



KARINA TEIXEIRA DA SILVA

**ANÁLISE DIRETA DE LIQUENS POR ESPECTROMETRIA
DE FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X PORTÁTIL**

**LAVRAS - MG
2022**

KARINA TEIXEIRA DA SILVA

**ANÁLISE DIRETA DE LIQUENS POR ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA
DE RAIOS X PORTÁTIL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Química (Licenciatura
Plena), para a obtenção do título de Licenciado.

Prof. Dr. Marcelo Braga Bueno Guerra
Orientador

**LAVRAS - MG
2022**

KARINA TEIXEIRA DA SILVA

**ANÁLISE DIRETA DE LIQUENS POR ESPECTROMETRIA DE FLUORESCÊNCIA
DE RAIOS X PORTÁTIL**

**DIRECT ANALYSIS OF LICHENS BY PORTABLE X-RAY FLUORESCENCE
SPECTROMETRY**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Química (Licenciatura
Plena), para a obtenção do título de Licenciado.

Prof. Dr. Marcelo Braga Bueno Guerra – UFLA

Prof. Dr. Marcelo Braga Bueno Guerra
Orientador

**LAVRAS - MG
2022**

AGRADECIMENTOS

À minha avó, Sônia, por ser meu alicerce, exemplo e por fazer de mim tudo que sou hoje.

À minha irmã e família, que me deram apoio durante toda minha trajetória.

Ao meu amigo e companheiro de alma Patrick, pelo companheirismo e cumplicidade de, e para, uma vida toda.

Aos meus amigos Anderson, Evaristo, Luísa e Pedro, por todo apoio durante essa jornada.

Aos meus amigos e parceiros de graduação Guilherme, Henrique e Raphael, sem vocês eu não conseguiria chegar até aqui.

À República K-zona, pelo acolhimento e parceria e pela família que me abraçou.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Braga Bueno Guerra, por toda disponibilidade, auxílio e apoio nas orientações.

Ao departamento de Ciência do Solo por toda estrutura, auxílio e colaboração durante os últimos anos e, principalmente, para o desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus amigos Arthur, Luan e Laíne que durante a pandemia trabalharam incansavelmente ao meu lado, me ensinando o valor do trabalho coletivo e da amizade.

Aos técnicos Alexandre, Geila, Lívia e Mariene, por toda disponibilidade, auxílio e apoio nas análises e nas etapas desse trabalho.

À Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, em especial ao doutorando Victor Borges Rezende, à Profa. Dra. Aline Pedroso Lorenz e ao Prof. Dr. Adriano Afonso Spielmann, por cederem as amostras e contribuírem para a realização desse estudo.

Ao Prof. Dr. Paulo Ricardo da Silva por gentilmente contribuir com o capítulo da educação.

À Dra. Cynthia Oliveira e à Profa. Dra. Miriany Avelino Moreira Fernandez pela disponibilidade e por aceitarem fazer parte da banca deste trabalho.

À UFLA por todos os ensinamentos e oportunidades durante todos esses anos.

À todas as mulheres que abriram os caminhos para que eu pudesse ocupar esse espaço e que continuam resistindo e lutando em prol da nossa humanidade e inserção nos espaços de construção de conhecimento.

RESUMO

O uso de bioindicadores, como os líquens, permite avaliar o impacto antrópico de um ambiente pela análise elementar direta desses organismos simbiotes. A avaliação do acúmulo de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPTs) em tecidos de líquens tornou-se um tópico de grande importância, já que tal estudo pode ser realizado tanto com os líquens em seu habitat natural quanto a partir da técnica de transplante de uma região pristina para uma área antropizada. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi determinar Mn e Zn em amostras de líquens utilizando a técnica de espectrometria de fluorescência de raios X (XRF) portátil. A técnica de XRF é extremamente vantajosa, já que tem a capacidade de determinar elementos químicos de maneira rápida, multielementar e simultânea, sem destruição da amostra, com baixo custo operacional e mínimo, ou nenhum preparo de amostra. Foi desenvolvido um método de determinação de Mn e Zn em amostras de líquens da espécie *Parmotrema tinctorum* por pXRF utilizando dados de referência gerados pela digestão ácida assistida por radiação micro-ondas e quantificação por ICP OES. Utilizou-se amostras secas e moídas de líquens oriundos de ambientes impactados por atividades urbanas de Campo Grande – MS, além de amostras controle de floresta nativa. A otimização das condições operacionais foi realizada usando uma pastilha prensada de material de referência certificado (BCR 482 - *lichen*). As seguintes condições foram usadas: tensão (50 kV); corrente (22,4 μ A); filtro (Ti 25 μ m e Al 300 μ m) e tempo de irradiação de 20 s. A verificação da exatidão do método de digestão se deu a partir da análise de materiais de referência certificados (BCR 482 e NIST 1547) obtendo-se 101% e 115% de grau de concordância para Zn e 103% para Mn. As faixas lineares de trabalho das curvas de calibração variaram entre 64 a 282 mg kg⁻¹ para Mn e de 24 a 171 mg kg⁻¹ para Zn. Excelentes coeficientes de correlação linear ($r > 0,98$) foram obtidos para os modelos de calibração para ambos os elementos. Espera-se que esse estudo contribua para o estímulo de novas pesquisas com o objetivo de desenvolver novos métodos que avaliem outros EPTs em outras espécies de líquens, especialmente em estudos *in situ*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	8
2.1 OBJETIVOS GERAIS	8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3 REFERENCIAL TEÓRICO	9
3.1 PREPARO DE AMOSTRAS PARA DETERMINAÇÃO ELEMENTAR	9
3.1.1 Amostra <i>in natura</i>	9
3.1.2 Secagem	9
3.1.3 Moagem	10
3.1.4 Peneiramento	10
3.1.5 Pastilhamento	10
3.1.6 Digestão ácida	11
3.1.7 Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas	11
3.2 Técnicas analíticas modernas	12
3.2.1 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES)	12
3.2.2 Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)	12
3.2.3 Ablação a <i>Laser</i> associada ao Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (LA-ICP-MS)	13
3.2.4 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por <i>Laser</i> (LIBS)	13
3.2.5 Espectrometria de Fluorescência de raios X (XRF)	14
3.3 Líquens como bioindicadores	15
3.3.1 Acumulação de EPTs em líquens	16
3.3.2 Análise elementar em tecidos de líquens	17
3.3.3 <i>Parmotrema tinctorum</i>	20
4 METODOLOGIA	22
4.1 Amostragem de líquens	22
4.2 Pré-tratamento das amostras	23
4.3 Preparo de amostras	24
4.3.1 Moagem	24
4.3.2 Pastilhamento de amostras cominuídas	24

4.4 Processos de otimização para análises por pXRF	25
4.4.1 Otimização das condições operacionais	25
4.4.2 Otimização do tempo de irradiação	26
4.4.3 Condições operacionais otimizadas para análise das amostras por pXRF	26
4.5 Método de referência para determinação dos analitos de interesse	26
4.5.1 Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas	26
4.5.2 Curvas de calibração para análise por ICP OES	28
4.5.3 Condições operacionais das medidas por ICP OES	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Verificação da eficiência do método de digestão	29
5.2 Digestão assistida por radiação micro-ondas das amostras de líquens para a posterior determinação de Mn e Zn por ICP OES	30
5.3 Otimização das condições de análise por pXRF	30
5.4 Otimização do tempo de irradiação	32
5.5 Análises de líquens por pXRF	33
5.6 Análise por pXRF	34
5.7 Curvas de calibração	37
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	40
INFOGRÁFICO COMO PRODUTO PARA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA	41
1 INTRODUÇÃO	41
2 REFERENCIAL TEÓRICO	42
3 JUSTIFICATIVA	44
4 HIPÓTESE	45
5 INFOGRÁFICO	46
REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

Elementos Potencialmente Tóxicos (EPTs) são elementos químicos que podem causar danos ambientais e à saúde humana (CONSONNI, 2015), principalmente pela potencialidade de bioacumulação, assim como devido aos efeitos deletérios que podem ser desencadeados mesmo em baixas concentrações. Esses elementos podem ser descartados no ambiente, principalmente devido às atividades antrópicas, podendo causar contaminação de corpos hídricos, além do solo e da atmosfera (CONSONNI, 2015; GARTY *et al.*, 1979; KIERCZAK *et al.*, 2008).

A avaliação da contaminação pode ser conduzida através da análise química de matrizes ambientais (solo, água ou material particulado atmosférico) ou pelo uso da estratégia de biomonitoramento com o uso de líquens (ASLAN *et al.*, 2006). Os líquens são associações simbióticas entre fungos e algas ou cianobactérias que possuem elevada afinidade ao ambiente onde se encontram e sensibilidade a muitos tipos de contaminantes, em especial os de origem atmosférica (GARTY *et al.*, 2001). Devido à capacidade intrínseca de absorverem e armazenarem partículas de contaminantes atmosféricos, esses organismos são amplamente reconhecidos como bioindicadores e biomonitores ambientais, podendo inclusive acumular EPTs em seus tecidos (MOTA FILHO *et al.*, 2007).

Na literatura, é possível encontrar diversos estudos em que técnicas analíticas modernas são utilizadas para a determinação de EPTs em tecidos de líquens, como a Espectrometria de Fluorescência de raios X (XRF, acrônimo do inglês para *X-ray Fluorescence Spectrometry*) (RICHARDSON *et al.*, 1995; SCHMELING *et al.*, 1997; MAJUMDAR *et al.*, 2009; PANTELICA *et al.*, 2016; KOUADRI *et al.*, 2019). A XRF é uma técnica analítica para determinação elementar de diversos tipos de amostras (GAZLEY; FISHER, 2014; WEINDORF *et al.*, 2014). A técnica é muito difundida entre a comunidade científica devido às suas potencialidades, tais como a rapidez na execução das análises, além da portabilidade, que permite a execução das análises em campo, mostrando-se adequada para investigar problemas de diversas áreas, inclusive das Ciências Ambientais (RIBEIRO *et al.*, 2017).

Diante do exposto, esse estudo teve o enfoque no desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação direta de Mn e Zn, utilizando fluorescência de raios X portátil em amostras de líquens da espécie *Parmotrema tinctorum* submetidas à técnica de transplante para biomonitoramento de EPTs.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Desenvolver um método analítico para a determinação direta de Mn e Zn em amostras de líquens utilizando fluorescência de raios X portátil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar valores de referência de Mn e Zn em amostras de líquen da espécie *Parmotrema tinctorum* transplantadas para região com elevado impacto antrópico;
- Otimizar as condições operacionais de um espectrômetro de fluorescência de raios X portátil para a determinação quantitativa Mn e Zn em tecidos de líquens;
- Construir e avaliar modelos de calibração para a determinação quantitativa de Mn e Zn por espectrometria de fluorescência de raios X portátil.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PREPARO DE AMOSTRAS PARA DETERMINAÇÃO ELEMENTAR

O preparo de amostra é uma etapa fundamental na sequência analítica. Existem diferentes tipos de matrizes que necessitam de estratégias adequadas que sejam capazes de dispor as espécies químicas em um modo apropriado para a medição pelas técnicas analíticas escolhidas. O ideal seria que todas as análises pudessem ser conduzidas a partir da determinação direta *in situ*, sem que houvesse necessidade de nenhum tratamento prévio, mas poucas técnicas permitem a determinação em campo. Dessa forma, é fundamental que sejam adotados procedimentos de preparo de amostras que possibilitem a determinação quantitativa com elevada acurácia dos elementos de interesse (KRUG *et al.*, 2016). Desta forma, nas seções a seguir, serão discutidas, sucintamente, as estratégias comumente adotadas no preparo de amostras que precedem as análises químicas quantitativas dos analitos de interesse, assim como as técnicas analíticas modernas utilizadas para a determinação quantitativa.

3.1.1 Amostra *in natura*

Geralmente, as amostras sólidas podem ser analisadas diretamente por técnicas analíticas que permitam tal abordagem. Desta forma, as amostras podem ser analisadas *in natura* ou como pastilhas prensadas do material previamente cominuído (KRUG *et al.*, 2016). As amostras sólidas originalmente homogêneas, como ligas metálicas (CASTRO; PEREIRA-FILHO, 2016), polímeros (COSTA *et al.*, 2019) e vidro (CAHOON; ALMIRALL, 2010) dispensam o preparo, podendo ser diretamente analisadas. No entanto, etapas de limpeza ou polimento podem ser requeridas para a remoção de contaminantes superficiais.

3.1.2 Secagem

Para amostras sólidas com quantidades variáveis de água, é comum a utilização de secagem até atingir massa constante (KRUG *et al.*, 2016). Esse tratamento preliminar permite a preservação da amostra de atividade microbiana e a expressão de resultados analíticos em massa seca (MARKERT, 1995). Geralmente, a secagem é conduzida a 105 °C para evitar perdas por volatilização ou decomposição térmica, mas alguns minerais exigem temperaturas maiores que 1000 °C, como aluminatos e silicatos (KRUG *et al.*, 2016).

Materiais de origem biológica geralmente são secos em sacos de papel ou algodão em estufa com circulação forçada de ar até peso constante em temperatura de 60 a 65 °C por 48 h (KRUG *et al.*, 2016). Caso haja determinação de espécies químicas voláteis, deve ser aplicada temperatura mais baixa, entre 40 °C e 50 °C. Uma alternativa é a liofilização, onde a amostra é

congelada entre -80 °C e -60 °C seguida por remoção da água por sublimação sob pressão reduzida (MARKERT, 1995).

3.1.3 Moagem

Para amostras sólidas heterogêneas, recomenda-se uma etapa de moagem a fim de diminuir o tamanho de partículas. Essa etapa é importante, visto que tem como objetivo reduzir a heterogeneidade das amostras, proporcionando a análise das mesmas com alta reprodutibilidade. Essa etapa é necessária já que amostras finamente moídas são intrinsecamente mais homogêneas. Outra vantagem é o aumento da área superficial específica da amostra teste, aumentando a eficiência dos processos de dissolução, digestão e extração (KRUG *et al.*, 2016). Em geral, a moagem pode ser classificada como grosseira (aproximadamente 5 mm), fina (até 63 µm) e extrafina (partículas com menos de 63 µm). Diferentes tipos de moinhos podem ser utilizados a depender de fatores como tamanho desejado das partículas, tipo e quantidade de amostra, capacidade do moinho, velocidade de moagem, constituição final do produto moído e qual elemento deseja-se determinar (KRUG *et al.*, 2016).

3.1.4 Peneiramento

Para avaliação e classificação da distribuição do tamanho das partículas, o peneiramento das amostras *in natura* ou moídas é um dos métodos mais utilizados. O objetivo desse procedimento é homogeneizar a distribuição do tamanho das partículas (KRUG *et al.*, 2016), já que quanto menor o tamanho das partículas, mais homogênea é a distribuição dos analitos na amostra (CARVALHO, 2015).

