

Agradecimentos

Esta apostila foi elaborada durante o curso de pós-graduação em biofísica (IBCCF, UFRJ). A necessidade foi sentida no momento da tutoria de biofísica para alunos de graduação em Ciências Biológicas. Desta forma tem-se que agradecer a todos que fizeram parte deste processo de formação da autora e, que sem dúvida, contribuíram bastante com seus ensinamentos, opiniões e estímulo a elaboração do documento. Agradeço a Wolfgang C. Pfeiffer por toda a orientação recebida durante a pós-graduação; a Miriam B. Castro, Olaf Malm e Jean R. D. Guimarães pela orientação no trabalho com os alunos; a João Paulo M. Torres pela divisão da carga didática e principalmente pelos bons momentos; ao Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho e ao Programa de Tutoria UFRJ pela possibilidade dessa experiência.

Capítulo 1 – Apresentação

Entre os elementos químicos, os metais são os que constituem o maior grupo. Os metais são por definição bons condutores de eletricidade e, sua condutividade elétrica decresce com a temperatura. Diferenciam-se assim dos não-metais, os quais não são bons condutores elétricos e dos metalóides (B, Si, Ge, As, Te), cuja condutividade elétrica é baixa e aumenta com a temperatura (Forstner & Wittman, 1981).

De acordo com sua atividade biológica, os metais podem ser divididos em 3 grupos. Estes são: metais essenciais, aqueles com funções biológicas conhecidas e específicas; metais tóxicos; e metais eventualmente presentes nas células, sem funções definidas, podendo indicar um mau-funcionamento das mesmas (Beveridge et al., 1997).

1.1 – O termo metal pesado

Antes de apresentarmos as bases teóricas dos três grupos de metais supra-citados, vale definir o que se convencionou chamar de metal pesado.

O termo metal pesado refere-se aos metais com densidade acima de 5. de acordo com Beveridge et al. (1997), esta definição é arbitrária por representar um grupo diverso de metais. Entretanto a expressão metal pesado geralmente está associada a uma conotação de poluição e/ou toxicidade (Whitton, 1984).

1.2 – Metais essenciais

Os metais com funções essenciais na matéria viva são Na, K, Mg, Ca, V, Mn, Fé, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, e W. Os quatro primeiros são requeridos como elementos construtores no meio intracelular e, por isso mesmo sua concentração costuma ser elevada, sendo conhecidos como macronutrientes. Já os metais como Co, Ni, Zn, e Mo são necessários em baixíssimas concentrações, acima das quais passam a ser tóxicos. São por isso mesmo, chamados micronutrientes. A essencialidade do Cu ainda é discutível. O tungstênio tem sido recentemente apontado como essencial. Um exemplo são as bactérias termofílicas de fontes termais submarinas (130°C): acredita-se que elas sejam dependentes de tungstênio em seu metabolismo, já que este é um metal presente nos ventos hidrotermais (Adams, 1993)

H																					He
Li	Be											B	C	N	O		F				Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S		Cl				A
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se		Br				Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te		I				Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po		At				Rn
Fa	Ra	Ac																			
			Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu					
			Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	E	Fm	Md	No	Lw					

elementos essenciais
elementos tóxicos
elementos indiferentes
elementos com densidade acima de 5

Figura 1: Tabela periódica simplificada dos elementos mostrando os elementos essenciais, os tóxicos, os indiferentes e os metais pesados ou elementos com densidade acima de 5.

1.2.1 – Funções dos metais essenciais

Os metais essenciais desempenham diversos papéis no metabolismo dos seres vivos. Os elementos de transição e o zinco ligam-se firmemente a macromoléculas, particularmente proteínas, e estão envolvidos em processos como catálise enzimática de hidrólise ou reações de oxidação e/ou redução. Estes elementos são igualmente importantes no transporte e armazenamento de moléculas menores, tais como oxigênio.

Os cátions dos grupos 1 e 2 também participam de catálise enzimática, particularmente o magnésio. Outras funções conhecidas são mecanismos de controle de reações, estabilização de estruturas, neutralização de cargas e controle de pressão osmótica. Os cátions monovalentes são de particular importância nas duas últimas funções devido a seu caráter de fracos ligantes.

