planeta a partir da fotossíntese. As algas verdes e vermelhas apresentam como material de reserva o amido, enquanto as algas marrons possuem reserva de óleos e polissacarídeo (laminarina) (Hashim & Chu, 2004)

De forma geral, as macroalgas têm sido estudadas sob vários aspectos: pela capacidade de adsorverem elementos químicos de ambientes aquáticos poluídos, podendo ser utilizadas para recuperação desses sistemas (biorremediação), ou serem usadas como organismos na avaliação da poluição no ambiente marinho (bioindicadores), ou ainda, são estudadas pela extração de produtos utilizados nas indústrias farmacêuticas (produtos anticoagulantes e antiinflamatórios), químicas (terra diatomácea, usada na fabricação de filtros, produtos abrasivos, cremes dentais e lixas para polimentos finos) e alimentícias (na extração de agar utilizado na fabricação de gomas, laxantes, ou como meio de cultura para

bactérias; extração de carragenana, um hidrocolóide usado na fabricação de iogurtes, flans, sorvetes, achocolatados, salsichas, presuntos, gelatinas, geléias, e como espessante em sopas e molhos)e também na área de perfumaria e cosméticos (produção de xampus). As algas são o principal alimento para os invertebrados aquáticos (Caliceti, Argese, Pavoni, 2000; Vidotti & Rolemberg, 2004; Tsui et al., 2006).

No Brasil, no tocante à exploração de espécies com fins comerciais, a atividade de maior porte corresponde à coleta de algas vermelhas (*Gracilaria* e *Hypnea*), no litoral nordeste, principalmente na costa entre os estados do Ceará e Paraíba.

Espécies Estudadas

Neste trabalho, objetivamos utilizar duas espécies de macroalgas vermelhas, *Gracilaria lemaneiformis* e *Hypnea musciformis*, como organismos bioindicadores da poluição por metais pesados na Praia de Jaguaribe, área Norte de Pernambuco.

As espécies de macroalgas estudadas foram consideradas pela sua abundância na região, pela capacidade de adsorção dos metais pesados, por estarem localizadas em um banco de algas aproximadamente a 600 metros de fontes contaminantes e por serem espécies potencialmente resistentes às ações antropogênicas.

A *Hypnea musciformis* é uma espécie de alga vermelha facilmente identificada pelos seus ganchos aplainados e largos nas extremidades de seus ramos. Amplamente distribuída no litoral brasileiro, embora tenha havido declínio do estoque natural decorrente a alta exploração, é uma espécie de grande interesse econômico, pois é produtora de carragenana, polissacarídeo com alta qualidade espessante, possuindo ainda substâncias com potencial farmacêutico, as quais têm atividade antiviral, vermífuga, antiinflamatória e mio-relaxante (Oliveira Filho, 1998; Santos, 1999).

A *Gracilaria lemaneiformis* é uma macroalga de coloração vermelha, ramos cilíndricos com diâmetro de 1 a 2mm, comum na costa Nordeste do Brasil e amplamente coletada para a extração de agar e de carragenana.

METAIS PESADOS NO MEIO AMBIENTE

O termo metais pesados tem sido usado para designar os elementos metálicos que têm densidade maior que 5g.ml^{-1} , sendo considerados poluentes conservatórios, ou seja, são poluentes não biodegradáveis, permanecendo por muito tempo no ambiente aquático.

Sob o ponto de vista da toxicidade, os metais pesados podem ser classificados como não críticos (Fe, Rb, Sr e Al); tóxicos, mas muito insolúveis ou raros (Ti, Ga, Hf e La) e muito tóxicos e relativamente disponíveis (Co, Au, Hg, Ni, Cu, Pb, Zn e Cd). Alguns desses metais como Fe, Cu e Zn são também micronutrientes essenciais para o crescimento e reprodução das algas, participando diretamente de reações enzimáticas.

Os metais podem atuar em reações redox que envolvem a transferência de elétrons ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$; $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$ e $\text{Mo}^{4+}/\text{Mo}^{6+}$). Além disso, vários metais participam na composição estrutural de moléculas de pigmentos respiratórios (Fe na hemoglobina; Cu na hemocianina, pigmento de vários moluscos e crustáceos), em enzimas (Zn) e na vitamina B₁₂ (Co). É também conhecido que um aumento de Fe na água do mar estimula a atividade fotossintética do fitoplâncton. Porém, todos os metais pesados, mesmos os essenciais, são tóxicos e letais se em concentrações elevadas (Lobban & Wynne, 1981).