3.1.5 Pastilhamento

Após a etapa de moagem, com as amostras homogêneas e pulverizadas, recomenda-se a prensagem das mesmas para obtenção de pastilhas (KRUG *et al.*, 2016). Existem diversos métodos disponíveis para formação das pastilhas. Para o método de pastilha prensada podem ser utilizadas matrizes do tipo plano e cilíndrico (TAKAHASHI, 2015).

A matriz do tipo plano utiliza de 3 a 5 g de amostras para produção de anéis de 30 mm de diâmetro interno. Essa matriz tem facilidade de limpeza, etapa fundamental para evitar a contaminação cruzada durante a etapa de pastilhamento (TAKAHASHI, 2015).

Para matriz do tipo cilindro, é recomendado o pastilhamento de amostras orgânicas pulverizadas, uma vez que possuem baixas densidades e essa matriz tem maior capacidade de reter quantidades maiores de amostras em comparação com a tipo plana (TAKAHASHI, 2015).

3.1.6 Digestão ácida

Amostras de natureza orgânica, incluindo tecidos vivos, podem ser oxidadas a partir da utilização de um ácido oxidante concentrado. Geralmente, é necessária a utilização de aquecimento da amostra com o ácido oxidante concentrado (geralmente ácidos inorgânicos fortes como ácido nítrico, sulfúrico e perclórico), ou mistura de mais de um tipo de ácido oxidante e peróxido de hidrogênio (KRUG *et al.*, 2016).

A partir da utilização do ácido, ou mistura, é possível oxidar os compostos orgânicos presentes na amostra e os analitos de interesse solubilizam-se na solução ácida (KRUG *et al.*, 2016). O processo de digestão ácida ideal deve utilizar pequenos volumes de ácido, promover a dissolução completa da matriz da amostra, contribuindo para a obtenção de resultados precisos e exatos (KRUG *et al.*, 2016; EVANGELISTA, 2011).

O processo de digestão ácida, também chamado de decomposição por via úmida (KRUG *et al.*, 2016), pode ocorrer em sistema aberto, em bloco digestor, ou em sistema fechado, utilizando-se forno de micro-ondas com cavidade (KRUG *et al.*, 2016).

3.1.7 Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas

A primeira referência na literatura sobre o uso de radiação micro-ondas para a preparação de amostras data de 1975. É descrito nesse trabalho a utilização de forno de micro-ondas doméstico para a decomposição de material biológico em solução ácida e sistema aberto (ABU-SAMRA *et al.*, 1975). Mesmo que utilizado em condições inadequadas, principalmente devido à liberação de vapores ácidos, verificou-se redução de tempo na decomposição das amostras comparado aos processos tradicionais utilizando chapas aquecedoras e blocos digestores (KINGSTON, 1988).

Somente a partir da década de 1980, a radiação micro-ondas despontou no campo da Química Analítica. A utilização maciça é atribuída ao desenvolvimento de equipamentos específicos para laboratórios associados à utilização de sistemas fechados (KRUG *et al.*, 2016).

A radiação micro-ondas é um tipo de radiação eletromagnética com frequência compreendida entre 10^3 a 10^4 MHz. Materiais não transparentes, capazes de absorver esse tipo de radiação, podem apresentar aumento significativo da temperatura devido à interação dos fótons com os íons dissolvidos e o solvente, provocando migração iônica e a rotação de dipolos. Essa combinação de fenômenos resulta em movimento molecular do material que contribui diretamente para o seu aquecimento. No caso da digestão assistida por radiação micro-ondas, explora-se o efeito de absorção, onde a energia eletromagnética das micro-ondas é absorvida e

convertida em energia térmica, promovendo o aquecimento do meio reacional. O preparo de amostras utilizando o aquecimento por micro-ondas proporciona decomposições mais seguras e rápidas comparadas ao aquecimento condutivo (KRUG, *et al.*, 2016).

3.2 Técnicas analíticas modernas

3.2.1 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES)

A Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES, acrônimo do inglês para *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) é uma técnica que utiliza a medida da intensidade de radiação emitida de átomos e íons de uma amostra gerada a partir de um plasma de argônio. O plasma é gerado na extremidade final da tocha, compartimento constituído pelos tubos externo (tubo por onde circula o gás do plasma), intermediário (que força a circulação tangencial pelo tubo externo do plasma e insere o gás auxiliar) e injetor. O gás de nebulização, que passa pelo tubo injetor na forma de aerossol, transporta a amostra até o plasma (NÖLTE, 2003). Nessa técnica, a amostra é introduzida por meio de uma solução. A solução é nebulizada como um fino aerossol que é transportado para o centro do plasma. A amostra então sofre os processos de dessolvatação, vaporização e dissociação em átomos, que por sua vez podem ser ionizados e excitados pelo plasma, emitindo radiação eletromagnética. A emissão da radiação ocorre principalmente dentro da faixa do espectro visível e ultravioleta e as linhas discretas são separadas por um difrator ótico de acordo com seus comprimentos de onda. Esses comprimentos de onda são utilizados para a identificação e quantificação dos elementos presentes na amostra (NÖLTE, 2003).

3.2.2 Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)

A Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS, acrônimo do inglês para *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) é uma técnica analítica instrumental que se baseia na seleção de cátions produzidos em um plasma de argônio. Esses íons positivos são transportados por campo eletromagnético até o espectrômetro de massas. No espectrômetro, os íons são separados em função da razão massa/carga (GINÉ-ROSIAS, 1998).

O sistema para introdução da amostra líquida é composto por 4 partes. A amostra é introduzida no plasma a partir do aerossol produzido pelo nebulizador, havendo a separação das gotículas maiores e menores na câmara de nebulização (DULUDE, 2008). O aerossol é então transportado para o plasma por meio do fluxo do gás de nebulização. Em seguida, passa pelos processos de dessolvatação, vaporização, atomização e ionização. Os cátions produzidos

pelo plasma são extraídos pelos cones de amostragem e *skimmer* (THOMAS, 2002). As lentes iônicas, localizadas após o *skimmer*, conduzem os íons positivos em direção ao analisador de massas com o auxílio de campos magnéticos e as partículas neutras são eliminadas por uma bomba à vácuo (GINÉ-ROSIAS, 1998).

O ICP-MS é uma técnica amplamente aceita devido ao seu caráter multielementar, baixos limites de detecção e elevada frequência analítica, além de gerar eficientemente íons monovalentes e espectro de massas simples e de fácil interpretação (THOMAS, 2002).

3.2.3 Ablação a Laser associada ao Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (LA-ICP-MS)

A Ablação a Laser associada ao Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (LA-ICP-MS, acrônimo do inglês para *Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) é uma técnica que confere maior agilidade nas determinações analíticas, pois sua determinação elementar é conduzida diretamente na matriz. No sistema, há um *laser* de alta energia focalizado na amostra sólida, removendo átomos, íons e partículas da superfície desta. A ablação é conduzida em uma câmara especial e o aerossol da amostra é direcionado para a tocha do ICP-MS por meio do fluxo de um gás inerte, onde acontecem os fenômenos de atomização, ionização e vaporização (GUERRA, 2011). Em seguida, há a separação dos íons do analito pelo analisador de massas em função da razão massa/carga (BETTNER *et al.*, 2009). Diferentemente do ICP-MS, que necessita de amostras na forma líquida, o que exige preparo de amostra utilizando ácidos fortes concentrados, o LA-ICP-MS permite a análise de amostras sólidas (GUERRA, 2011). Dessa forma, apresenta-se como uma opção para análise direta de amostras biológicas, como os líquens.

3.2.4 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Laser (LIBS)

Outra técnica utilizada comumente em análises químicas é a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Laser (LIBS, acrônimo do inglês para *Laser Induced Breakdown Spectroscopy*). A LIBS é capaz de analisar as emissões de radiação eletromagnética do plasma gerado na superfície das amostras por ablação a *laser* e determinar a composição elementar das amostras. A técnica é micro-destrutiva, ou seja, causa destruição da amostra localmente (FAU *et al.*, 2019).

A técnica utiliza a espectrometria de emissão óptica a partir de uma fonte de *laser* emissora de pulsos de alta energia. Os pulsos são emitidos diretamente na amostra com o auxílio

de lentes focalizadoras (RADZIEMSK; CREMERS, 2012). A incidência do pulso de *laser* pode ter duração de nano, pico ou femto segundos (COSTA *et al.*, 2019). Depois da incidência do pulso de *laser*, a amostra passa pelos processos de aquecimento, fusão (para amostras sólidas) e vaporização (NOLL, 2012). Os átomos, íons e moléculas vaporizados são excitados a um nível mais energético e emitem radiação específica de cada elemento ao retornarem para níveis mais baixos de energia (COSTA *et al.*, 2019).

O feixe de *laser* é focalizado a partir de lentes e espelhos que auxiliam no direcionamento até a superfície da amostra (RADZIEMSK; CREMERS, 2012). A amostra fica posicionada perpendicularmente à fonte do *laser* na configuração mais simples e comum (PASQUINI, 2007).

O sinal óptico gerado é convertido em um sinal elétrico registrado e processado pelo computador. Vários tipos de detectores podem ser utilizados, desde que tenham alta eficiência de detecção e alta sensibilidade para todo o espectro obtido (MUSAZZI; PERINI, 2014).

3.2.5 Espectrometria de Fluorescência de raios X (XRF)

A Espectrometria de Fluorescência de raios X (XRF, do inglês *X-ray Fluorescence Spectrometry*) trata-se de uma técnica analítica para determinação da composição elementar de diferentes materiais (GAZLEY; FISHER, 2014; WEINDORF *et al.*, 2014). Nesta técnica, os átomos constituintes da estrutura da amostra são atingidos por raios X de alta energia, removendo elétrons de sua órbita original (KALNICKY; SINGHVI, 2001). A excitação atômica ocorre quando há colisão por partículas como elétrons ou íons produzidos comumente por tubos de raios X (GAZLEY; FISHER, 2014). À medida que os elétrons de camadas superiores substituem a vacância deixada pelos elétrons removidos, há a emissão de energia na forma de fluorescência que é característica de cada elemento. Para que haja a emissão, a amostra deve receber energia suficiente para excitar os elétrons dos seus elementos constituintes (RIBEIRO *et al.*, 2017). Assim, os elementos presentes nos materiais analisados podem ser identificados e quantificados a partir da medição das intensidades de emissão de raios X característicos dos mesmos (WEINDORF *et al.*, 2014). Comparando-se com as demais técnicas analíticas instrumentais, a espectrometria de fluorescência de raios X progrediu bastante. A XRF é bastante difundida na comunidade científica principalmente por sua habilidade na determinação de elementos químicos, geralmente de forma rápida, sem destruição da matriz, com baixo custo operacional e mínimo, ou mesmo nenhum preparo da amostra (RIBEIRO *et al.*, 2017).

Além disso, a técnica conta com equipamentos portáteis desde a década de 1970 (LEMIÈRE, 2018), permitindo a execução de análises dentro do laboratório e em campo (RIBEIRO *et al.*, 2017). Dessa forma, mostra-se apta a solucionar certos problemas químicos, além das inúmeras aplicações em outras áreas da Ciência como Medicina, Geologia, Biologia, Ciência do Solo, Ciências Ambientais, dentre outras (WEINDORF *et al.*, 2014).

Os sistemas que utilizam XRF por energia dispersiva (EDXRF, acrônimo do inglês para *Energy Dispersive X-ray Fluorescence*) caracterizam-se pela capacidade multielementar e simultânea. Nesse método, é possível medir as intensidades de raios X característicos emitidos pelos elementos da amostra quando excitados por um feixe de raios X. A detecção de raios X emitidos se dá por meio de um detector de Si que gera um espectro de intensidade *versus* energia. A intensidade dos raios X emitidos correlaciona-se linearmente com a concentração dos elementos da amostra (ALEXANDRE; BUENO, 2006).

A fluorescência de raios X com dispersão por comprimento de onda (WDXRF, acrônimo do inglês para *Wavelength Dispersive X-ray Fluorescence*) é outro método que utiliza a técnica de XRF, desenvolvida na década de 1960 (JENKINS, 1999). O método utiliza a dispersão por comprimentos de onda por meio de cristais que difratam os raios X, dependendo do comprimento de onda, em ângulos específicos relacionados às suas energias (Lei de Bragg). Os cristais difratam a radiação fluorescente emitida pela amostra e os detectores de raios X convertem a energia dos fótons captados em pulsos elétricos. O detector processa as linhas características que anteriormente foram separadas pelo cristal. A difração de raios X utilizada na técnica WDXRF permite a separação da radiação secundária emitida por meio do espalhamento em distintos ângulos, tornando possível a análise da composição química dos materiais (BORTOLETO, 2007).

3.3 Líquens como bioindicadores

Os líquens são uma simbiose entre fungos e algas, ou cianobactérias, micobiontes e fotossimbiontes, respectivamente. Essa associação forma organismos sem raízes ou cutículas que dependem da atmosfera para captação de nutrientes (DE MOURA *et al.*, 2012). Nessa simbiose, as algas, ou cianobactérias, realizam a fotossíntese e produzem carboidratos para utilização própria e para o fungo. Por sua vez, os fungos servem para proteção e sustentação física, além de suplementação de água e minerais para a associação (COLONI JÚNIOR, 2019). Com isso, esses organismos podem absorver umidade e componentes atmosféricos a partir do

talo, composto por fungos, e obter compostos orgânicos a partir da fotossíntese realizada pelas algas ou cianobactérias (COLONI JÚNIOR, 2019).

Os líquens podem ser classificados em cinco principais grupos: foliosos, fruticosos, filamentosos, crostosos e dimórficos. Os grupos têm características biológicas e morfológicas distintas, podendo ser identificados através de análises morfológicas e anatômicas com o uso de microscópio. Esse processo é guiado por uma chave dicotômica de identificação de gênero. (ROMANOSKI; GUMBOSKI, 2021). Além disso, são organismos que podem habitar diversas matrizes no ambiente, como troncos e ramificações arbóreas (líquens corticícolas), rochas (saxícolas), solo (terrícolas), folhas (folícolas) e outros tipos de substrato estável. Estes organismos também são conhecidos por serem capazes de sobreviver em locais inóspitos e de grande estresse ecológico (ROMANOSKI; GUMBOSKI, 2021). Os líquens possuem alta afinidade com o ambiente e alta sensibilidade a inúmeros tipos de contaminantes, podendo ser indicadores da umidade do ar, da acidez do substrato rochoso e da qualidade do ar. Por isso, são conhecidos como bioindicadores de qualidade ambiental ou da qualidade do ar, devido às suas capacidades de absorverem e reterem contaminantes atmosféricos em suas células, funcionando também como biomonitores (MOTA FILHO *et al.*, 2007).