Como exemplos práticos podem ser citados:

- Mg central na molécula de clorofila;
- Cu do citocromo c-oxidase, enzima presente na mitocôndria, responsável pela transferência de elétrons (Cu^{+2} a Cu^+) numa das etapas da cadeia respiratória;
- Zn nos “zinc-fingers”, proteínas ligantes de DNA, importantes na ativação de reações de transcrição de proteínas.

1.2.2 – Transporte de metais essenciais

O transporte desses elementos para o interior das células tem merecido bastante atenção a nível fisiológico, bioquímico e genético (Beveridge et al., 1997). Moléculas pequenas e sem carga provavelmente entram por difusão passiva de acordo com um gradiente de concentração. Já os íons carregados requerem energia para serem transportados. Esta pode ser fornecida na forma de ATP ou o íon pode ser co-transportado com outro íon, geralmente Na^+ e H^+ , o qual é dirigido por um potencial transmembrana (como as ATPases).

O transporte mais bem conhecido é o do íon Fé em bactérias (Neilands, 1989). Este é realizado através de sideróforos, pequenas esferas de compostos quelantes de ferro. Os sideróforos são excretados para fora da célula, ligam-se ao Fe(III), são transportados para o interior da célula, onde Fe(II) é liberado. O estudo dos sideróforos é bastante estimulado por sua significância em patogenezidade, microbiologia ambiental e biotecnologia.

Transportes específicos de íons devem ser abordados conforme o caso em estudo.

1.3 – Metais tóxicos (não-essenciais)

Os metais classificados como tóxicos não têm função metabólica conhecida. São eles Ag, Cd, Sn, Au, Hg, Tl, Pb, Bi e Al.

Germânio, arsênico, antimônio e selênio são incluídos entre os metais tóxicos para fins de estudo, embora sejam na verdade, metalóides. Sua química é aniônica e não catiônica e, portanto, os metalóides exercem efeitos diferentes dos metais tóxicos.

O alumínio vem sendo considerado como um metal tóxico. Isto em decorrência da solubilização de aluminossilicatos nos solos em consequência das chuvas ácidas. As espécies de Al(III) são tóxicas às bactérias do solo e acabam gerando problemas em horticultura (Flis et al., 1993).

1.4 – Metais indiferentes (sem função específica)

Metais como Rb, Cs, Sr e vários metais de transição, são por vezes acumulados nas células por interações físico-químicas não específicas ou por mecanismos específicos de transporte (Gadd, 1988; Beveridge, 1989 a, b). Os íons acumulados podem exercer efeitos biológicos indiretos como a substituição do íon K^{+2} na neutralização de cargas de Rb^+ ou Cs^+ (avery et al., 1991). A presença desses metais em microrganismos, por exemplo, reflete as características geológicas ou ambientais de um local. Um exemplo é o encontro de $^{137}\text{Cs}^+$ em bactérias dos solos do norte europeu como consequência da deposição atmosférica do material radioativo de Chernobyl.

1.5- Deficiência e excesso de metais nos seres vivos

Os metais foram apresentados como essenciais, tóxicos e indiferentes, de acordo com sua função nos sistemas vivos. É importante conhecer o comportamento dos metais de acordo com essa característica de essencialidade à matéria viva. Na figura a seguir, são representados os modelos gráficos que representam a deficiência e o excesso dos metais. Esses modelos são clássicos e estão de acordo com Baccini & Roberts, 1976 (apud Förstner & Wittman, 1979).