A Agência para Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) considera o berílio e o mercúrio como os elementos mais perigosos, ou seja, são muitos prejudiciais mesmo em pequenas quantidades. (http://pdf.rincondelvago.com/algas_3.html)

Entretanto, os metais pesados com maior potencial de causar distúrbios à saúde humana são o Cd, Hg e o Pb. O Hg é o mais tóxico e quando encontra-se na forma metilada (metil ou dimetil Hg) é ativamente absorvido no trato intestinal indo se acumular em órgãos como fígado, rins, pâncreas e cérebro. A assimilação do Cd se dá principalmente pela ingestão ou inalação e, alguns aspectos de seus efeitos se assemelham aos do Hg, sendo capaz de se acumular nos ossos, pulmões e fígado. O Pb provoca alterações no sistema nervoso central, no fígado e interferem em diversas reações enzimáticas envolvendo o ATP e em reações redox envolvendo síntese de proteínas causando danos aos ossos, pulmões, fígado e sistema nervoso central, podendo levar à morte.

A introdução dos metais pesados no ambiente marinho ocorre tanto por fontes naturais (intemperismo de rochas e solos, vulcões), como por fontes antropogênicas, tais como a queima de combustíveis fósseis, as atividades industriais e de mineração, as quais utilizam ou processam os elementos metálicos, e também através dos esgotos urbanos (Pereira & Soares-Gomes, 2002).

A presença de metais na atmosfera pode contribuir para a poluição aquática decorrente da precipitação pluviométrica que funciona como transportador desses elementos em águas de mar aberto. Estudos indicam que esse meio é um dos principais contribuintes para a presença dos metais em águas oceânicas (Windon et al., 1983).

No meio aquático, os metais podem apresentar-se associados ao material particulado ($>0,22\mu\text{m}$) ou dissolvido ($<0,22\mu\text{m}$). No material particulado, podem estar formando agregados (ex: óxidos e hidróxidos de Fe/Mn), adsorvidos a partículas inorgânicas e orgânicas, ou fazendo parte da composição da matriz e minerais.

Metais Pesados Analisados

Os metais selecionados para o presente estudo são os possivelmente utilizados nas indústrias da região Norte de Pernambuco:

Chumbo (Pb); Cobre (Cu); Cádmio (Cd); Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Zinco (Zn).

MECANISMO DE INTERAÇÃO ALGAS-METAIS PESADOS.

As macroalgas têm a capacidade de acumular metais pesados em quantidade mil vezes maior que as concentrações delas nas águas do mar, mas é geralmente aceito que essas concentrações sejam proporcionais apenas às concentrações de metais presentes em solução da massa de água do ambiente (Brown, Hodgkinson & Hurd, 1999; Sawidis et al., 2001; Sánchez-Rodríguez et al., 2001)

Os metais pesados têm uma grande capacidade de unir-se com diversos tipos de moléculas orgânicas. Estudos da troca de metais em algas marinhas são correntemente efetuados em pesquisas de laboratório para interpretar o complexo processo de interação organismo-metal no ambiente. O processo de incorporação dos metais pelas algas envolve duas etapas:

- A primeira delas é denominada **adsorção**: que transcorre em muito pouco tempo pela parede celular, através do processo de troca iônica com os íons sódio, magnésio e o cálcio, que são desprezados das macromoléculas a favor dos metais pesados. Isso ocorre porque a parede celular das algas contém vários polissacarídeos e mucoproteínas com grupos sulfatos, carboxílicos e

fosfatos os quais podem se dissociar dos prótons deixando as macromoléculas com a carga negativa. Dessa forma esses polímeros atuam como uma verdadeira esponja de adsorção de metais (Lobban & Wynne, 1981; Muse et al., 1999; Hashim & Chu, 2004)

- A segunda etapa, chamada de **bioacumulação**: requer um período de tempo maior e se diferencia da primeira fase porque envolve um processo ativo que depende do metabolismo da célula. Por essa razão, aparecem diferenças significativas entre a quantidade de metais acumulados em diferentes partes da célula, que pode ser devido às biomoléculas presentes na membrana que pode unir-se aos metais, por meio de certos ligantes como aminoácidos e citratos, formando complexos orgânicos capazes de cruzar as membranas biológicas, sendo então internalizados (Muse et al., 1999).

Os processos de bioacumulação são devidos basicamente pela impossibilidade das macroalgas manter os níveis necessários de excreção dos contaminantes, sofrendo uma retenção no seu interior.

METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DOS METAIS

A técnica utilizada para extração de metais das amostras foi a oxidação em meio com ácido nítrico a 65% e ácido perclórico concentrado, a quente, validada por Calado (2004)

A metodologia usada para determinação das concentrações de metais pesados, foi a Espectrofotometria de Absorção Atômica, que é o método de análise usado para determinar qualitativamente e quantitativamente a presença de metais. O método consiste em determinar a presença e quantidade de um determinado metal em uma solução qualquer, usando como princípio a absorção de radiação ultravioleta por parte dos elétrons que, ao sofrerem um salto quântico depois de devidamente excitados por uma chama de gás

acetileno a 3000 graus Celsius, esses devolvem a energia recebida para o meio, voltando assim para a sua camada orbital de origem. A energia devolvida na forma de um fóton de luz, por sua vez, absorve a radiação ultravioleta emitida pela fonte específica (cátodo ôco) do elemento químico em questão. Dessa forma, elétrons que estão contidos na solução, e que sofrem também um salto quântico e que não pertencem ao mesmo elemento que constitui o cátodo ôco que está sendo usado no momento, não serão capazes de causar uma interferência, isso porque eles absorverão apenas radiação com comprimento de onda referente ao elemento químico do qual fazem parte. (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Espectrofotometria>)

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Utilizar as macroalgas vermelhas *Gracilaria lemaneiformis* e *Hypnea musciformis* como espécies bioindicadoras da poluição por metais pesados na Praia de Jaguaribe, litoral Norte do Estado de Pernambuco.

2.2. Específicos

2.2.1.Determinar a concentração de metais pesados chumbo (Pb), cobre (Cu), cádmio (Cd), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn)) nas macroalgas *Gracilaria lemaneiformis* e *Hypnea musciformis* na Praia de Jaguaribe.

2.2.2.Verificar se a área estuda está impactada por metais pesados, ou não, pelo lançamento de resíduos industriais e esgotos domésticos lançados diretamente nos Rios (Botafoço, Igarassú e Jaguaribe) que deságuam na Praia de Jaguaribe.

Acta Botanica Brasílica
Print ISSN 0102-3306

Uso das macroalgas vermelhas (*Gracilaria lemaneiformis* e *Hypnea musciformis*) como espécies bioindicadoras da poluição por metais pesados

Rosa Cristina César Guedes^I; Silvana Carvalho de Souza Calado^{II}; Rosa Fireman Dutra^{III};

Valdinete Lins da Silva^{II}

^IDepartamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco

^{II}Departamento de Engenharia Química da Universidade de Pernambuco

^{III}Departamento de Patologia da Universidade de Pernambuco

RESUMO

NA PRAIA DE JAGUARIBE, EM PERNAMBUCO, NORDESTE DO BRASIL, FORAM ESTUDAS DUAS ESPÉCIES DE ALGAS MARINHAS VERMELHAS, *Gracilaria lemaneiformis* E *Hypnea musciformis*, COMO ORGANISMOS BIOINDICADORES DE POLUIÇÃO POR METAIS PESADOS. OS METAIS DETERMINADOS FORAM FE, ZN, MN, CU, CD E PB. ELES FORAM EXTRAÍDOS DAS ALGAS PELA AÇÃO DOS ÁCIDOS NÍTRICO 65% E PERCLÓRICO CONCENTRADO E POSTERIORMENTE DETERMINADOS PELA ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA. A ABUNDÂNCIA RELATIVA PARA OS ELEMENTOS ESSENCIAIS NA *G. lemaneiformis* FOI FE>ZN>MN>CU E PARA *H. musciformis* FOI FE>ZN~MN>CU. A *H. musciformis* EXIBIU OS MAIORES NÍVEIS PARA O FE E PARA O PB, ENQUANTO A *G. lemaneiformis* OS MAIORES NÍVEIS FORAM PARA O CU E O ZN. PARA O CD E O MN AMBAS AS ALGAS EXIBIRAM RESULTADOS SIMILARES.

Palavras-chaves: Algas marinhas, Metais pesados, Bioindicadores, Poluição

ABSTRACT

IN THE BEACH OF JAGUARIBE, IN PERNAMBUCO, NORTHEAST OF BRAZIL, HAD BEEN STUDIES TWO SPECIES RED SEaweEDS *Hypnea musciformis* AND *Gracilaria lemaneiformis*, AS ORGANISMS BIOINDICATORS OF POLLUTION FOR HEAVY METALS. THE DEFINITIVE METALS HAD BEEN FE, ZN, MN, CU, CD AND PB. THEY HAD BEEN EXTRACTED OF THE SEaweEDS FOR ACTION OF THE ACID NITRIC 65% AND PERCLÓRICO INTENT ONES AND LATER DETERMINED BY THE ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY ATOMIC. THE RELATIVE ABUNDANCE FOR THE ESSENTIAL ELEMENTS IN THE *G. lemaneiformis* WAS FE>ZN>MN>CU AND FOR *H. musciformis* IT WAS FE>ZN~MN>CU. THE *H. musciformis* SHOWED THE BIGGEST LEVELS FOR THE FE AND THE PB, WHILE THE *G. lemaneiformis* THE BIGGEST LEVELS HAD BEEN FOR THE CU AND THE ZN. FOR THE CD AND THE MN BOTH THE SEaweED HAD SHOWN RESULTED SIMILAR.