Líquens são bioindicadores muito sensíveis à contaminação atmosférica, principalmente ao dióxido de enxofre (SO₂) (RAVEN *et al.*, 2007; SPIELMANN; MARCELLI, 2006). Isso ocorre por não possuírem estômatos e cutículas, o que permite que os gases absorvidos difundam-se pelo tecido até o fotobionte (MARTINS, 2013). Em altos níveis de poluição, os líquens podem desaparecer totalmente, fenômeno conhecido por “deserto líquênico” (SPIELMANN; MARCELLI, 2006). Dessa maneira, o estudo da qualidade do ar pela análise de acúmulo de contaminantes em líquens é um método viável para a avaliação e mensuração das condições ambientais da região em que habitam, pois são capazes de fornecer dados ambientais para o desenvolvimento de medidas protetivas para a saúde humana e ambiental (SANTOS *et al.*, 2018).

3.3.1 Acumulação de EPTs em líquens

Elementos potencialmente tóxicos (EPTs) é uma expressão utilizada para substituir os termos “metais pesados” e “elementos traço”. A expressão descreve elementos químicos inorgânicos presentes no ecossistema que podem causar riscos ao ambiente e à saúde pública (CONSONNI, 2015). Esses riscos estão relacionados às suas concentrações e à capacidade de entrada e de bioacumulação por meio da cadeia alimentar (KIERCZAK *et al.*, 2008).

Os EPTs são documentados entre os muitos materiais perigosos ao ambiente. Alguns elementos químicos como Pb e Cd foram classificados como substâncias com potencial carcinogênico pelo *European Parliament and Council Regulation* (2006) (POPESCU *et al.*, 2013). Vinte EPTs são considerados contaminantes prioritários: alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba), boro (B), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), mercúrio (Hg), molibdênio (Mo), níquel (Ni), nitrogênio na forma de nitrato (NO₃⁻), prata (Ag), selênio (Se), vanádio (V) e zinco (Zn) (CETESB, 2001). Nem todos os EPTs podem ser considerados xenobióticos, substâncias estranhas aos organismos, já que muitos deles são também essenciais para a vida. Boro, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn, por exemplo, são também essenciais para o desenvolvimento e funcionamento de vegetais. Ferro, Zn, Cu, Ni e Mn atuam como cofatores enzimáticos no metabolismo de plantas, microrganismos e mamíferos (BIONDI *et al.*, 2011). Porém, dependendo da concentração desses elementos, podem ser tóxicos aos organismos, incluindo à espécie humana (ALLOWAY, 1990).

Os EPTs podem ser absorvidos a partir da atmosfera e do substrato (PIRINTSOS *et al.*, 2006) e são depositados na superfície ou nos espaços da medula dos líquens devido à falta das estruturas da cutícula e estômato (GARTY *et al.*, 1979). Esses elementos são imobilizados em componentes presentes nas paredes celulares da simbiose e, para garantir sua homeostase, os líquens utilizam mecanismos complexantes para inativação desses elementos e sua desintoxicação química (BAČKOR; LOPPI, 2009).

O estudo da acumulação de EPTs em líquens tornou-se um tópico de grande importância dentro da liquenologia moderna (BAČKOR; LOPPI, 2009). Essa avaliação pode ser conduzida em líquens *in situ* ou *ex situ*, com técnicas de transplante, nas quais os líquens são coletados em regiões com baixos índices de contaminação e transferidos para regiões com uma possível contaminação por EPTs. Com isso, é possível realizar o biomonitoramento ambiental e o estudo das fontes de contaminantes com eficiência (GUERRA, 2011).

3.3.2 Análise elementar em tecidos de líquens

Na literatura, há estudos que utilizam líquens para verificar as concentrações de EPTs em algumas regiões. Richardson *et al.* (1995) discutiram as vantagens e limitações da utilização da técnica de espectrometria de fluorescência de raios X para a determinação do conteúdo elementar em amostras de líquens. No trabalho, já eram citadas as aplicações para a determinação de metais traços como Cu, Pb e Zn. Neste estudo, também foram discutidas as necessidades de boa preparação de amostra que, até então, eram fator limitante para as análises.

Além disso, nesse estudo já eram apontadas as potencialidades da técnica utilizando amostras de líquens e plantas afetadas pelas proximidades com áreas industriais. Uma vez que a técnica não necessita de recalibrações diárias, desde que feitas e estabelecidas adequadamente, apresentou grande potencialidade como ferramenta para pesquisa ambiental e monitoramento.

Schmeling *et al.* (1997) utilizaram a espectrometria de fluorescência de raios X de reflexão total para analisar e certificar amostras de líquen da espécie *Evernia prunastri*, coletadas de regiões de Portugal sem poluição e preparados para certificação pela Agência Internacional de Energia Atômica. Nesse estudo, foram determinados Ca, Cu, Fe, Mn, Rb, Sr, Pb e Zn simultaneamente, com concentrações variando de 1,8 mg kg⁻¹ de Rb a 2360 mg kg⁻¹ de Ca. Os resultados determinados foram comparados com outras técnicas e com outros laboratórios que contribuíram para a certificação, como espectrometria de absorção atômica e espectrometria de fluorescência de raios X, apresentando boa concordância com as médias gerais dos valores aceitos para a certificação.

Cercasov *et al.* (2002) utilizaram a técnica de transplante de líquens para o biomonitoramento de EPTs no ar a partir de três espécies (*Cetraria islandica*, *Evernia prunastri* e *Ramalina farinacea*). As espécies foram expostas em suportes sem substrato em países com climas distintos (Alemanha, Itália e Romênia) e em seis pontos com presença de diferentes contaminantes atmosféricos. As amostras foram coletadas após 2, 4, 6 e 12 meses de exposição e interrogadas por Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (INAA, acrônimo do inglês para *Instrumental Neutron Activation Analysis*) e por EDXRF. Foram identificados 15 elementos ambientalmente relevantes: As, Br, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Ni, Pb, S, Sb, V e Zn, evidenciando a capacidade de bioacumulação das espécies.

Aslan (2006) utilizou a EDXRF para a análise das seguintes espécies de líquens: *Evernia prunastri*, *Flavoparmelia caperata*, *Hypogymnia physodes*, *Pseudevernia furfuracea*, *Usnea florida* e *Usnea longissima* de diferentes regiões de Giresun e Ordu na Turquia. Os seguintes elementos foram determinados: Ba, Ca, Fe, K e Ti.

Majumdar (2009) descreveu a análise por EDXRF de amostras de líquens epífitos coletados em Calcutá, megacidade no leste da Índia, apontada como uma das cidades mais poluídas no mundo até aquele momento. O objetivo foi estimar a concentração de alguns elementos nas amostras coletadas dentro da cidade e em pontos ao redor. Os resultados indicaram concentrações significativamente maiores de elementos como Ca, Cr, Fe, Mn, Ni, S, V e Pb nas amostras recolhidas no interior da cidade comparado com os pontos ao redor da mesma. Para Mn, foram encontradas concentrações de 35 mg kg⁻¹ em uma das áreas mais afastadas e 57 mg kg⁻¹ em ponto dentro da cidade. A mesma comparação para Zn foi conduzida,

encontrando-se 54 mg kg^{-1} no ponto mais afastado e 62 mg kg^{-1} na amostra coletada dentro da cidade. Além disso, identificou-se variação sazonal nas concentrações de Cu, Fe, Mn, Pb e Zn.

Guerra *et al.* (2011) utilizaram LA-ICP-MS para determinação direta de Pb em amostras de líquens das espécies *Usnea aurantiaco-atra* e *Usnea antarctica* afetadas por ação antrópica em estações de pesquisa na Antártica Marítima. As amostras coletadas foram secas em estufa e moídas criogenicamente com nitrogênio líquido e posteriormente digeridas utilizando ácido nítrico e peróxido de hidrogênio. As concentrações de Pb foram medidas com precisão e exatidão, tornando possível o desenvolvimento de um método para determinação direta por LA-ICP-MS e demonstrando que a técnica é uma potencial ferramenta analítica para a estimativa das concentrações do metal em amostras de líquens. Houve diferenças significativas entre as concentrações de Pb nas amostras obtidas do local controle, de $1,12 \pm 0,05 \text{ mg kg}^{-1}$, e das áreas afetadas, com média de $5,03 \pm 0,57 \text{ mg kg}^{-1}$. Essas diferenças apontam os líquens como bons biomonitorios. Além disso, a partir da bioimagem elementar desses organismos, demonstrou-se que a região da medula é o principal tecido bioacumulador de Pb atmosférico.

State *et al.* (2011) também utilizaram o método EDXRF e espectroscopia por absorção atômica (AAS, acrônimo do inglês para *Atomic Absorption Spectrometry*) em amostras de líquens para o biomonitoramento da qualidade do ar na cidade de Târgoviște, Romênia, e seus arredores. No estudo foram determinados Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Pb e Zn. O EDXRF foi utilizado como análise qualitativa, e as concentrações determinadas a partir da AAS. Foram encontradas concentrações de $5,00 \pm 0,22 \text{ mg kg}^{-1}$ a $156 \pm 7 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn. Nesse estudo, foi possível realizar uma análise comparativa da qualidade do ar entre as áreas de maior e menor contaminação.

Herrero Fernández *et al.* (2016) realizaram comparações estatísticas no intervalo de três anos utilizando XRF, ICP OES e Espectrofotometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS, acrônimo do inglês para *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) em amostras de líquens utilizadas como biomonitorios da poluição do ar em Havana, Cuba. Os autores não identificaram diferenças significativas nas concentrações encontradas pelas diferentes técnicas e os padrões de distribuição elementar foram associados às diferentes fontes de poluição.

Pantelica *et al.* (2016) utilizaram EDXRF, ICP-MS e INAA para análise de líquens da espécie *Evernia prunastri* transplantados em locais na Romênia com diferentes tipos de exposição a contaminantes atmosféricos. As três técnicas foram comparadas com relação aos limites de detecção para 54 elementos. A espécie de líquen foi distribuída em três pontos durante 6 meses de exposição, além do controle não exposto. Os resultados para Mn e Zn foram obtidos com qualidade similar para EDXRF e ICP-MS. Para Mn, foram encontradas concentrações de $77,6 \text{ mg kg}^{-1}$ nas amostras não expostas e 122 mg kg^{-1} em um dos pontos

afetados, utilizando EDXRF. Para o mesmo elemento foram encontradas concentrações de 77,7 e 117 mg kg⁻¹, respectivamente para os mesmos pontos utilizando ICP-MS. Para Zn, foram encontradas concentrações, por EDXRF, de 41,8 e 81,5 mg kg⁻¹ nas amostras não expostas e de um dos pontos afetados, respectivamente. Os limites de detecção obtidos foram similares para os analitos avaliados, mas a técnica não atingiu a sensibilidade necessária para a detecção de muitos dos elementos investigados no trabalho.

Kouadri *et al.* (2019) realizaram estudos sobre poluição atmosférica na Argélia a partir do biomonitoramento de líquens *Xanthoria parietina* coletados de árvores de diferentes lugares na área de Blida e distritos vizinhos. A técnica empregada para análise das amostras foi XRF e foram determinados 14 elementos. No estudo foram encontrados valores de 24 a 161 µg g⁻¹ de Mn e 26 a 416 µg g⁻¹ de Zn. Os autores discutem que os valores elevados encontrados para estes e os demais elementos podem estar relacionados às emissões locais, que afetam até mesmo a área florestal devido a incêndios e intenso tráfego de veículos.

Saturnino (2021) detectou mercúrio advindo de deposição atmosférica nas regiões montanhosas de Santa Catarina. A quantificação foi feita a partir de líquens do gênero *Parmotrema* spp. e *Usnea* spp. como bioindicadores *in situ*. Utilizando o método EPA 7473 (USEPA, 2007), foi feita a digestão ácida e a análise quantitativa por espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HGAAS, acrônimo do inglês para *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*). Foi encontrada maior concentração de mercúrio nos tecidos do gênero *Usnea* spp e houve forte correlação entre elevada altitude e a concentração atmosférica de mercúrio na região. No ponto 1, com altitude de 629 m, foi verificado teor total de 2214 µg kg⁻¹ de Hg em *Usnea* spp. Já no ponto 6, de maior altitude (1794 m), foi encontrado 10378 µg kg⁻¹ de Hg, concentração 4,7 vezes maior que o ponto 1. Para o gênero *Parmotrema* spp, foram identificados 858 µg kg⁻¹ de Hg no mesmo ponto 1 e 9413 µg kg⁻¹ de Hg no ponto 6, concentração 11 vezes maior.

3.3.3 *Parmotrema tinctorum*

A maioria dos líquens possui três camadas distintas. O córtex, camada mais externa composta por filamentos do fungo, possui anatomia compactada capaz de proteger as células do fotobionte da radiação solar intensa e demais organismos e partículas. A próxima camada é chamada de camada simbionte seguida da medula, composta de filamentos fúngicos (ZULAINI *et al.*, 2019). Por possuir anatomia simples, esses organismos possuem alta área superficial específica, além da ausência de cutículas, favorecendo o acúmulo de EPTs nos seus tecidos

(ADAMO *et al.*, 2003), fazendo com que sejam excelentes bioindicadores da poluição do ar (GARTY *et al.*, 2001).

A maioria dos líquens epífitos, que utilizam outro organismo como suporte, são pertencentes aos grupos fruticoso, folhoso e crostoso (ZULAINI *et al.*, 2019). Os líquens dos grupos fruticoso e folhoso, semelhante a folha e arbusto respectivamente, são comumente escolhidos para estudos de deposição de EPTs por apresentarem maior facilidade de separação do substrato (BOAMPONSEM *et al.*, 2010; CANSARAN-DUMAN *et al.*, 2012).

O *Parmotrema tinctorum* é um tipo folhoso de líquen. Tem aparência densa e estruturas similares a fios que os conectam ao substrato. Podem possuir talos com tonalidade esverdeada, cinza e prateada quando secos ou verde-oliva quando úmidos. Apresentam margem plena ou subcrenada, cortical superior lisa, rugosa e fissurada e sulcos nas cristas (BENATTI; MARCELLI, 2009). Quimicamente, a espécie tem boa resposta ao Teste de Contato com Hipoclorito de Sódio (Teste C) e ao Teste de Contato com Hidróxido de Potássio (Teste K), apresentando coloração alaranjada e avermelhada, respectivamente, em contato com os reagentes, configurando-se em testes confiáveis de identificação (FLEIG; GRÜNINGER, 2008. BENATTI; MARCELLI 2009). Além disso, são bem distribuídos geograficamente, são fáceis de reconhecer em campo e são sensíveis à poluição atmosférica, fazendo com que sejam boas escolhas para biomonitoramento (BENATTI; MARCELLI, 2009).