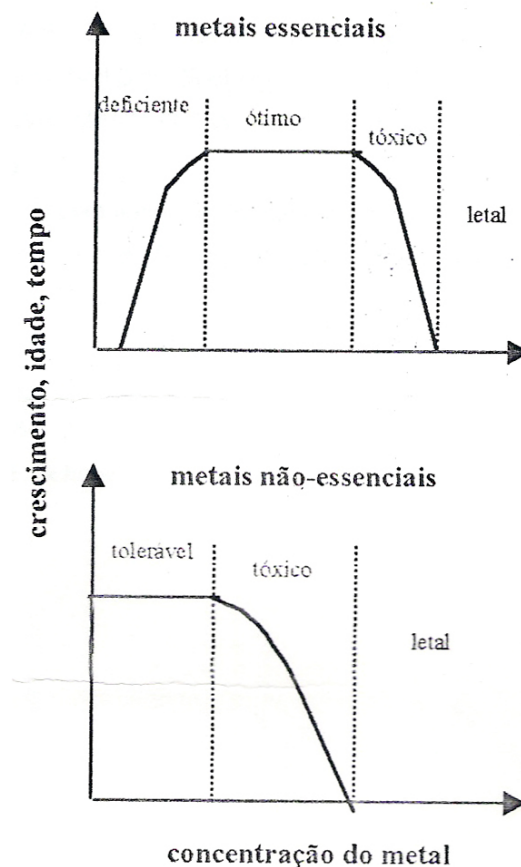


Figura 2: Modelos de comportamentos dos metais nos sistemas vivos: deficiência e excesso.

Referências bibliográficas:

- ADAMS MWW. 1993. Enzymes and proteins from organisms that grow near and above 100°C. Ann. Rev. Microbiol., 47: 627-658.
- AVERY SV, CODD GA, GADD GM. 1991. Cesium accumulation and interactions with other monovalent cations in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6893. J. Gen. Microbiol., 137: 405-413.
- BEVERIDGE TJ. 1989a. Role of cellular design in bacterial metal accumulation. Ann. Rev. Microbiol., 43: 293-316.

BEVERIDGE TJ. 1989b. Interactions of metal ions with components of bacterial cells walls and their biomineralisation. In: Metal-Microbe Interactions (RK Poole & GM Gadd, eds.), pp: 65-83. IRL Press, Oxford.

BEVERIDGE TJ, HUGHES MN, LEE H, LEUNG KT, POOLE RK, SAVVAIDIS I, SILVER S, TREVORS JT. 1997. Metal-microbe interactions: contemporary approaches. In: RK Poole (ed.), Advances in Microbial Physiology, Academic Press, 38: 178-243.

FLIS SE, GLENN AR, DILWORTH MJ. 1993. The interaction between aluminium and root nodule bacteria: a review. Soil Biol. Biochem., 25: 403-417.

FÖRSTNER U, WITTMANN GTW. 1981. Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlag, 486 pp.

GADD GM. 1988. Accumulation of metals by microorganisms and algae. In: Biotechnology – A Comprehensive Treatise. Special Microbial Processes. (H. J. Rehm, ed.), pp: 401-433. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.

NEILANDS JB. 1989. Siderophore systems of bacteria and fungi. In: T.J. Beveridge & R.J. Doyle (eds.), Metal Ions and Bacteria. John Wiley & Sons, New York, pp: 141-163.

WHITTON BA. 1984. algae as monitor of heavy metals in freshwaters. In: Algae as Ecological indicators L.E. Schubert (ed.), pp: 257-280. Academic press Inc.

Capítulo 2 – Metais no ambiente

2.1 – Características e comportamento dos metais

Falar sobre o comportamento dos metais no ambiente, é na realidade falar como os mesmos estão ou não disponíveis. E disponibilidade significa inferir o quanto de metal para pode ser efetivamente levado do compartimento abiótico para o biótico. Antigamente, a maior parte das pesquisas em metais baseava-se na concentração total de metal encontrada. Entretanto, tornou-se cada vez mais evidente que o impacto no ambiente de uma espécie particular de metal é mais importante que sua concentração total (Förstner & Wittman, 1979). Assim sendo, a compreensão do comportamento e mobilidade dos metais nos diversos compartimentos do ambiente depende muito mais de sua especiação (Salomons et al., 1995).