Key words: Seaweeds, Heavy metals, Bioindicators, Pollution

1 INTRODUÇÃO

As algas marinhas têm sido estudadas sob vários aspectos: pela capacidade de removerem poluentes químicos de ambientes aquáticos (biorremediação), pela extração de produtos utilizados nas indústrias farmacêuticas (anticoagulantes e antiinflamatórios), nas indústrias químicas pela extração de terra diatomácea (usada na fabricação de filtros e abrasivos), nas indústrias alimentícias pela extração de agar e carragenana, e também como organismos bioindicadores da poluição marinha por metais pesados (Caliceti, Argese, Pavoni, 2000; Vidotti & Rolemberg, 2004; Tsui et al., 2006).

Os metais pesados, tais como o Fe, Cu, Mn e Zn, são considerados elementos bio-essenciais, fazendo parte da constituição das algas, sendo requeridos em quantidades mínimas para atuarem nas reações redox que envolvem transferências de elétrons (Lobban & Wynne, 1981). No entanto, os metais pesados são também processados pelas indústrias químicas e lançados em altas concentrações diretamente nos rios e oceanos, sem o prévio tratamento, causando toxicidade ao ambiente aquático (Pereira & Gomes, 2002; Suzuki, Kametani & Maruyama, 2005).

O estudo direto desses poluentes na água não tem sido suficiente para interpretar as alterações causadas aos organismos marinhos. Por isso, tem-se proposto o uso das macroalgas como bioindicadores a fim de se determinar às alterações bioquímicas, fisiológicas, morfológicas e genéticas, que estão se processando nesses organismos, alterações as quais o homem também está sujeito (Steubing, 1982; Markert, 1993; Aderold, Williams & Edyvean, 1996; Amado Filho et al., 1997; Brown et al., 1999; Sánchez-Rodrigues et al., 2001)

As macroalgas são usadas como bioindicadores pela sua alta capacidade de adsorver metais. A parede celular das algas é constituída de polissacarídeos e mucoproteínas ricos em grupos fosfatos, sulfatos e carboxílicos, que funcionam como uma verdadeira esponja de adsorção para os cátions, adsorvendo-os de forma passiva (troca iônica). Após a adsorção os metais são bioacumulados no interior da célula, através de transporte ativo, que envolve grupos ligantes como aminoácidos e citratos, que se complexam com os metais, cruzam as membranas biológicas e os internalizam (Lobban & Wynne, 1981; Muse et al., 1999; Hashim & Chu, 2004).

A Praia de Jaguaribe, litoral norte de Pernambuco, vem sofrendo pela ação dos efluentes domésticos e das indústrias da região, as quais processam diversos tipos de metais pesados e os lançam diretamente no rio e no mar de Jaguaribe (Calado, 2004).

O objetivo deste trabalho foi utilizar duas espécies de macroalgas vermelhas, *Gracilaria lemaneiformis* e *Hypnea musciformis*, como organismos bioindicadores da poluição por metais pesados (Fe, Zn, Mn, Cu, Cd e Pb) para realizar o monitoramento da área, verificando se a mesma está impactada por esses metais. As espécies de macroalgas estudadas foram consideradas pela sua abundância na região, pela capacidade de adsorção dos metais pesados, por estarem localizadas em um banco de algas aproximadamente a 600 metros de fontes contaminantes e por serem espécies potencialmente resistentes às ações antropogênicas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Estudo da área

A Praia de Jaguaribe, no município da Ilha de Itamaracá, está localizada a 55Km ao norte de Recife-PE, entre os paralelos 7°45'S e 34°50'W. A principal contribuição para poluição da área Norte do Estado de Pernambuco é através dos Rios Botafogo, Igarassu e Jaguaribe, com descargas de esgotos domésticos e industriais. O Rio Jaguaribe da sua nascente até sua foz percorre 9,0Km tendo às suas margens uma grande diversidade da fauna e da flora (Andrade & Lins, 1971). A Ilha é constituída por potencial algológico muito rico e variado, sendo o trecho do mar de dentro caracterizado por bancos de algas e fanerógamos marinhos em toda sua extensão.