Figura 1 – *Parmotrema tinctorum*

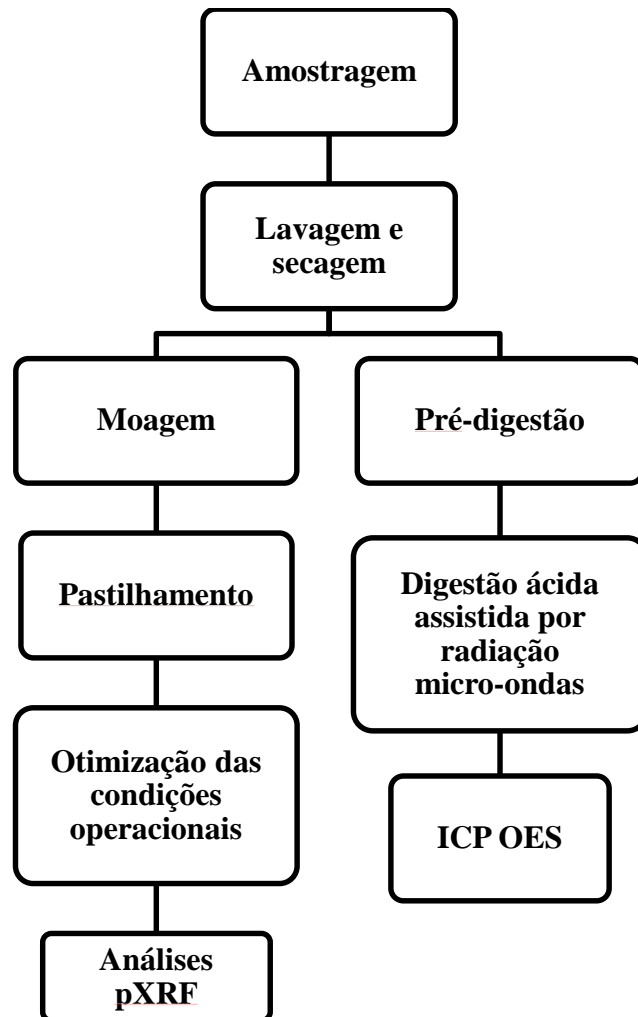


Fonte: Imagem gentilmente cedida pelo Dr. Adriano Spielmann

4 METODOLOGIA

Na Figura 2 está representado um fluxograma contendo todas as etapas do presente estudo.

Figura 2 - Fluxograma abordando as etapas do método analítico



Fonte: Da autora (2022).

4.1 Amostragem de líquens

As amostras foram cedidas pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul e armazenadas adequadamente em dessecador. O experimento teve o objetivo de verificar a composição química e a bioacumulação de contaminantes, entre outros testes, em amostras de líquens da espécie *P. tinctorum* expostas no ambiente impactado por tráfego veicular da cidade de Campo Grande - MS.

Foram realizadas quatro coletas em ambiente rural no intervalo de três meses, sendo essas: Coleta A no dia 18/08, coleta B 10/11, ambas em 2021, coleta C no dia 18/03 e coleta D em 30/06, em 2022. Houve coleta de pelo menos 15 espécimes para realização de transplante. No desenho experimental, 3 espécimes controle foram amostrados, as quais não foram transplantadas, ou seja, não foram expostas às condições urbanas sendo utilizadas como parâmetro de pré-exposição. Nove espécimes foram transplantados e submetidos às condições urbanas em períodos de 30, 60 e 90 dias. Três espécimes foram removidos após 30 dias de exposição, três espécimes removidas após 60 dias, e, por último, 3 espécimes foram removidos após 90 dias de exposição. Para o controle da metodologia, 3 espécimes foram transplantados e devolvidos ao ambiente rural original permanecendo por 90 dias do mesmo modo que o controle na cidade. Após a exposição e coleta do material, as amostras de líquens foram submetidas à limpeza física para remoção de sujidade superficial mais grosseira com o auxílio de uma lupa e uma pinça. Também com a lupa e a pinça removeu-se cílios e isídios, um tipo de estrutura reprodutiva do organismo.

4.2 Pré-tratamento das amostras

As amostras (*ca.* 0,2 g) foram submetidas à lavagem utilizando água ultra-pura de acordo com a metodologia utilizada por Boonpeng (2021). Foram adicionados 30 mL de água nos tubos, 1 minuto em descanso seguidos por agitação manual por 1 minuto (Figura 3). As amostras foram deixadas em estufa por 48 h em temperatura de aproximadamente 42 °C.

Figura 3 – Lavagem das amostras



Fonte: Da autora (2022)

4.3 Preparo de amostras

4.3.1 Moagem

Depois de secas, as amostras foram moídas utilizando nitrogênio líquido. Para a moagem, foi definida a metodologia de adição de $N_{2(l)}$ aguardando 30 s para congelamento da amostra, seguidos por 5 min de moagem manual, repetindo o procedimento por pelo menos duas vezes. Depois de moídas, as amostras foram levadas à estufa por 48 h em temperatura de aproximadamente 45 °C até peso constante (Figura 4).

Figura 4 – Amostra moída dentro do almofariz de porcelana

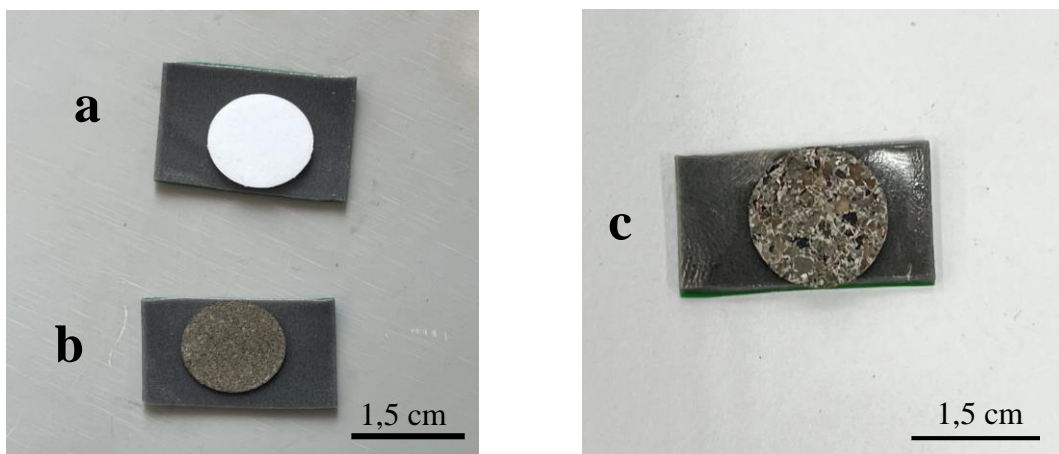


Fonte: Da autora (2022)

4.3.2 Pastilhamento de amostras cominuídas

Após secas, foram pesados 0,1 g de amostra para construção das pastilhas. As amostras foram prensadas utilizando uma prensa pneumática (Vaneox, FluXana), aplicando-se 10,5 t por 30 s. As pastilhas formadas tinham aproximadamente 1,5 cm de diâmetro. As pastilhas foram depositadas em fita dupla face (Fixa Forte, Scotch). Além das pastilhas das amostras, foram feitas pastilhas de material certificado BCR 482, ácido bórico e papel filtro (Figura 5). Os dois últimos foram utilizados como brancos para verificar possível interferência do material da fita (acrilonitrila butadieno estireno).

Figura 5 – Pastilhas prensadas de H_3BO_3 (a), material de referência certificado BCR 482 (b) e de amostra de líquen (c) aderidas à fita dupla face.



Fonte: Da autora (2022).

4.4 Processos de otimização para análises por pXRF

4.4.1 Otimização das condições operacionais

A pastilha do material de referência certificado BCR 482 (*Lichen*), foi analisada utilizando-se o equipamento de fluorescência de raios X portátil (Tracer 5g, Bruker). Dentre as condições operacionais disponíveis no equipamento, escolheu-se o Plants_50 por tratar-se de condições para análise de plantas e seria o mais aproximado das amostras utilizadas nesse trabalho. Os parâmetros dessa condição operacional contavam com tensão (50 kV), corrente (22,4 μ A), colimador (8 mm) e atmosfera (ar). No primeiro momento, as análises foram feitas utilizando os diferentes filtros disponíveis para avaliar a melhor condição, sendo realizadas 5 replicatas por condição descrita na tabela 1.

Tabela 1 – Condições Operacionais avaliadas

Condição	Tensão (kV)	Corrente (μ A)	Filtro	Tempo (s)
A	50	22,4	sem filtro	30
B	50	22,4	Cu 75 μ m, Ti 25 μ m, Al 200 μ m	30
C	50	22,4	Ti 25 μ m, Al 300 μ m	30
D	50	22,4	Cu 100 μ m, Ti 25 μ m, Al 300 μ m	30
E	50	22,4	Al 38 μ m	30

Fonte: Da autora (2022).

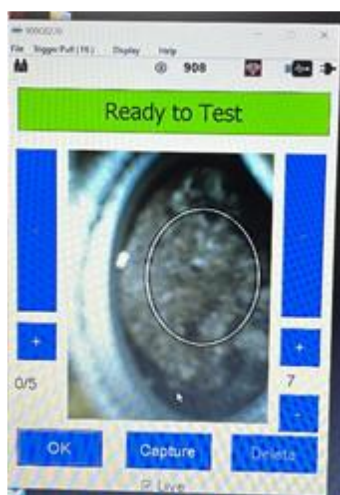
4.4.2 Otimização do tempo de irradiação

Após a avaliação e escolha do filtro de Ti 25 μm : Al 300 μm (Condição B), também foi avaliado o tempo de irradiação da amostra, testando os tempos de 10, 20, 40 e 80 s. Todo o processo de otimização foi realizado a partir da medida de 5 replicatas da amostra certificada pastilhada, utilizando o equipamento Tracer 5g, Bruker. Após tratamento dos dados, escolheu-se avaliar as intensidades dos elementos Mn e Zn, pois foram detectados sinais intensos de ambos.

4.4.3 Condições operacionais otimizadas para análise das amostras por pXRF

As amostras de líquens foram analisadas no equipamento de fluorescência de raios X portátil (Tracer 5g, Bruker) utilizando as condições operacionais padrão do equipamento e das condições de otimização operacionais e de tempo previamente avaliadas e selecionadas. As condições operacionais padrão do perfil Plants_50 e as avaliadas: Tensão (50kV); Corrente (22,4 μA); Colimador (8mm); Atmosfera (ar); Filtro (Ti 25 μm : Al 300 μm) e tempo de 20 s. As amostras pastilhadas foram analisadas em triplicata.

Figura 6 – Interface do software durante análise por pXRF



Fonte: Da autora (2022)

4.5 Método de referência para determinação dos analitos de interesse

4.5.1 Digestão ácida assistida por radiação micro-ondas

Foram pesados 0,025 g de cada uma das amostras, material de referência BCR 482 e NIST 1547, em triplicata. Foram adicionados 1 mL de HNO₃ concentrado deixando em repouso pernoite. Após a pré-digestão, foram adicionados 1 ml de H₂O₂ e 1 mL de água ultra-pura (Milli-Q System).

Figura 7 – Amostra após a pré-digestão

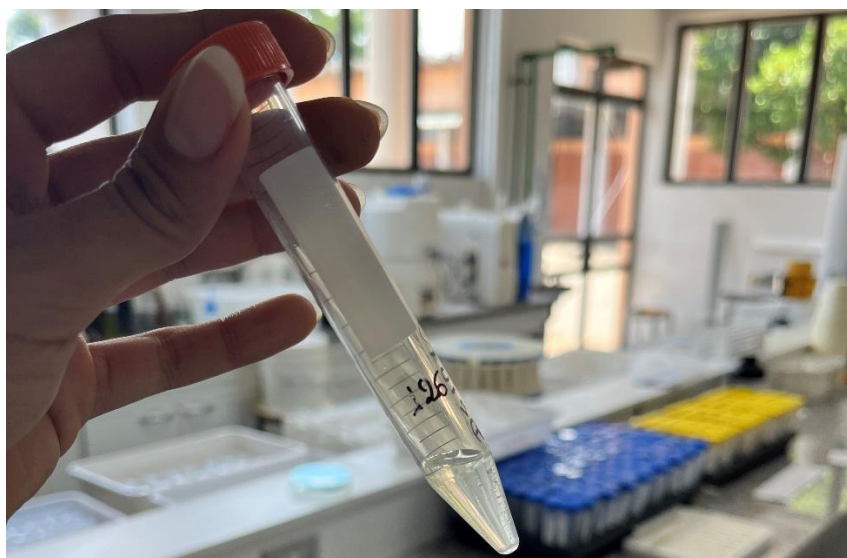


Fonte: Da autora (2022)

A decomposição ocorreu em frasco fechado e assistida por radiação micro-ondas seguindo as etapas: (i) 3 minutos a 400 W; (ii) 6 minutos a 850 W; (iii) 10 minutos a 1000W; (iv) 15 minutos de resfriamento, num total de 34 minutos.

Após resfriamento, a solução foi transferida para tubos cônicos de 15 mL e avolumados para 10 mL utilizando água ultra-pura (Milli-Q System). Foram analisados também 27 brancos analíticos, seguindo o mesmo procedimento, exceto pela adição da amostra. Em seguida, foram realizadas as análises por ICP OES.

Figura 8 – Amostra após digestão ácida assistida por radiação micro-ondas



Fonte: Da autora (2022)

4.5.2 Curvas de calibração para análise por ICP OES

As curvas de calibração foram construídas para o método de preparo de amostra com concentrações de 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1 e 2,5 mg L⁻¹ de Mn e Zn, obtidas por diluição da solução multielementar de 1000 mg L⁻¹.

Foram selecionadas as linhas de emissão que permitiram melhores linearidades nos modelos de calibração e que obtiveram melhores graus de concordância com os materiais de referência certificado BCR 482 (IRMM, *Institute for Reference Materials and Measurements*, Retieseweg, Belgium) e NIST 1547 (*National Institute of Standards and Technology*, Gaithersburg, MD, EUA).

4.5.3 Condições operacionais das medidas por ICP OES

As condições operacionais utilizadas seguiram as recomendações do fabricante. As informações encontram-se na tabela 2:

Tabela 2 – Condições Operacionais do ICP OES

Parâmetro	Condição de análise
Potência do plasma	1400 W
Gás / Pureza	Argônio / Pureza maior que 99,99%
Vazão do gás de resfriamento	12 L min ⁻¹
Vazão do gás auxiliar	0,8 L min ⁻¹
Vazão do gás nebulizador	0,85 L min ⁻¹
Determinação	Multielementar

Fonte: Da autora (2022).