Para um dado elemento, o termo especiação indica a forma ou espécie química que o mesmo pode assumir. As diferentes formas químicas obedecem a uma determinada distribuição nos compartimentos da natureza. Por exemplo, compostos de metal sólidos têm menor mobilidade que compostos coloidais ou solúveis. A distribuição de um metal entre suas várias espécies é o resultado de uma série de reações químicas (Salomons et al., 1995).

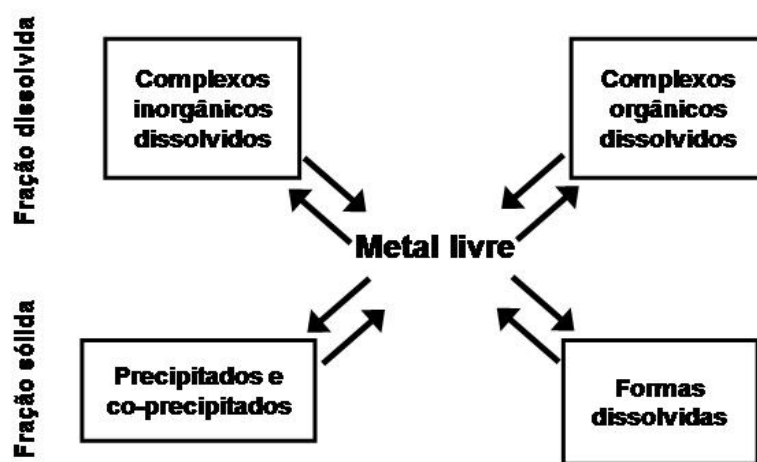


Figura 3: Especiação geoquímica dos metais (Solomons et al., 1995)

2.2 – Fatores que interferem na especiação

O tipo de espécie química do metal no ambiente e sua conseqüente solubilidade ou precipitação dependem de fatores físicos e químicos, como pH e potencial redox (Eh). A figura 4 apresenta um diagrama da solubilidade de metais em função desses fatores.