2.2. Coleta das amostras

As amostras de algas foram coletadas diretamente na estação algológica da Praia de Jaguaribe nos meses de setembro, outubro, novembro e dezembro de 2006, sempre na baixa-mar. A coleta foi realizada manualmente utilizando-se luvas para procedimento,

retirando-se as plantas inteiras dos corais e posteriormente lavando-as com água do mar para eliminar o excesso de areia e incrustações, acondicionando-as em sacos de polietileno.



www.pousadapeter.com.br/mapaitamaraca.htm

Fig. 1 - Mapa da Praia de Jaguaribe, Ilha de Itamaracá, Norte de Pernambuco.

2.3. Seleção das Algas

As diversas espécies de algas foram mantidas em freezer até serem todas devidamente separadas com auxílio de uma pinça plástica. As espécies separadas foram lavadas individualmente até remoção total das incrustações, com água deionizada e posteriormente identificadas (Pereira, 1977; Oliveira Filho; 1977; Guedes (1985).

2.4.Preparação das Amostras

Após identificação das algas, as amostras foram secas em estufa a 50°C ($\pm$ 5°C) até peso constante, esfriadas em dessecador, pulverizadas em almofariz de vidro, tamizadas em uma série de peneiras de Taylor até se obter granulometria de 500 micra (0,5mm) e acondicionadas nos respectivos sacos de polietileno à temperatura (25°C).

2. 5. Materiais

Os reagentes utilizados foram: ácido nítrico 65% e ácido perclórico conc., ambos da marca Merck. Foi utilizado o certificado de alga CRM129/BCS (*Ulva lactuca*) como padrão de referência. A água utilizada para preparação dos padrões foi obtida do mili-Q.

2.6. Extração

Após as algas terem sido preparadas, foram pesadas 0,5g de cada amostra e tratadas, cada uma delas, com 10ml de HNO₃ a 65% (v/v) e 5ml de HClO₄ concentrado. As amostras foram digeridas a 150°C por $\pm$ 4 horas. Após a digestão das amostras, foram resfriadas, diluídas para 25ml com HNO₃ 0,1N e filtrada em papel Whatman (faixa azul). As análises foram realizadas em triplicatas, além da preparação das provas em branco, seguindo a mesma metodologia (Calado, 2004). Os metais analisados foram Chumbo (Pb); Cobre (Cu); Cádmio (Cd); Ferro (Fe), Manganês (Mn) e Zinco (Zn)

2.7. Análise instrumental

Os metais foram determinados por meio do Espectrofotômetro AA 240FS VARIAN (modo de chama para o Fe e Zn, e forno de grafite para o Pb, Cd, Cu e Mn). Foram preparadas curvas analíticas a partir de diluições das soluções estoques (ampolas Titrimex da Merck), mantendo-se a mesma concentração de ácido das amostras.

A metodologia foi testada usando uma amostra certificada para Fe, Zn Cu e Pb, em cinco repetições, e os resultados das médias das concentrações dos metais estão registrados na tabela 1.

Tabela 1 – Resultados das médias dos metais analisados no material de referência, em mg/Kg de peso seco					
Padrão de algas	Parâmetros	Fe	Zn	Cu	Pb
CRM 279	Média	2.400	51,30	13,14	13,48
	Desv. padrão	±300	±1,20	±0,37	±0,36
Amostras analisadas	Média	2.325	50,53	13,01	13,12
	Desv. padrão	±81,07	±1,00	±0,08	±0,50

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados encontrados para os metais pesados Fe, Zn, Mn, Cu, Cd e Pb nas espécies de macroalgas *Hypnea musciformis* e *Gracilaria lemaneiformis* estão resumidos na tabela 2. Foram calculadas as médias dos níveis das concentrações de metais em mg/Kg de peso seco, o desvio padrão, a mediana, o valor mínimo e o máximo para cada espécie de alga.

A figura 2 mostra o gráfico com as médias das concentrações dos metais Zn, Mn, Cu, Cd e Pb, e a figura 3 mostra o gráfico dos valores médios do Fe determinados para *H. musciformis* e para *G. lemaneiformis*.

Tabela 2 – Valores das médias das concentrações, desvio padrão da média, mediana, mínimo e máximo obtidos nas determinações de Fe, Zn, Mn, Cu, Cd e Pb para *Hypnea musciformis* e *Gracilaria lemaneiformis*, em mg/Kg de peso seco.