Utilizando as condições da Tabela 2, a pastilha do material de referência certificado foi submetida às análises por pXRF, utilizando o equipamento Tracer 5g, Bruker. Após as análises,

foi realizada a deconvolução dos espectros e obteve-se a intensidade dos picos. Para a avaliação das condições experimentais adequadas, utilizou-se a SNR para Mn e Zn. A razão sinal-ruído é calculada pela razão entre a intensidade líquida do elemento (NET) e a raiz quadrada do *background* (BG), da seguinte forma:

$$SNR = \frac{NET}{\sqrt{BG}} \quad (1)$$

A deconvolução e as SNRs dos raios X característicos dos elementos manganês ($K\alpha = 5,90$ keV) e zinco ($K\alpha = 8,64$ keV) foram avaliadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Verificação da eficiência do método de digestão

Para avaliar o grau de concordância entre os resultados obtidos e os disponíveis nas amostras certificadas BCR 482 e NIST 1547, foi utilizada a seguinte equação:

$$\text{Grau de concordância} = \left(\frac{\text{Concentração determinada}}{\text{Concentração certificada}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Os resultados estão apresentados nas tabelas 3 e 4. A partir dos resultados, percebe-se que as concentrações determinadas foram muito próximas aos valores certificados. O grau de concordância indica que o método empregado de digestão e análise por ICP OES produz resultados confiáveis que poderão ser usados na construção dos modelos de calibração.

Tabela 3 – Grau de concordância para Zn

Material certificado	Zn certificado (mg kg ⁻¹)	Zn determinado (mg kg ⁻¹)	Grau de concordância (%)
BCR 482	100,6 ± 2,2	101,8 ± 2,4	101,2
NIST 1547	17,97 ± 0,53	20,63 ± 2,3	114,80

Fonte: Da autora (2022)

Tabela 4 – Grau de concordância para Mn

Material certificado	Mn certificado (mg kg ⁻¹)	Mn determinado (mg kg ⁻¹)	Grau de concordância (%)
NIST 1547	97,8 ± 1,8	100,9 ± 4,29	103,2

Fonte: Da autora (2022)

5.2 Digestão assistida por radiação micro-ondas das amostras de líquens para a posterior determinação de Mn e Zn por ICP OES

A radiação micro-ondas tem sido muito utilizada em vários campos da química. No caso do preparo de amostras, as aplicações têm avançado cada vez mais, principalmente ao utilizar decomposição via seca e via úmida, fusão e extrações para acelerar reações químicas. Os efeitos térmicos da radiação micro-ondas para fins analíticos demonstram ótimos desempenhos para amostras orgânicas e inorgânicas. Além disso, o aquecimento por micro-ondas permite digestões seguras e mais rápidas comparadas aos sistemas de aquecimento convencionais (KRUG *et al.*, 2016).

Quando associada à utilização de frascos fechados, a digestão ácida assistida por radiação micro-ondas apresenta muitas vantagens: maior eficiência na dissolução em temperaturas elevadas, redução no risco de perdas por volatilização de analitos, redução no risco de contaminações pelo ambiente e redução no consumo de reagentes de alta pureza (KRUG *et al.*, 2016).

Apesar de ser descrito como desvantagem inerente à utilização de sistemas fechados de digestão assistida, a utilização de pequenas quantidades de amostra se torna uma vantagem. A técnica não permite a utilização de grandes massas devido à pressão interna desenvolvida dentro do frasco pela pressão de vapor do ácido utilizado e da pressão gerada pelos produtos gasosos resultantes das reações de decomposição (KRUG *et al.*, 2016). Porém, para utilização de materiais orgânicos, como líquens e amostras vegetais, a necessidade de pouca amostra é uma vantagem devido à baixa disponibilidade dessas.

Outras vantagens da utilização de pequenas massas de amostras é a utilização de menores volumes de ácidos e demais reagentes, tornando o preparo de amostra mais econômico e em conformidade com a química verde, ao reduzir a quantidade de resíduos químicos gerados.

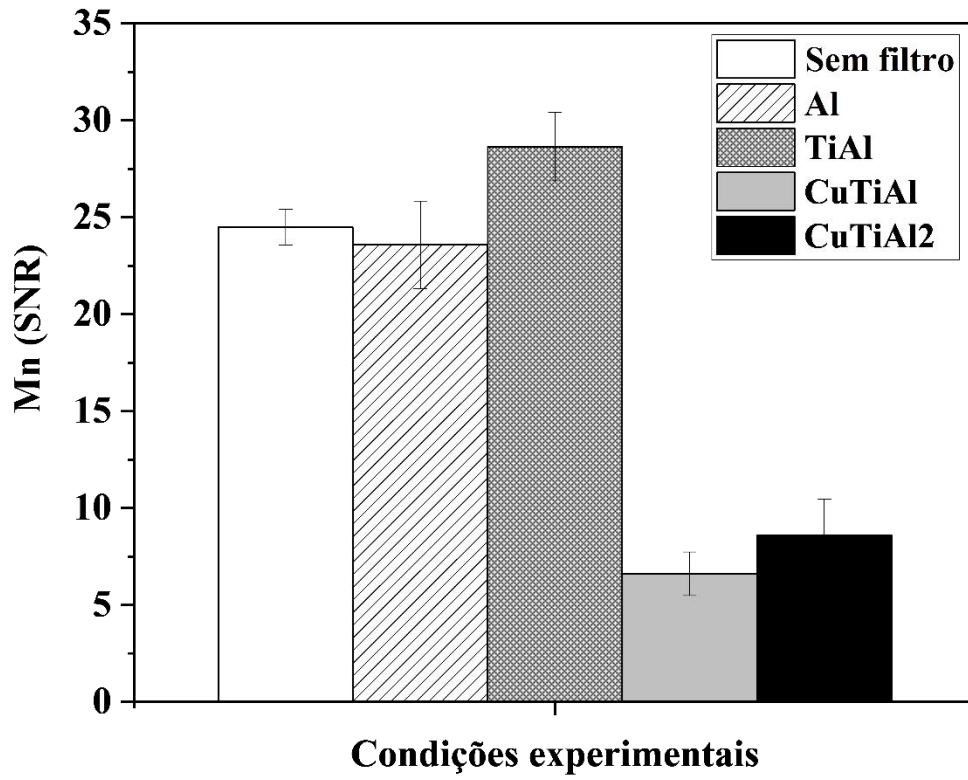
5.3 Otimização das condições de análise por pXRF

O filtro de feixes primários está localizado entre o tubo e a amostra e filtra componentes indesejáveis ou interferentes da radiação do tubo para determinadas aplicações, melhorando a razão sinal ruído (SNR, acrônimo do inglês para *signal-to-noise-ratio*) (SCHLOTZ.; UHLIG, 2006).

Pode perceber-se, a partir das Figuras 9 e 10, que a condição C com tensão de 50 kV; corrente de 22,4 μ A e com o filtro Ti 25 μ m e Al 300 μ m, obteve maior SNR para os dois elementos avaliados. Dessa forma, foi a escolhida para a condução das análises. Para Zn, é

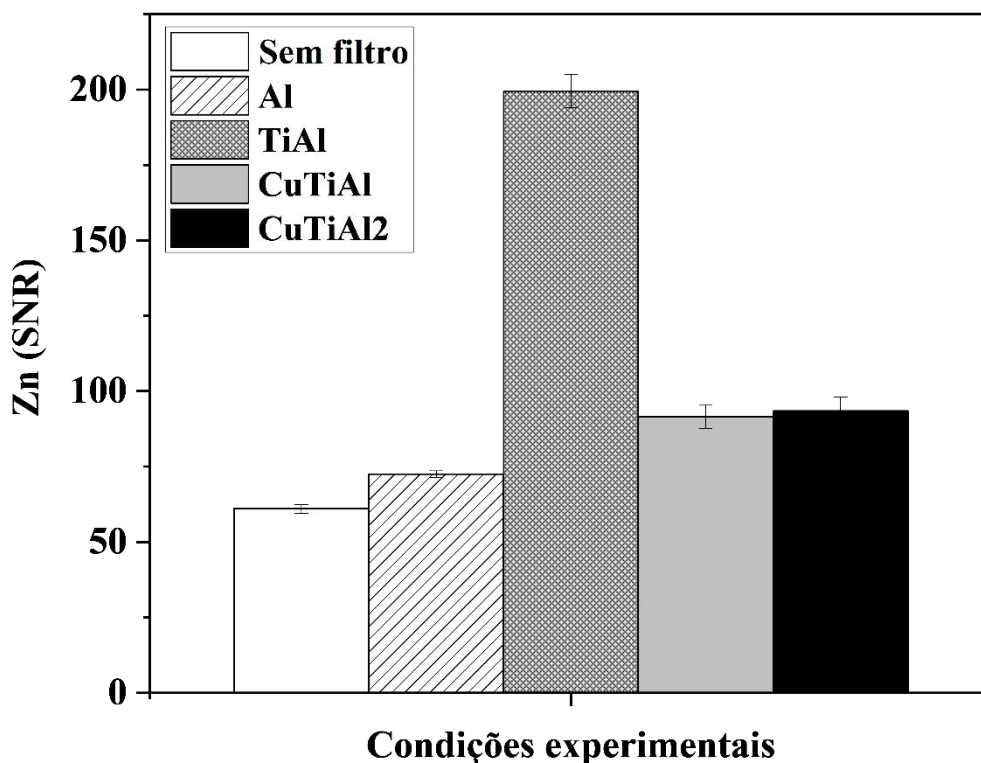
notório o ganho de sensibilidade utilizando esse filtro, uma vez que a SNR para esse elemento demonstrou melhora muito significativa.

Figura 9 - Otimização das condições de análise para Mn



Fonte: Da autora (2022)

Figura 10 – Otimização das condições de análise para Zn



Fonte: Da autora (2022)

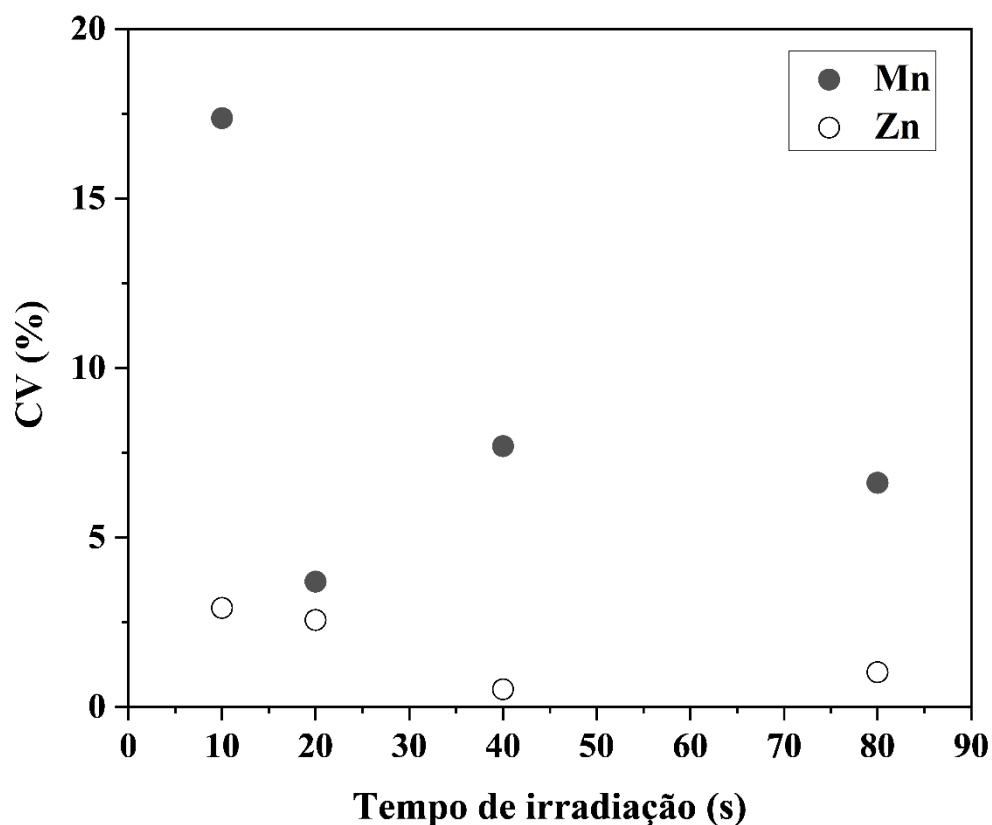
5.4 Otimização do tempo de irradiação

O tempo de irradiação nas análises por pXRF pode influenciar e afetar a precisão da análise. O tempo de irradiação ideal depende do elemento investigado e da concentração deste na amostra. Porém, por se tratar de uma análise multielementar simultânea, na prática não é viável a determinação de tempo específico para cada elemento (PEARSON *et al.*, 2013).

Para a otimização das condições de tempo foi utilizada a mesma amostra de material de referência certificado e as condições selecionadas no item 5.1. Após o tratamento dos espectros, foram avaliados os tempos de análise a partir dos coeficientes de variação para determinação de Mn e Zn. Foi selecionado o tempo de 20 s já que apresenta a maior frequência analítica e melhor precisão de medidas (menor que 5 % de coeficiente de variação) para ambos os elementos avaliados. Os resultados podem ser vistos na Figura 11.

Nesse sentido, a utilização de um tempo significativamente reduzido para análise possibilita agilidade. Para 20 s, tempo escolhido para esse estudo, é possível realizar 180 medidas em um intervalo de uma hora aproximadamente, não contando as trocas de amostras e outros fatores que dependem do operador.

Figura 11 – Avaliação do tempo de irradiação na amostra



Fonte: Da autora (2022)

5.5 Análises de líquens por pXRF

O desenvolvimento tecnológico nos equipamentos que utilizam a XRF vem trazendo simplicidade de operação e tornaram mais econômicos os processos de análise utilizando a técnica. A versatilidade e o desenvolvimento fazem com que a técnica seja cada vez mais utilizada para investigação de problemas analíticos. O desenvolvimento de equipamentos portáteis tornou possível a utilização da técnica em campo, ou *in situ*, fazendo com que não seja necessário retirar as amostras de seus ambientes e nem de preparação prévia. A utilização dessas unidades portáteis favorece a obtenção de dados quase em tempo real, de forma a orientar a tomada de decisões críticas em campo, principalmente no contexto de contaminações, remoções ou estratégias de remediação (MARGUÍ, *et al.*, 2022).

A associação desses fatores tornou a XRF, além do seu caráter multielementar, técnica adequada para a maioria dos estudos ambientais. Outras características que contribuem para isso são a facilidade de automação, portabilidade, possibilidade de analisar diretamente amostras sólidas (sem necessidade de preparação utilizando a digestão ácida prévia) e tratar-se

de uma técnica não destrutiva podendo ser utilizada como uma ferramenta analítica para monitoramento e controle ambiental. Dessa forma, a XRF engloba 27 % dos estudos ambientais comparado às outras técnicas espectroscópicas (MARGUÍ, *et al.*, 2022).