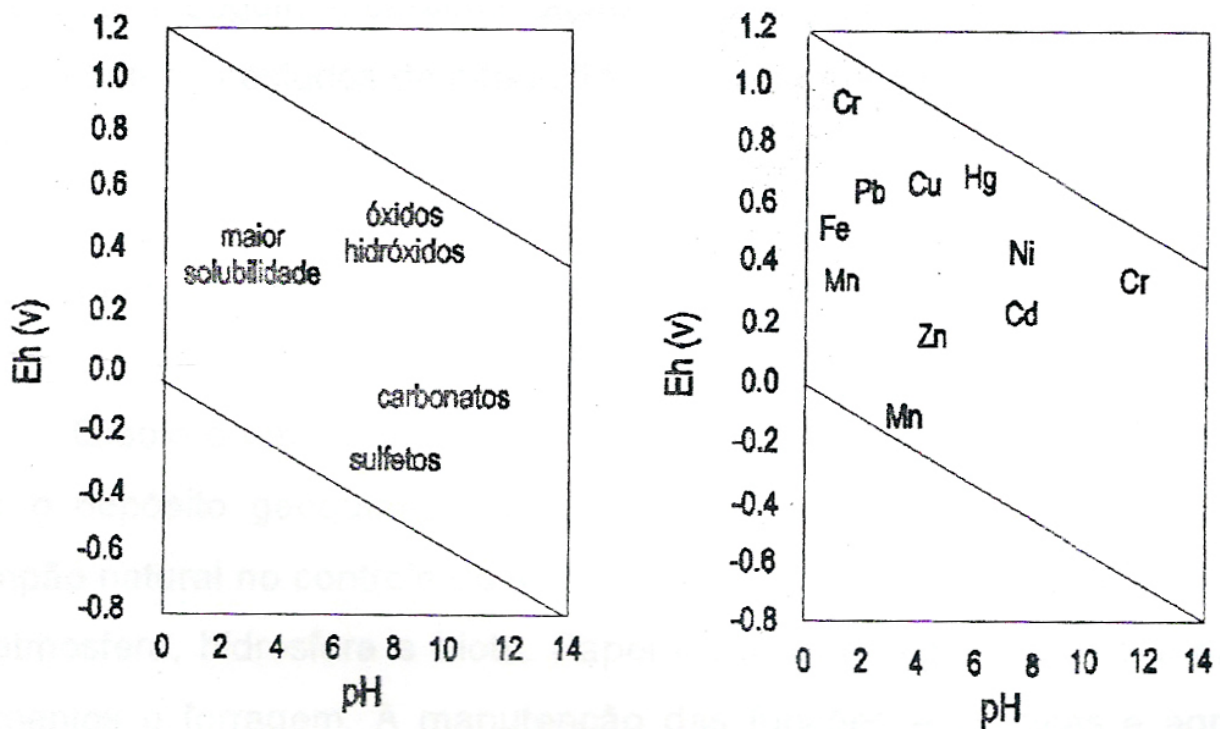


Figura 4: Solubilidade de acordo com pH e Eh (Salomons et al., 1995)

A presença de quelantes no ambiente também interfere na solubilidade dos metais. Os quelantes são moléculas às quais os metais se ligam formando complexos. Um exemplo clássico de molécula quelante é o sal de EDTA, muito usado em meios de cultura e diferentes organismos. Quelantes naturais presentes nos solos são os ácidos húmicos e fúlvicos que também funcionam como bons complexadores orgânicos de metal neste ambiente.

Íons orgânicos também podem afetar a especiação e disponibilidade dos metais formando precipitados. Fosfato, cloreto, arsenato e sulfato causam a precipitação de metais-traço essenciais (Hughes & Poole, 1991) diminuindo sua disponibilidade para os organismos. No ambiente um dos principais formadores de complexos inorgânicos é o íon Cl^- . Em concentrações de até mesmo 0,01 M deste íon, os metais tendem a ficar na forma de cloretos (Salomons et al., 1995).

Todos os fatores citados anteriormente são de fundamental importância na compreensão do comportamento dos metais nos diferentes ambientes, conforme será visto a seguir. A caracterização física e química do ambiente faz-se, portanto, necessária nos estudos de interação metais-ambiente.

2.3 – Metais no solo

O solo é um compartimento bastante específico na biosfera, não apenas por ser o depósito geoquímico final de contaminantes, mas também por agir como tampão natural no controle do transporte de elementos químicos e substâncias para a atmosfera, hidrosfera e biota. Papel igualmente significativo é o da produção de alimentos e forragem. A manutenção das funções ecológicas e agrícolas do solo depende em parte do equilíbrio dos metais nele presentes (Salomons et al., 1995). Por exemplo, os metais-traço devem estar disponíveis para o crescimento dos vegetais. Mas sua concentração não pode ser alta demais de tal forma que os contamine.

A adoção de padrões aceitáveis permissíveis de metais no solo é a chave para a proteção de suas funções ecológicas e de uma agricultura sustentável. A tabela a seguir apresenta os níveis máximos de metais aceitáveis no solo em diferentes países.

Tabela 1: Níveis máximos aceitáveis para metais considerados tóxicos em solos agrícolas (mg.Kg^{-1}) (Salomons et al., 1995).

Metal	Áustria	Canadá	Polônia	Japão	Inglaterra	Alemanha
As	50	25	30	15	20	40
Be	10		10			10
Cd	5	8	3		1	10
Co	50	25	50	50		
Cr	100	75	100		50	200
Cu	100	100	100	125	50	50
Hg	5	0,3	5		2	10
Mo	10	2	10			
Ni	100	100	100	100	30	100
Pb	100	200	100	400	50	500
Zn	300	400	300	250	150	300

2.3.1 – Equilíbrio dos metais no solo

O equilíbrio químico dos metais no solo pode ser caracterizado pela dissolução, difusão, sorção e precipitação. Espécies solúveis, trocáveis e queladas dos elementos-traço são as mais móveis no solo, e governam sua disponibilidade para os vegetais. O comportamento dos elementos-traço refletido em sua especiação depende grandemente das formas ou compostos adicionados assim como das condições do solo. Por exemplo, a concentração das espécies móveis e trocáveis de Zn e Cd diminui se houver despejos de esgotos sobre o solo (Salomons et al., 1995), pois as condições anóxicas provocadas pelos esgotos podem causar a precipitação desses metais.