Espécies	Parâmetros	Fe	Zn	Mn	Cu	Cd	Pb
<i>Hypnea musciformis</i>	Média	687,37	30,16	30,08	2,39	1,28	22,79
	Desv. padrão	±20,85	±13,19	±10,17	±0,73	±1,16	±14,30
	Mediana	687,37	27,92	32,56	2,58	0,85	25,25
	Mínimo	672,63	16,55	16,81	1,58	0,43	3,83
	Máximo	702,12	48,24	38,38	3,01	2,98	36,83
<i>Gracilaria lemaneiformis</i>	Média	113,06	34,87	30,53	5,93	1,19	17,66
	Desv. padrão	±46,09	±10,25	±12,66	±4,50	±0,39	±14,05
	Mediana	116,49	30,49	29,78	5,50	1,23	16,41
	Mínimo	59,20	28,35	17,65	1,66	0,68	1,83
	Máximo	160,05	50,13	44,91	10,64	1,63	36,00

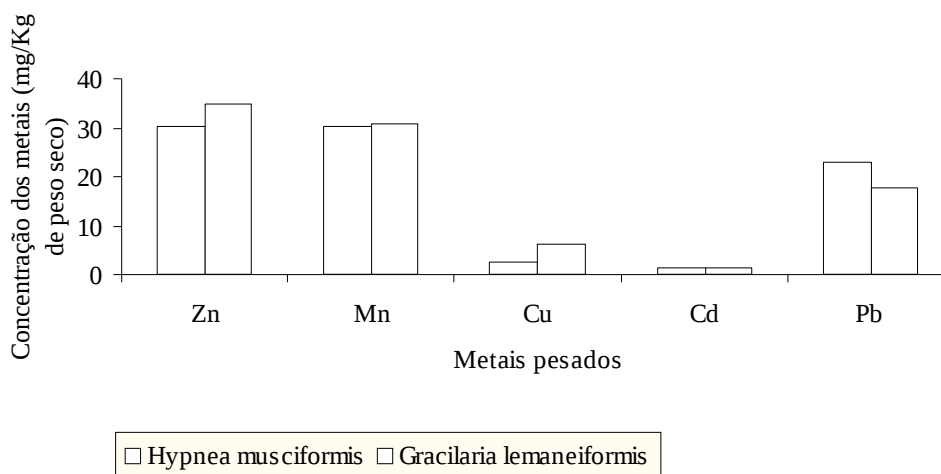


Fig. 2 – Variações das médias das concentrações dos metais pesados na *H. musciformis* e *G. lemaneiformis*

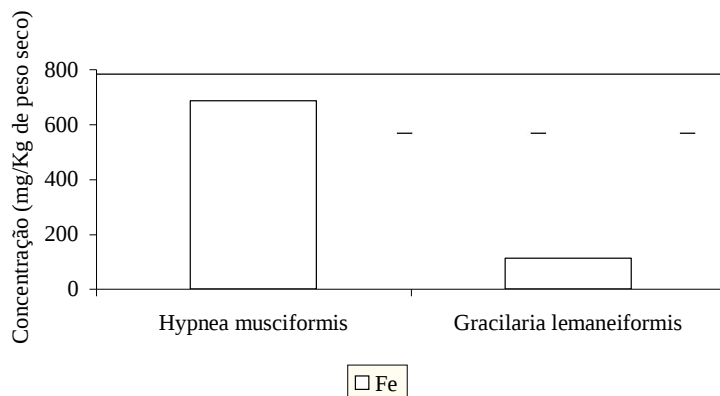


Fig. 3 - Variações das médias das concentrações de Fe na *H. musciformis* e na *G. lemaneiformis*

3.1. Elementos bio-essenciais

A abundância relativa para os elementos bio-essenciais encontrados para *G. lemaneiformis* foi $\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Mn} > \text{Cu}$ e para *H. musciformis* $\text{Fe} > \text{Zn} \sim \text{Mn} > \text{Cu}$, uma sequência análoga foi registrada em outras espécies de algas (Caliceti et al, 2002), o que sugere que essas espécies possam ter um maior número de ligantes na parede celular, para esses elementos, na ordem discriminada.

Ferro: O valor médio da concentração de Fe foi maior para *H. musciformis* ($687,37 \pm 20,85$ mg/Kg de peso seco) e o menor valor foi para *G. lemaneiformis* (59,20 mg/Kg de peso seco). O valor médio de Fe para *H. musciformis* corresponde à metade do valor determinado por Calado (2004), na mesma espécie de alga. Caliceti et al. (2002) obtiveram o valor médio para concentração de Fe em outras espécies de algas maior do que o determinado neste estudo.

Zinco: A média dos níveis de Zn foi maior para *G. lemaneiformis* ($34,87 \pm 10,25$ mg/Kg de peso seco) e o menor valor encontrado foi para *H. musciformis* (16,55 mg/Kg de peso seco). Caliceti (2002) encontrou na Lagoa de Viena valores até cinco vezes maior para o Zn, estudando o mesmo gênero de *Gracilaria*, enquanto Calado (2004), analisando a mesma espécie de *H. musciformis*, determinou resultados até três vezes maior do que o deste trabalho.