Para líquens, principalmente sob a perspectiva de análises *in situ*, a técnica mostra-se grande aliada. Além de apresentar vantagens quanto à versatilidade, apresenta boa sensibilidade para análise qualitativa em campo, podendo ser utilizada para seleção de amostras e como pré-teste para futuros estudos e análises. Além disso, outro ponto de fundamental importância dá-se pela não necessidade de coleta de amostra. Como líquens são organismos vivos sensíveis, a coleta apresenta-se como fonte de estresse, tornando mais uma variável importante na avaliação de impacto ambiental.

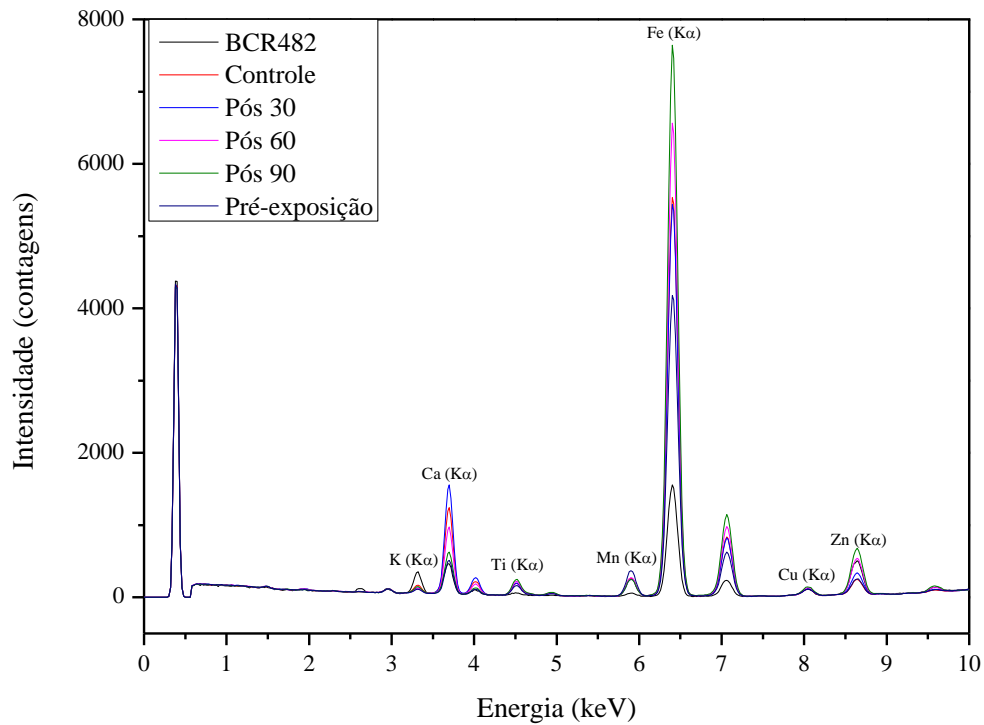
A análise qualitativa é um grande recurso do EDXRF devido à sua capacidade multielementar e de conduzir as análises direta de sólidos com o mínimo preparo de amostra. Dessa maneira, a análise de triagem é uma grande aplicação, principalmente para sistemas portáteis (PENG *et al.*, 2012; TURNER *et al.*, 2015). Apesar dos equipamentos de XRF terem limitações quanto à sensibilidade para alguns elementos relevantes para o meio ambiente, a maioria dos elementos importantes podem ser detectados, tornando a técnica boa alternativa para análises qualitativas e quantitativas (MARGUÍ, *et al.*, 2022).

A maioria dos estudos ambientais utilizando XRF estão relacionadas a análises qualitativas (MARGUÍ *et al.*, 2022). Dessa maneira, é possível utilizar essa técnica em campo, principalmente para distinguir amostras contaminadas de amostras controle. Essa análise pode dar-se a partir da verificação da intensidade dos picos para o elemento investigado, uma vez que a intensidade dos picos está diretamente relacionada à concentração do elemento nas amostras.

5.6 Análise por pXRF

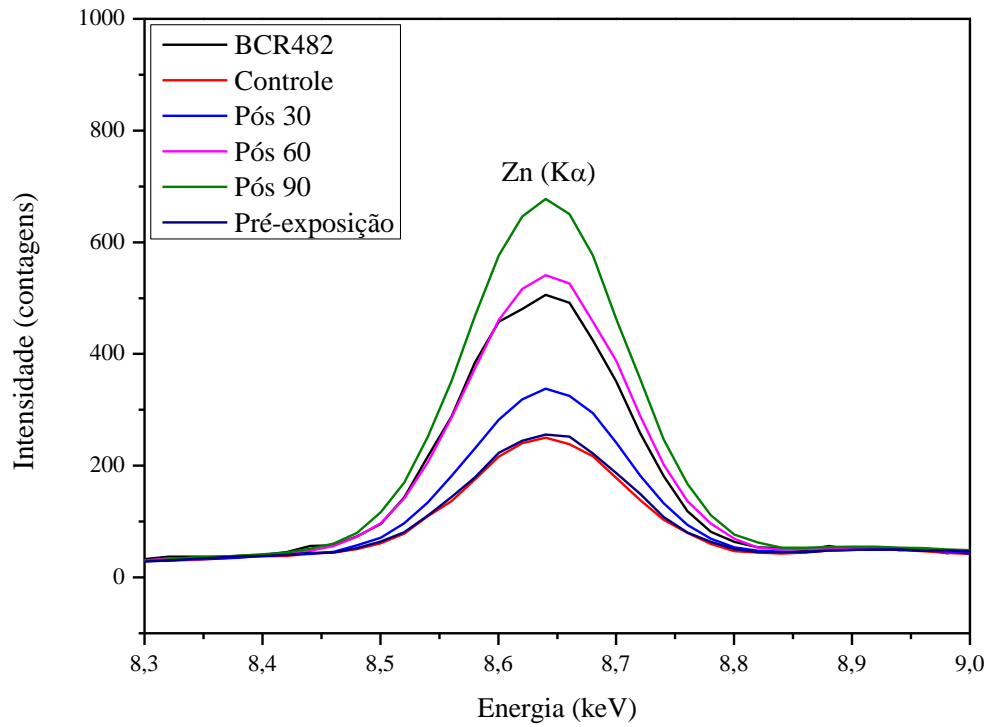
Após as análises das amostras em triplicata no equipamento de pXRF e feitas as deconvoluções, os espectros foram tratados e sobrepostos, como disposto na Figura 12.

Figura 12 – Espectros sobrepostos



Fonte: Da autora (2022)

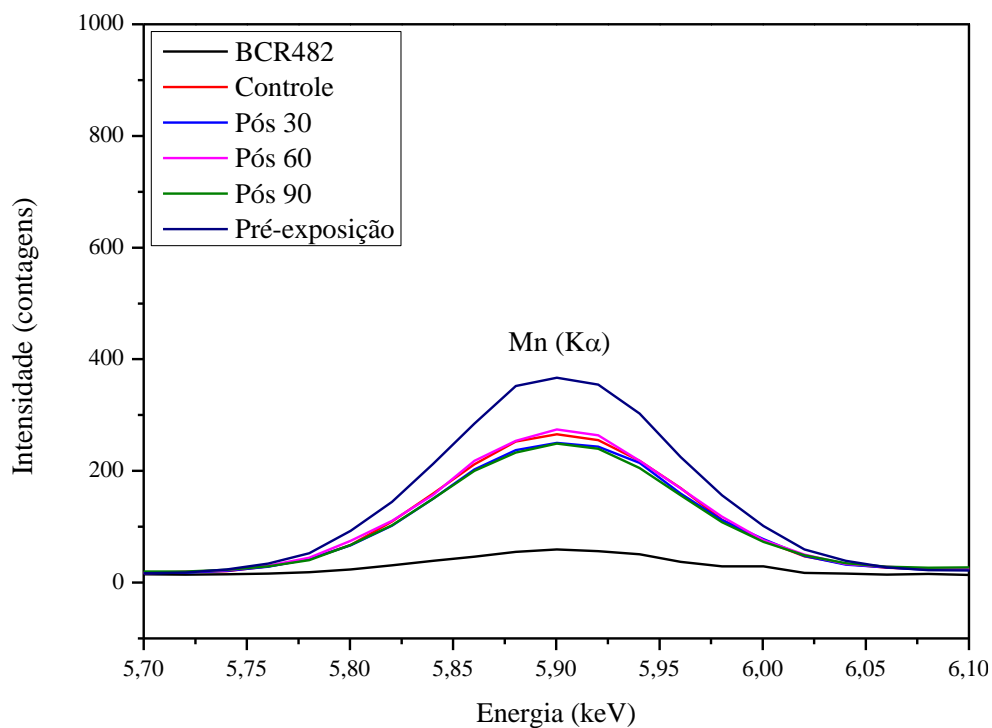
Para Zn (Figura 13) percebem-se maiores intensidades para amostras do grupo pós-90 dias e pós-60 dias. A partir desses resultados pode-se afirmar que a hipótese está correta, já que se espera picos com maiores intensidades para amostras que ficaram expostas por mais tempo no ambiente antropizado. Dessa forma, quanto maior o tempo de exposição, haverá maior acúmulo desse elemento nos tecidos de líquens, justificando porque esses grupos apresentam maiores intensidades. Também é possível inferir as concentrações, já que a concentração de Zn é conhecida para a amostra certificada, apresentando intensidade próxima a 500 contagens e concentração $100,6 \text{ mg kg}^{-1}$. Dessa forma, possivelmente as amostras expostas por 90 e 60 dias terão concentrações maiores que $100,6 \text{ mg kg}^{-1}$ pois apresentaram picos com maiores intensidades. Já as amostras dos grupos pré-exposição, controle e pós-30 possivelmente apresentarão concentrações menores, uma vez que resultaram em picos de menores intensidades.

Figura 13 – Espectros sobrepostos para Zn ($K\alpha$)

Fonte: Da autora (2022)

Já para Mn (Figura 14), não foi observada uma tendência tão clara de correlação entre tempo de exposição e sinal analítico para esse elemento, conforme pode ser visto na Figura 14.

Figura 14 – Espectros sobrepostos para Mn

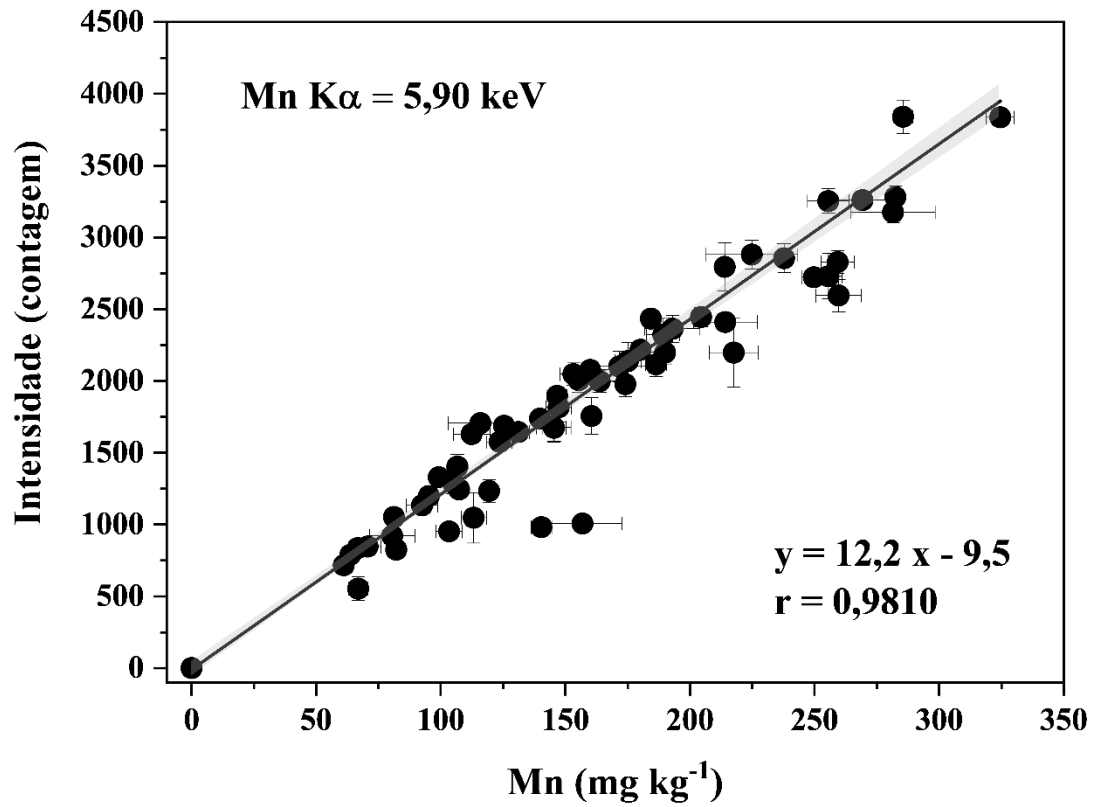


5.7 Curvas de calibração

A partir das concentrações obtidas pelo método de referência (digestão ácida e medida por ICP OES) pôde-se construir as curvas de calibração com todas as amostras analisadas para os equipamentos de pXRF. O nível de confiança foi de 95% de probabilidade.

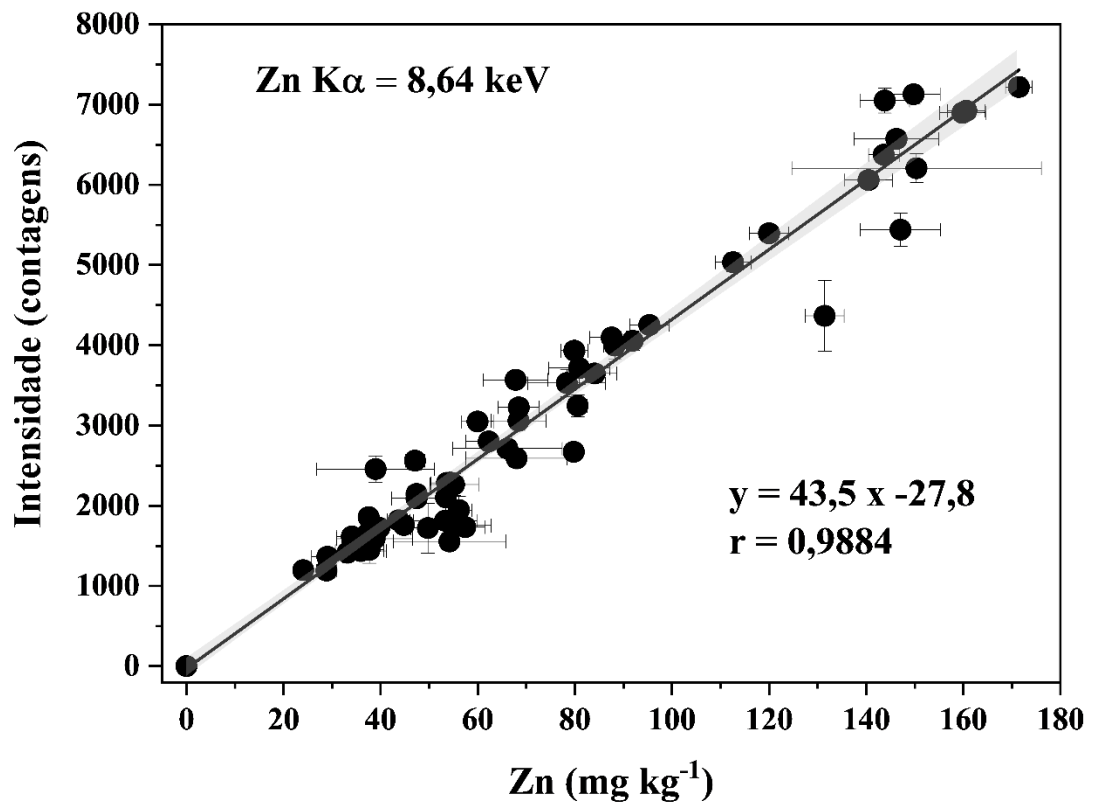
Os teores de Mn variaram de 64 a 282 mg kg⁻¹, enquanto os teores Zn variaram de 24 a 171 mg kg⁻¹. Os valores obtidos de correlação linear foram satisfatórios ($r > 0,9$), indicando boa correlação entre as concentrações determinadas para Mn e Zn entre ambas as técnicas (Figuras 15 e 16).