Bastante cuidado deve ser tomado com as entradas antropogênicas de metais. Essas fontes poluidoras são: deposição aérea, aplicação de pesticidas e fertilizantes, utilização de

despejos (reciclagem de água usada), depósitos de sedimentos dragados e águas de irrigação e rios. Os metais antropogênicos formam diferentes espécies nos solos, dependendo das reações de superfície e de sítios de ligação externos com diferentes energias. A concentração de metais-traço em solução no solo é um bom índice de dimensão da fração móvel. Qualquer estresse químico é refletido em variações na concentração dos metais em solução. Em solos poluídos por emissões de vapores (como de siderúrgicas), a concentração de metais em solução é aumentada (Salomons et al., 1995)

A poluição proveniente da atividade agrícola também afeta o acúmulo de metais no solo. Se os vegetais presentes no solo contaminado desenvolvem tolerância ao poluente metálico, cria-se um risco, por inserir-se um elo de contaminação na cadeia alimentar. A tabela a seguir apresenta níveis de metais tóxicos encontrados em vegetais comestíveis devido à contaminação dos solos.

Tabela 2: Níveis de mercúrio, cádmio e chumbo em tomates e batatas crescidos em solos contaminados com Hg, Cd e Pb (mg.kg^{-1}) de acordo com Salomons et al. (1995).

Metais	Solo	Tomate		Batata	
		Folhas	Frutos	Folhas	Tubérculos
Hg	0,16	0,2	<0,005	0,03	<0,005
	54	12,6	0,06	10,6	0,005
	150	56,8	0,4	52,9	1,5
Cd	7,3	11,5	1,6	16,2	0,8
	54	52,4	2,3	45,4	1,6
	209	172,3	5,6	20,8	1,8
Pb	36	3,6	0,1	6,6	<0,05
	1055	68,5	0,2	29,4	0,3
	3800	200,8	0,8	172,8	1,1

2.4 – Metais na água

A composição iônica nas águas superficiais e profundas é consequência dos efeitos hidrológicos, mineralógicos e pluviométricos de uma região de forma integrada. Águas não poluídas devem presumivelmente refletir as concentrações de elementos-traço das rochas e solos. A concentração de elementos-traço nas águas das chuvas também tem seu efeito. Concentrações acima da média desses elementos nas águas profundas estão geralmente associadas a valores baixos de pH, sólidos altamente dissolúveis ou elevadas concentrações de quelantes orgânicos ou inorgânicos (Salomons et al., 1995).

2.4.1- Espécies químicas inorgânicas na água

Além da influência de fatores como pH e Eh, tem-se agora que considerar o grau de dureza da água (concentração de carbonato de cálcio – mg . L⁻¹). A reduzida toxicidade em águas alcalinas de dureza elevada é a melhor explicação para o decréscimo na incorporação de metais-traço nos organismos. Fatores físicos e químicos que influenciam a biodisponibilidade dos elementos nessas águas de acordo com Salomons et al. (1995) são:

- 1- precipitação de hidróxidos, carbonatos e hidróxi-carbonatos insolúveis ;
- 2- formação de complexos inorgânicos solúveis com carbonatos, hidróxidos, fosfatos e sulfatos;
- 3- competição entre cátions alcalinos-terrosos e elementos-traço pelos sítios de transporte nas membranas dos organismos.

Ainda não se sabe ao certo, se a especiação e a disponibilidade são influenciadas diretamente pelo grau de dureza (cálcio e magnésio) ou pela alcalinidade que geralmente acompanha o aumento em dureza. De qualquer modo, dados de experimentos publicados anteriormente indicam que a formação de complexos inorgânicos solúveis é o fator mais importante na redução da toxicidade do Cu em águas de dureza elevada.