Manganês: o nível médio para o Mn foi similar em ambas espécies de macroalgas, para *H. musciformis* ($30,08 \pm 10,17$ mg/Kg de peso seco) e para *G. lemaneiformis* ($30,53 \pm 12,66$ mg/Kg de peso seco). Sawidis et al. (2001) encontraram em diversas espécies de algas marinhas concentrações bem mais elevadas.

Cobre: A concentração média para o Cu na *G. lemaneiformis* ($5,93 \pm 0,73$ mg/Kg de peso seco) foi maior do que o dobro determinado para *H. musciformis* ($2,39 \pm 0,73$ mg/Kg de peso seco). Sawidis et al. (2001) e Brown et al. (1999) analisando diversas espécies de algas encontraram valores maiores do que esses.

Considerando Lobban & Wynne (1981), os valores obtidos para os elementos bio-essenciais estão dentro da faixa de normalidade.

3.2 Elementos não essenciais

Cádmio: Os níveis médios encontrados para o Cd foram similares para *H. musciformis* ($1,28 \pm 1,16$ mg/Kg de peso seco) e para *G. lemaneiformis* ($1,19 \pm 0,39$ mg/Kg de peso seco). Muse et al. (1999) e Sawidis et al. (2001) determinaram valores discretamente superiores a esses. No entanto, Caliceti et al. (2002) encontraram valores menores para Cd em diversas algas, analisando áreas poluídas. Os resultados sugerem que ambas as algas são excelentes bioindicadoras de poluição para o Cd

Chumbo: A *H. musciformis* apresentou a média dos valores de Pb ($22,79 \pm 14,30$ mg/Kg de peso seco) maior do que a *G. lemaneiformis* ($17,66 \pm 14,05$ mg/Kg de peso seco). O menor valor foi encontrado na *G. lemaneiformis* (1,83 mg/Kg de peso seco). Muse et al. (1999) encontraram valor médio para *Enteromorpha prolifera* inferior ao deste trabalho. Caliceti et al. (2002), analisando diversas algas, encontraram valores relativamente inferiores a esses.

Considerando os autores estudados, os valores determinados para o Cd e para o Pb estão relativamente superiores, isso pode ser em decorrência de fontes naturais, como o intemperismo das rochas e solos da região, ou ser proveniente dos dejetos das indústrias de galvanoplastia e de tintas e vernizes, entre outras, presentes na área norte.

4. CONCLUSÕES

- Apesar da Praia de Jaguaribe estar próximo a fontes contaminantes por efluentes domésticos e industriais, as duas espécies de algas estudadas apresentaram valores para o Fe, Zn, Mn e Cu dentro da faixa considerada normal por diversos autores.
- Os valores para o Cd e o Pb se mostraram elevados, em relação a outros estudos, no entanto, não é possível afirmar se esses metais pesados são de origem antropogênicas ou naturais, sendo necessário estudos que possam diferencia-los.
- A *H. musciformis* exibiu maiores níveis para o Fe e para o Pb, e a *G. lemaneiformis* exibiu para o Cu e para o Zn. Para o Cd e Mn ambas exibiram resultados similares.
- Tanto a *H. musciformis* como a *G. lemaneiformis* se mostraram adequadas bioindicadoras para o Cd.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aderold, D., Williams, C. J. & Edyvean, R. G. J. 1996. The removal of heavy-metal ions by seaweeds and their derivatives. Dortmund, Germany. **Bioresource Technology** 8524: 72-77.

Amado Filho, G. M., Karez, C. S., Andrade, L. R., Yoneshigue-Valentin, Y., & Pfeiffer, W. C. 1997. Effects on growth and accumulation of zinc in six seaweed species. Rio de Janeiro, Brasil. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 37: 223-228.

Andrade, G. O. & Lins, R. C. 1971. Os climas do Nordeste. In: VASCONCELOS SOBRINHO, J. ed. O meio e a civilização. Recife, CONDEPE. P. 95-138.

Brown, M. T., Hodgkinson, W. M. & Hurd, C. L. 1999. Spatial and temporal variations in the copper and zinc concentrations of two green seaweeds from Otago Harbour, New Zealand. Dunedin, New Zealand. **Marine Environmental Research**. 47: 175-184.