Figura 15 – Curva de calibração para Mn



Fonte: Da autora (2022)

Figura 16 – Curva de calibração para Zn



Fonte: Da autora (2022)

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Nesse estudo, desenvolveu-se um método analítico para determinação direta e simultânea de Mn e Zn utilizando pXRF em amostras de líquens da espécie *Parmotrema tinctorum*. O método empregado é uma excelente alternativa para o estudo de líquens principalmente devido à potencialidade do uso dos dispositivos portáteis diretamente no campo. Esse estudo permitiu o desenvolvimento de método para análise dessa espécie a partir de configurações disponíveis no equipamento que possibilitaram o aumento de sensibilidade para Mn e Zn, analitos em estudo. O tempo de irradiação das amostras também foi otimizado, permitindo que as análises ocorressem em um tempo de 20 s, agilizando as determinações.

Espera-se que possam ser desenvolvidos mais estudos objetivando a proposição de mais métodos para a avaliação de outros EPTs e em outras espécies de líquens. Estudos que visem ao desenvolvimento de novos métodos contribuem para as intervenções e a avaliação de atividades antrópicas e subsidiam a proposição de novas legislações, pois os líquens são excelentes organismos biomonitoradores e muito sensíveis às espécies químicas, de fácil obtenção e ainda com possibilidade de transplante de áreas controle para áreas possivelmente contaminadas.

INFOGRÁFICO COMO PRODUTO PARA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

1 INTRODUÇÃO

A divulgação científica é um conceito mais restrito que difusão científica e mais amplo que comunicação científica. Enquanto a difusão trata de qualquer processo utilizado para a comunicação da informação científica com orientação para especialistas ou público leigo, a divulgação científica pode ter diversos objetivos. Um desses objetivos é a popularização para a comunicação de informação científica ao público geral utilizando processos e recursos específicos para a comunicação (BUENO, 1985). Uma das ferramentas que pode ser utilizada para tal é o infográfico. Essa ferramenta alia imagens e textos com o objetivo de comunicar uma informação e permite a exploração de maneira ampla e distinta aos indivíduos.

Dessa forma, o objetivo desta seção é propor um infográfico como ferramenta para divulgação científica para demonstrar como as áreas de química e biologia podem se associar para promoção do desenvolvimento de conhecimentos científicos. Deseja-se atingir alunos do Ensino Médio e da comunidade acadêmica na percepção da contribuição e afinidade entre as áreas de Química e Biologia.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A divulgação científica pode ser definida como o uso de processos e recursos técnicos para a comunicação da informação científica e tecnológica ao público em geral (BUENO, 1985). Dessa forma, a divulgação pressupõe a tradução de uma linguagem especializada, a científica, para uma popular e não científica, com o objetivo de atingir um público mais amplo (ALBAGLI, 1996).

O papel da divulgação científica tem se alterado, acompanhando o desenvolvimento da Ciência e da Tecnologia (ANANDAKRISHNAN, 1985). No âmbito educacional, age com o objetivo de ampliar o conhecimento e a compreensão do público leigo, ou comunidade, sobre o processo científico e sua lógica. Visa à transmissão da informação científica com caráter prático e objetivo para esclarecimento dos indivíduos sobre fenômenos e soluções de problemas já desenvolvidos cientificamente, além do caráter cultural para o estímulo da curiosidade científica como atributo humano (ALBAGLI, 1996).

A interdisciplinaridade é um termo que tem sido empregado na justificativa de cooperação entre áreas de conhecimentos distintos, que se conectam por meio de conceitos e métodos comuns entre elas. Essa interação tem como objetivo melhorar e potencializar a compreensão da realidade (ZABALA, 2002). Outros autores, como Etges (1995) entendem a interdisciplinaridade como uma transposição entre contextos de disciplinas, fazendo-as acessíveis entre a própria comunidade científica. A interdisciplinaridade se torna possível quando a produção, objetivos e métodos de uma pesquisa ou contexto ultrapassa as fronteiras das disciplinas envolvidas (FAZENDA, 2008). Dentro dos Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN) também há menções sobre a interdisciplinaridade entre os conteúdos abordados nas aulas (BRASIL, 2000).

O termo infográfico vem do inglês *informational graphics* e alia o texto e imagem com o intuito de transmitir uma mensagem visualmente atraente para o leitor, mas com teor informativo (MÓDOLO, 2007). Há dois sentidos para a palavra “infografia”, o da perspectiva do autor e a do *software* gráfico utilizado para a construção (PABLOS, 1999). A infografia pode ser compreendida, então, como um sistema híbrido de comunicação que emprega a comunicação visual e a comunicação verbal (SCHIMITT, 2006).

O uso da infografia remonta à pré-história, tendo os primeiros exemplares encontrados na Turquia. Alguns outros infográficos são famosos durante a história da humanidade, como os estudos de embriões de Leonardo da Vinci, a Marcha de Napoleão de Charles Joseph Minard e o Mapa do metrô de Londres, de Harry Beck, que, posteriormente, tornou-se um modelo para

as redes de metrô do mundo (BOTTENTUITT JUNIOR, LISBOA, COUTINHO, 2011). Depois disso, os infográficos evoluíram ao longo do tempo, por meio de quatro gerações: i) a informação organizando-se de forma linear; ii) a utilização de hiperligações e animações; iii) a utilização de recursos multimídias e, iv) utilização da internet como base de dados (AMARAL, 2009). A última geração descrita, transformou os infográficos em ferramentas que podem ser aplicadas em vários contextos, inclusive, o educativo.

A partir de uma abordagem pedagógica utilizando-se infográficos, podemos depreender que os indivíduos podem ter acesso a uma grande variedade de informações, ao passo que podem explorá-las de maneiras distintas. Portanto, pode ser utilizado como fonte alternativa de informação, como função de pesquisa, como uma fonte de discussão, como estratégia pedagógica para o ensino ou, ainda, uma ferramenta para a divulgação científica. Por estarem presentes também de formas digitais, os infográficos podem ser integrados em qualquer *Learning Management System* (LMS) (BOTTENTUITT JUNIOR; LISBOA; COUTINHO, 2011).

De acordo com a teoria do processamento da informação de Sweller, 1998 (COSTA, TAROUÇO, 2010), o cérebro humano possui uma memória sensorial, que tem como função captar os estímulos promovidos pelo meio ambiente; uma memória a curto prazo, também conhecida como memória de trabalho, que pode ser compreendida como uma agência de produção multimídia que está a todo instante operando e formando imagens e sons que são organizados de maneira significativa para então ser armazenada na memória de longo prazo. Depois desse armazenamento, as imagens e sons estabelecidos estão à disposição para reformulação e integração com novos conceitos, à medida que novas informações são recebidas.

3 JUSTIFICATIVA

Especificamente sobre as disciplinas de Química e Biologia, percebe-se que, conceitualmente, são estruturadas como complementares, já que possuem muitos tópicos em comum. Esses conteúdos poderiam ser abordados de forma conjunta para que houvesse minimização das lacunas de compreensão. Dos conceitos que associam os dois campos do conhecimento, pode-se destacar as reações químicas, ligações químicas, funções orgânicas, dentre outras. Além dos conceitos, alguns conteúdos estão intimamente correlacionados entre essas Ciências, como a Química Ambiental, Citologia, Ecologia, dentre outras. Além disso, as duas áreas trabalham juntas para a compreensão de fenômenos e impactos causados pela interação entre e de organismos vivos com a natureza.

A função da divulgação científica evolui ao longo do tempo, acompanhando a Tecnologia e a Ciência. Dessa forma, pode-se orientar com objetivos educacionais para ampliação do conhecimento do público leigo sobre o processo científico e sua lógica. Para esses objetivos pode estar relacionada à transmissão da informação científica com caráter prático ou cultural, estimulando a curiosidade científica como característica humana. Além disso, pode ter objetivos cívicos, no auxílio para tomadas de decisão e no desenvolvimento de opinião pública, assim como de mobilização popular auxiliando na ampliação da possibilidade da qualificação para participação do debate público (ALBAGLI, 1996).

4 HIPÓTESE

Utilizando-se das técnicas e metodologias desenvolvidas nesta pesquisa, é possível mostrar o processo de construção do conhecimento científico a partir do infográfico, bem como demonstrar que as áreas de Química e Biologia se relacionam para contribuições mútuas.

5 INFOGRÁFICO

Esse infográfico (Figura 17) foi desenvolvido com o objetivo de divulgação científica para todos os tipos de público. Pode ser utilizado em espaços não formais, como museus, praças e espaços abertos ao público geral, mas pode se destinar também à comunidade acadêmica, como forma de comunicação científica e tecnológica entre pares. Esse produto não visa à divulgação dos resultados da pesquisa. Esse produto foi desenvolvido através da plataforma CANVA[®], utilizando figuras disponibilizadas pela própria plataforma e imagens da autora.

Figura 17 – Infográfico (continua)

COMO QUÍMICA E BIOLOGIA PODEM SE RELACIONAR?

As técnicas analíticas desenvolvidas e utilizadas na área de química são grandes aliadas na investigação de problemas ambientais.

Muitos organismos estudados nos campos da biologia e das ciências ambientais são capazes de sinalizar e serem indicadores de problemas ambientais.

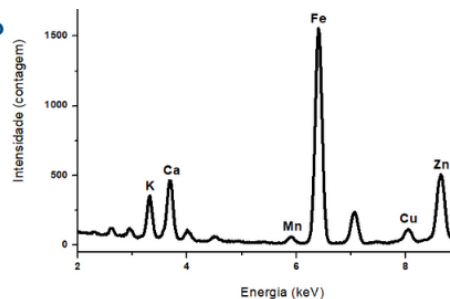
Os líquens são associações simbióticas, uma relação ecológica mútua, entre fungos e algas ou cianobactérias e são organismos bioindicadores.

Nessa associação, os fungos retêm umidade e outros componentes atmosféricos nela depositados. Elementos Potencialmente Tóxicos, como cádmio e chumbo, provenientes de atividades humanas, podem ser absorvidos e armazenados nos tecidos desse organismo.

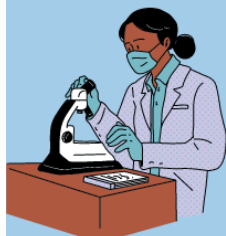
Figura 17 – Infográfico (continuação)

Como a química pode auxiliar?

A fluorescência de Raios X (XRF) é uma técnica analítica capaz de determinar a composição elementar de diferentes materiais, inclusive líquens!



Nessa técnica os átomos do material analisado são atingidos por raios X de alta energia, promovendo a remoção dos elétrons. O espaço deixado pelos elétrons removidos são ocupados por elétrons de camadas mais externas. Esse fenômeno emite energia na forma de fluorescência que é específico para cada elemento. O equipamento XRF capta a energia liberada da amostra e consegue trazer respostas sobre os elementos presentes!



**CIÊNCIA NÃO SE
FAZ SOZINHA, DE
JEITO NENHUM!**

Fonte: Da autora (2022)

REFERÊNCIAS

- ABU-SAMRA, A.; MORRIS, J. S.; KOIRTYOHANN, S. R. Wet ashing of some biological samples in a microwave oven. **Analytical Chemistry**, v. 47, p. 1475-1477, 1975.
- ADAMO, P. *et al.* Trace element accumulation by moss and lichen exposed in bags in the city of Naples (Italy). **Environmental Pollution**, v. 122, n. 1, p. 91-103, 2003.
- ALBAGLI, S. Divulgação Científica: Informação científica para cidadania. **Ciência da Informação**, v. 25, n. 3, 1996.
- ALEXANDRE, T. L.; BUENO, M. I. M. S. Classification of some species, genera and families of plants by x-ray spectrometry. **X-Ray Spectrometry**, v. 35, n. 4, p. 257-260, 2006.
- ALLOWAY, B.J. Heavy metals in soils. New York, **John Wiley & Sons**, p. 39, 1990.
- AMARAL, R. C. G. Limites dos infográficos jornalísticos na Web: sistematização preliminar de características distintivas e produtos semelhantes. In: **XXXII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DA COMUNICAÇÃO**, 32, Curitiba, 2009.
- ANANDAKRISHNAN, M. Planning and popularizing science and technology for development. **United Nations Tycooly Publishing**, Oxford, 1985.
- ASLAN, A. *et al.* Determination of elements in some lichens growing in Giresun and Ordu province (Turkey) using energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. **Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer**, v. 97, n. 1, p. 10-19, 2006.
- BAČKOR, M., & LOPPI, S. Interactions of lichens with heavy metals. **Biologia Plantarum**, v. 53(2), p. 214–222, 2009.
- BENATTI, M. N.; MARCELLI, M. P. Espécies de Parmotrema (Parmeliaceae, Ascomycota) do litoral centro-sul do Estado de São Paulo, Brasil: I. Grupos químicos girofórico e lecanórico. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, p. 1013-1026, 2009.
- BETTMER, J. *et al.* The emerging role of ICP-MS in proteomic analysis. **Journal of proteomics**, v. 72, n. 6, p. 989-1005, 2009.
- BIONDI, C.M; NASCIMENTO, C.W.A.; FABRICIO NETA, A.B.; RIBEIRO, M.R. Teores de Fe, Mn, Zn, Cu, Ni e Co em solos de referência em Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.35, p.1057-1066, 2011.
- BOAMPONSEM, L. K. *et al.* Assessment of atmospheric heavy metal deposition in the Tarkwa gold mining area of Ghana using epiphytic lichens. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 268, n. 9, p. 1492-1501, 2010.
- BOONPENG, C. *et al.* Influence of washing thalli on element concentrations of the epiphytic and epilithic lichen Parmotrema tinctorum in the tropic. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 28, n. 8, p. 9723-9730, 2021.