2.4.2- Espécies químicas orgânicas na água

A forma pela qual a complexação orgânica de metais-traço ocorre em águas naturais e a biodisponibilidade desses complexos são uma importante questão. Com algumas exceções, a complexação orgânica usualmente reduz a biodisponibilidade das formas solúveis. Por exemplo, a quelação com EDTA reduz a toxicidade do Cu e Zn para as algas. Da mesma maneira, o acúmulo de Hg pela fauna bentônica é diminuído na presença de cisteína devido a complexação do metal com o aminoácido. Esses resultados sugerem que a acumulação biótica de metais-traço é maior em águas onde há menor concentração de compostos orgânicos dissolvidos (águas oligotróficas) do que em águas onde há maior abundância desses compostos (águas eutróficas)

Há autores que sustentam que a complexação orgânica aumenta a biodisponibilidade dos metais-traço. Na realidade, o aumento na incorporação de metais através da complexação pode resultar de: decréscimo na taxa de sorção dos metais pelo sedimento; solubilização de formas sólidas dos metais nos solos e sedimentos; redução de valência e/ou estabilização do estado de valência reduzida; formação de complexos fisiológicos ativos. Algumas plantas acumulam mais elementos-traço quando eles estão em complexos orgânicos (Salomons et al., 1995).

A complexação orgânica pode ser importante na manutenção das concentrações elevadas de metais-traço encontradas nas águas intersticiais (os complexos aqui ocorrendo com os

ácidos húmicos e fúlvicos). Mas isso não necessariamente representa um aumento na biodisponibilidade desses elementos. Sabe-se, por exemplo, que a adição desses ácidos aos solos aumenta a solubilidade do selênio, mas diminui sua incorporação pelas plantas de alfafa (Salomons et al., 1995)

2.5 – Metais na água do mar

Os metais são introduzidos na água do mar pelas descargas fluviais, ventos, fontes hidrotérmicas, intemperismo das rochas e atividades antropogênicas.

Os rios representam a maior fonte de metais particulados e dissolvidos, ambos sendo mobilizados durante o intemperismo de rochas graníticas e basálticas. Alguns dos metais-traço estão presentes como cátions adsorvidos às superfícies das argilas. Quando a água do rio encontra a do mar, ocorre um aumento da força iônica que leva à desorção de alguns desses metais. Por outro lado, o aumento da força iônica e do pH também causam a ressolubilização dos metais, os quais podem precipitar na forma de oxihidróxidos ou colóides organometálicos (Libes, 1992)

Os metais dissolvidos que chegam ao oceano são bem mais reativos do que os íons principais (Na e Cl). Muitas das reações causam sua conversão a formas sólidas. Como resultado, as rochas sedimentares, tais como as argilas marinhas, são enriquecidas em metais-traço se comparadas às rochas ígneas. Esses materiais sedimentares são relativamente pobres em Ca e Mg porque esses elementos ficam depositados em calcáreos e dolomita. A relativa depleção em Na nos materiais sedimentares deve-se à sua retenção como íon dissolvido na água do mar (Libes, 1992).

Alguns metais são depositados na superfície do mar como componentes das partículas aéreas carregadas com o vento. O transporte de As e Pb para o oceano aberto praticamente ocorre nesta forma. O transporte atmosférico é bastante importante no oceano aberto para seu enriquecimento, já que não existem outras formas de entrada. Mas em algumas regiões pode representar uma fonte elevada de poluição (Libes, 1992).

Partículas de sedimento com metais adsorvidos atingem os mares e uma significativa fração delas é ressolubilizada. Este processo é chamado remobilização diagenética. Os metais ressolubilizados podem se difundir através da interface água-sedimento nas regiões mais profundas. Sedimentos ricos em matéria orgânica, tais como os da zona costeira, são boas fontes de metais ressolubilizados e representam um enriquecimento desses elementos devido a labilidade da matéria orgânica particulada (MOP) (Libes, 1992).