Calado, S. C. S. 2004. **Níveis de concentrações de metais pesados em macroalgas e em sedimentos marinhos do estado de Pernambuco – Brasil**. 160 f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Oceanografia) – Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Caliceti, M., Argrese, E., Sfriso, A. & Pavoni, B. 2002. Heavy metal contamination in the seaweeds of the Venice lagoon. Venezia, Italy. **Chemosphere** 47: 443-454.

Guedes, E. A . C. G. 1985. **Aspectos Taxonômicos e Químicos de Representantes das gigastinales (rhodophyta) na Praia de Jaguaribe, Itamaracá –PE**. Dissertação (Mestrado em Botânica) Universidade Federal Rural de PE. 189 p.

Hashim, M. A. & Chu, K. H. 2004. Biosorption of cadmium by brown, green, and red seaweeds. Christchurch, New Zealand. **Chemical Engineering Journal** **97**: 249-255.

http://pdf.rincondelvago.com/algas_3.html Acesso em 05/fev./2006.

<http://pt.wikipedia.org/wiki/Espectrofotometria>. Acesso em 05/mar/2006.

Lama, P. K. S. & Gray, J. S. 2003. The use of biomarkers in enviromental monitoring programmes. **Marine Pollution Bulletin** **46**(2):182-186.

Lobban, C. S. & Wynne, M.J. 1981. **The Biology of Seaweeds**: Botanical Monographs. University of California Press. Berkeley and Los Angeles. **v. 17**: 356-620.

Markert, B. 1993. Plants as Biomonitors: indicators for heavy metals in the terrestrial environment. VHC.

Muse, J. O., Stripeikis, J. D., Fernández, F. M., d'Huieque, L., Tudino, M. B., Carducci, C. N. & Trocecili, O. E. 1999. Seaweeds in the assessment of heavy metal pollution in the Gulf San Jorge, Argentina. Buenos Aires, Argentina. **Environmental Pollution** **104**: 315-322.

Oliveira Filho, E. C. 1977. Algas marinhas betônicas no Brasil. Livre Docência. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências.

Oliveira Filho, E. C., 1998. The seaweeds resources of Brazil. In Seaweeds resources of the world (A. T. Critcheley & M. Ohno, eds). Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, p. 366-371.

Pereira, R. C. & Soares-Gomes, A. 2002. Biologia Marinha. Rio de Janeiro. Editora Interciência. 69-332.

Pereira, S. B. 1977. **Rodofíceas marinhas da Ilha de Itamaracá e arredores (Estado de Pernambuco-Brasil)**. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo, São Paulo.

Sánchez-Rodriguez, I., Huerta-Diaz, M. A., Choumiline, E., Holguín-Quñones, O. & Zertuche-González, J. A. 2001. Elemental concentrations in different species of seaweeds from Loreto Bay, Baja California Sur, Mexico: implications for the geochemical control of metals in algal tissue. La Paz, Mexico. **Enviromental Pollution 114**: 145-160.

Santos, M. G. M., Lagrota, M. H. C., Miranda, M. F. S., Yoneshigue-Valetin, Y. & Wigg, M. D. 1999. A screening for antiviral effect of extracts from Brazilian marine algae against acyclovir resistant *Herpes simplex* virus type 1. **Botanica Marina 42**:227-230.

Sawidis, T., Brown, M. T., Zachariadis, G. & Sratis, I. 2001. Trace metal concentrations marine macroalgae from different biotopes in the Aegean Sea. Thessaloniki, Grece. **Environment International 27**: 43-47.

Steubing, L. 1982. Problems of Bioindication and the necessity standardiztion. In: Steubing L. & Jäger (eds): Monitoring of Air Pollutants by plants. Junk publishers.

Suzuki, Y., Kametani, T. & Maruyama, T. 2005. Removal of heavy metal from aqueous solution by nonling *Ulva* seaweed as biosorbent.

Tsui, M. T. K., Cheung, K. C., Tam, N. F. Y. & Wong, M. H. 2006. A comparative study on metal sorption by brown seaweed. Hong Kong, China. **Chemosphere**.

Vidotti, E. C. & Rollemberg, M. C. 2004. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. Maringá. **Química Nova 27**, N. 1. 139-145, Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040422004000100024&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 02/jan./2006.

Villares, R., Puente, X. & Carballeira, A. 2002. Seasonal variation and background levels of heavy metal in two green seaweeds. Santiago de Compostela, Spain. **Enviromental Pollution**119: 79-90.

Windon, H. I., Wallace, G., Smith, R., Dudek, N., Naeda, M., Uemage, R. & Sorti, F. 1983. Behavior of cooper in Southeatern United States Estuaries. **Marine Chemistry** 12:183-193.

www.pousadapeter.com.br/mapaitamaraca.htm Acesso em 06/fev./07.