BORTOLETO, G. G. Desenvolvimento de Métodos Analíticos Usando Espectrometria de Raios X e Quimiometria. **Tese de Doutorado**. Campinas – SP, 2007.

BOTTENTUITT JUNIOR, J. B.; LISBOA, E. S.; COUTINHO, C. P. O infográfico e as suas potencialidades educacionais. **Quaestio - Revista de Estudos em Educação**, [S. l.], v. 13, n. 2, 2011.

BRASIL. Ministério da Educação e Cultura. Parâmetros Curriculares Nacionais (Ensino Médio), **Parte III – Ciências da Natureza, Matemática e suas Tecnologias**. Brasília, 2000.

BUENO, W.C. Jornalismo científico no Brasil: compromissos de uma prática dependente. (**Tese de doutorado apresentado à Escola de Comunicações e Artes da USP**). São Paulo, 1985.

CAHOON, E. M.; ALMIRALL, J. R. Wavelength dependence on the forensic analysis of glass by nanosecond 266 nm and 1064 nm laser induced breakdown spectroscopy. **Applied Optics**, v. 49, n. 13, p. C49-C57, 2010.

CANSARAN-DUMAN, D. *et al.* Accumulation of trace elements and the assessment of the genotoxicity in the lichen *Pseudevernia furfuracea* transplanted to a polluted site in Ankara. **Ekoloji**, v. 21, n. 85, p. 1-14, 2012.

CARVALHO, G. G. A. Análise de pastilhas de plantas por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser em regimes temporais de nano- e de femtossegundos. **Tese (Doutorado em Ciências)**, Programa de Pós-Graduação em Ciências, Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

CASTRO, J. P.; PEREIRA-FILHO, E. R. Twelve different types of data normalization for the proposition of classification, univariate and multivariate regression models for the direct analyses of alloys by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 31, n. 10, p. 2005-2014, 2016.

CERCASOV, V. *et al.* Comparative study of the suitability of three lichen species to trace-element air monitoring. **Environmental Pollution**, v. 119, n. 1, p. 129-139, 2002.

COMPANHIA, DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. CETESB Relatório de Estabelecimento de Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas. **São Paulo, SP**, p. 186-190, 2001. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/solo/valores-orientadores-para-solo-e-agua-subterranea/>

COCCHIETTO, M. *et al.* A review on usnic acid, an interesting natural compound. **Naturwissenschaften**, v. 89, n. 4, p. 137-146, 2002.

COLONI JÚNIOR, G. Concepção de manual de campo para diagnóstico e monitoramento da qualidade do ar utilizando fungos liquenizados, **Monografia (Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária)**, Unisul, Palhoça, 2019.

CONSONNI, J. L. Valores de referência de elementos inorgânicos potencialmente tóxicos em solos do Estado de São Paulo. **Repositório UFSCAR**. 2015.

COSTA, V. C. *et al.* Laser induced-breakdown spectroscopy (LIBS): histórico, fundamentos, aplicações e potencialidades. **Química Nova**, v. 42, n. 5, p. 527-545, 2019.

COSTA, V. M. & TAROUÇO, L. M. R. Infográfico: características, autoria e uso educacional. **RENOTE**, v. 8, n.3, 2010.

DE MOURA, J. M.; FERNANDES, A. T.; DA SILVA, J. C. Utilização de líquens como bioindicadores de poluição atmosférica na cidade de Cuiabá–MT. III Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental Goiânia/GO – 19 a 22/11/2012.

DULUDE, J. “Selecting the best ICP sample introduction system”. **Spectroscopy**, october, 2008. Disponível em: <https://www.spectroscopyonline.com/view/selecting-best-icp-sample-introduction-system>

ETGES, N. J. Ciência, interdisciplinaridade e educação. In: Jantsch, A. P. & Bianchetti, L. (orgs.) **Interdisciplinaridade: para além da filosofia do sujeito**. 3 ed. Petrópolis, RJ: Vozes, 1995.

EVANGELISTA, S. M. Digestão assistida por irradiação UV como um método de preparação alternativo para a determinação de metais em biodiesel e bio-óleo por espectrometria de absorção atômica com chama. **Repositório UNB**. 74 f. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

FAU, A. *et al.* Pulsed laser-induced heating of mineral phases: Implications for Laser-Induced Breakdown Spectroscopy combined with Raman spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 160, 105687, 2019.

FAU, A. *et al.* Pulsed laser-induced heating of mineral phases: Implications for Laser-Induced Breakdown Spectroscopy combined with Raman spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 160, 105687, 2019.

FAZENDA, I. C. A. Interdisciplinaridade e transdisciplinaridade na formação de professores. **Ideação**, v. 10, n. 1, p. 93-104, 2008.

FLEIG, M. *et al.* **Líquens da floresta com Araucária no Rio Grande do Sul**. Tübingen: Brasilien-Zentrum der Univ.[ua], 2008.

GARTY, J.; GALUN, M.; KESSEL, M. Localization of heavy metals and other elements accumulated in the lichen thallus. **New Phytologist**, v. 82, n. 1, p. 159-168, 1979.

GARTY, J. *et al.* Transplanted lichens in and around the Mount Carmel National Park and the Haifa Bay industrial region in Israel: physiological and chemical responses. **Environmental Research**, v. 85, n. 2, p. 159-176, 2001.

GAZLEY, M. F.; FISHER, L. A. A review of the reliability and validity of portable X-ray fluorescence spectrometry (pXRF) data. In: GAZLEY, M. F.; FISHER, L. A. Mineral Resource and Ore Reserve Estimation – **The AusIMM Guide to Good Practice**. 2ª Ed. p.69-82, 2014.

GINÉ-ROSIAS, M.F. Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-AES). Piracicaba, **CENA**, 1998.

GUERRA, M. B. B. *et al.* Biomonitoring of lead in Antarctic lichens using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 26, n. 11, p. 2238-2246, 2011.

GUERRA, M. B. B. “Estratégias Analíticas Para a Avaliação Química de Solos E Líquens Da Antártica Marítima.” **Repositório UFSCAR**, 2011.

HERRERO FERNANDEZ, Zahily *et al.* Multielement analysis of lichen samples using XRF methods. Comparison with ICP-AES and FAAS. **X-Ray Spectrometry**, v. 45, n. 2, p. 77-84, 2016.

JENKINS, R. X-Ray Fluorescence Spectrometry. 2.ed., **New York: Wiley-Interscience**, 1999.

KALNICKY, D.; SINGHVI, R. Field portable XRF analysis of environmental samples. **Journal of Hazardous Materials**, v. 83, p. 93-122, 2001.

KIERCZAK, Jakub *et al.* Solid speciation and mobility of potentially toxic elements from natural and contaminated soils: A combined approach. **Chemosphere**, v. 73, n. 5, p. 776-784, 2008.

KINGSTON, H. M.; JASSIE, L. B. Microwave acid sample decomposition for elemental analysis. **Journal of Research of the National Bureau of Standards**, v. 93, n. 3, p. 269-274, 1988.

KOUADRI, L.; BENAMAR, M. E. A.; BENKHALIFA, A. Evaluation by X-ray fluorescence (XRF) of major and trace elements accumulated in *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. (1860) indicating levels of pollution in Blida area (Algeria). **Algerian Journal of Environmental Science and Technology**, v. 5, n. 4, 2019.

KRUG, F. J.; ROCHA, F.R. P. Métodos de preparo de amostras para análise elementar. EditSBQ, **Sociedade Brasileira de Química**, São Paulo, 572p, 2016.

LEMIÈRE, B. A review of pXRF (field portable X-ray fluorescence) applications for applied geochemistry. **Journal of Geochemical Exploration**, 188, p. 350-363, 2018.

MAJUMDAR, S. *et al.* Accumulation of minor and trace elements in lichens in and around Kolkata, India: an application of X-ray fluorescence technique to air pollution monitoring. **X-Ray Spectrometry**, v. 38, n. 6, p. 469-473, 2009.

MARCELLI, M. P. Ecologia Liquênica nos Manguezais do Sul-Sudeste Brasileiro. *Bibliotheca Lichenologica* 47. **BIBLIOTHECA LICHENOLOGICA**. Berlin. p. 310, 1992.

MARGUÍ, E.; QUERALT, I.; ALMEIDA, E. X-ray fluorescence spectrometry for environmental analysis: Basic principles, instrumentation, applications and recent trends. **Chemosphere**, 135006, 2022.

MARKERT, B. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element analysis in plant matrices. **Science of the Total Environment**, v. 176, p. 45-61, 1995.

MARTINS, S. M. A. Estudo da Comunidade Liqueniada Epífita em *Dodonaea viscosa* L. na restinga do Parque Estadual de Itapuã, Viamão, RS. **Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente**. São Paulo, 2006.

- MARTINS, S. M. Ecologia de líquens e aplicações no monitoramento ambiental. **Ecological Applications**, v. 6, p. 68. 2013.
- MÓDOLO, C. M. Infográficos: características, conceitos e princípios básicos. In: **XII Congresso Brasileiro de Ciência da Comunicação da Região Sudeste**, 12., Juiz de Fora, 2007.
- MOTA FILHO, F. O. *et al.* Influência de poluentes atmosféricos em Belo Jardim (PE) utilizando *Cladonia verticillaris* (líquen) como biomonitor. **Química Nova**, v. 30, p. 1072-1076, 2007.
- MUSAZZI, S. PERINI, U. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy theory and applications, **Springer Verlag: Berlin-Heidelberg**, 565 p., 2014.
- NOLL, R. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. Fundamentals and Applications, **Springer: Aachen**, 2012.
- NÖLTE, J. ICP Emission Spectrometry: A Practical Guide; **Wiley – VCH**: Weinheim, 267p., 2003.
- PABLOS, J. M. Infoperiodismo: el periodista como creador de infografía. Madrid: **Editorial Sintesis**, 1999.
- PANTELICA, A. *et al.* Determination of 54 elements in lichen transplants: Comparison of INAA, ICPMS, and EDXRF. **Romanian Journal of Physics**, v. 61, n. 7-8, p. 1380-1388, 2016.
- PARSONS, C. *et al.* Quantification of trace arsenic in soils by field-portable X-ray fluorescence spectrometry: considerations for sample preparation and measurement conditions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 262, p. 1213-1222, 2013.
- PASQUINI, C. *et al.* Laser induced breakdown spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 463-512, 2007.
- PENG, Y.-Z., *et al.* Rapid analysis of heavy metals in coastal seawater using preconcentration with precipitation/Co-precipitation on membrane and detection with X-ray fluorescence. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**. v. 40, p. 877–882, 2012.
- PIRINTSOS, S. A. *et al.* Vertical distribution patterns of trace elements in an urban environment as reflected by their accumulation in lichen transplants. **Journal of Atmospheric Chemistry**, v. 54, n. 2, p. 121-131, 2006.
- POPESCU, I.; BIASOLI, M.; AJMONE-MARSAN, F.; STĂNESCU, R. Lability of potentially toxic elements in soils affected by smelting activities. **Chemosphere**, v. 90, p. 820-826, 2013.
- RADZIEMSKI, L., CREMERS, D. A brief history of laser-induced breakdown spectroscopy: From the concept of atoms to LIBS 2012. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 87, p. 3–10, 2013.
- RAVEN, P.H., EVERT, R.F., EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**, 7^a. ed. Coord. Trad. J. E. Kraus. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2007.

RIBEIRO, B. T. *et al.* Aplicações da fluorescência de raios-X portátil (pXRF) na Ciência do Solo tropical. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, n. 3, p. 245-254, 2017.

RICHARDSON, D. H. S. *et al.* The use of X-ray fluorescence spectrometry for the analysis of plants, especially lichens, employed in biological monitoring. **Science of The Total Environment**, v. 176, n. 1-3, p. 97-105, 1995.

ROMANOSKI, D. L.; GUMBOSKI, E. L. Líquens enquanto bioindicadores da qualidade ambiental. **Anais do XIV ENANPEGE**. Campina Grande: Realize Editora, 2021.

SANTOS, R. K., *et al.* Líquens Utilizados Como Bioindicadores Da Qualidade Do Ar Do Município Minerador de Itabira. **Research, Society and Development**, vol. 7, no. 12, 2018.

SATURNINO, S. Gradiente altitudinal de mercúrio em líquen por deposição atmosférica na serra Catarinense. 28 May 2021, www.udesc.br/cav/ppgcamb/dissertacoes/2021.

SCHMELING, M. *et al.* Multielement analysis by total reflection X-ray fluorescence spectrometry for the certification of lichen research material. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 357, p. 1042-1044, 1997.

SCHMITT, V. A infografia jornalística na ciência e tecnologia: um experimento com estudantes de jornalismo da Universidade Federal de Santa Catarina. **Dissertação (Mestrado em Engenharia e Gestão do Conhecimento) - Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, 2006.

SPIELMANN, A. A.; MARCELLI, M. P. Fungos liquenizados (líquens). **Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente: Instituto de Botânica**, São Paulo, out. 2006.

STATE, G. *et al.* Identification of air pollution elements in lichens used as bioindicators, by the XRF and AAS methods. **Romanian Journal of Physics**, v. 56, p. 240-249, 2011.

SWELLER, J. Cognitive load during problem solving: Effects on learning. **Cognitive Science**, v. 12, n. 2, p. 257-285, 1988.

TAKAHASHI, G. Sample preparation for X-ray fluorescence analysis, III. Pressed and Loose Powder Methods. **Rigaku Journal**, v. 31 (1), p. 26-30, 2015.

THOMAS, R. A beginner's guide to ICP-MS: part XII: — a review of interferences. **Spectroscopy**, New York, n. 17, v. 10, p. 24-31, 2002.

TURNER, A. *et al.* Metals in boat paint fragments from slipways, repair facilities and abandoned vessels: an evaluation using field portable XRF. **Talanta**, v. 131, p. 372-378, 2015.

USEPA Method 7473: mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry, Washington, DC, 2007.

WEINDORF, D. C., BAKR, N., ZHU, Y. Advances in Portable X-ray Fluorescence (PXRF) for Environmental, Pedological, and Agronomic Applications. **Advances in Agronomy**, p. 1–45, 2014.

ZABALA, A. Enfoque Globalizador e Pensamento Complexo: uma proposta para o currículo escolar. Porto Alegre: **Artmed**, 2002.

ZULAINI, A. A. M. *et al.* Evaluation of transplanted lichens, *Parmotrema tinctorum* and *Usnea diffracta* as bioindicator on heavy metals accumulation in southern peninsular Malaysia. **Journal of Sustainability Science and Management**, v. 14, n. 4, p. 1-13, 2019.