Outra entrada de metais-traço é através das fontes hidrotermais. As águas quentes, ricas nesses elementos passam através de fissuras da crosta no fundo oceânico. Muitos dos metais precipitam como sulfetos imediatamente. Outros, como Mn, Fé, Ba, Li e Rb, reagem

mais lentamente. Esses fluxos hidrotermais são uma adição importante nos oceanos e parecem exceder os aportes fluviais e atmosféricos (Libes, 1992).

Os metais introduzidos pelas atividades antropogênicas muitas vezes excedem os aportes naturais. Isto representa um perigo efetivo em termos de poluição. Algumas vias são explosões nucleares e estruturas metálicas como as plataformas de petróleo. Mesmo pequenos aportes podem ser extremamente negativos. Este é o caso do estanho, introduzido via solubilização de tintas organometálicas usadas na prevenção de incrustações nos cascos dos navios. O impacto e a poluição causados por esta fonte tem sido objeto de grande preocupação (Libes, 1992).

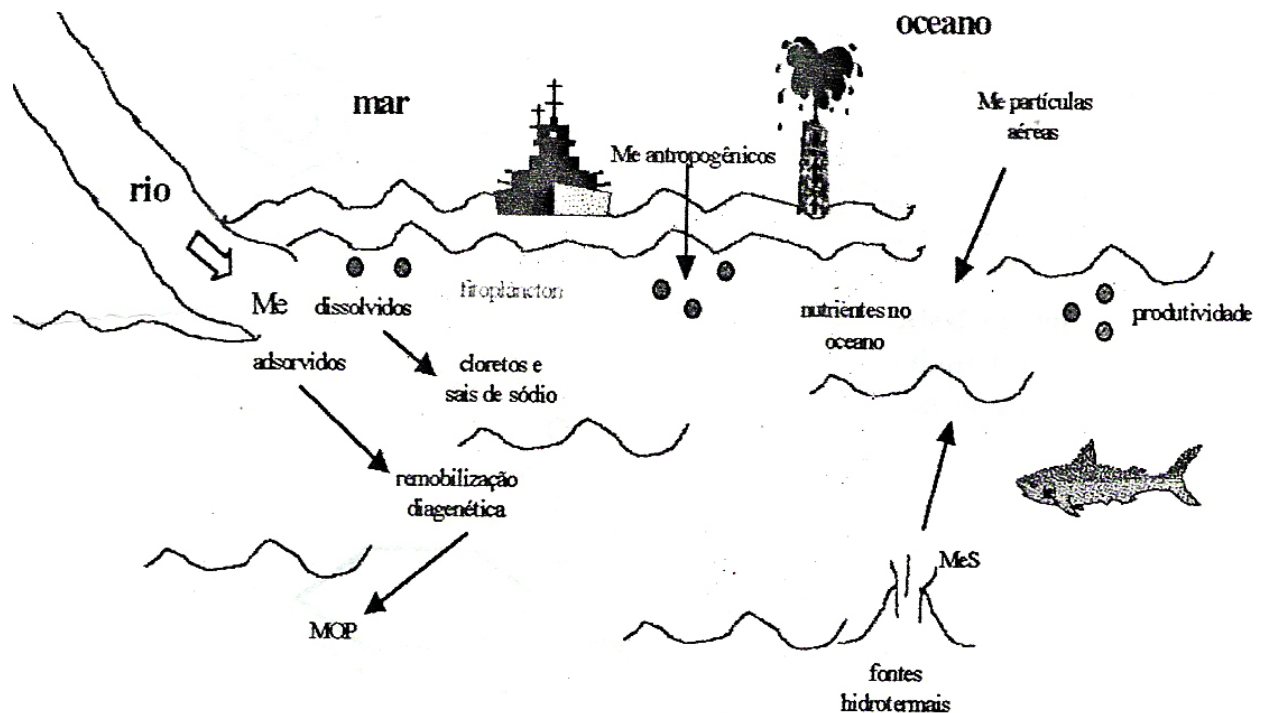


Figura 5: Esquema representativo das entradas de metais nos oceanos.

2.5.1 – Adsorção e precipitação sob condições oxigenadas

A maior parte da matéria orgânica nos oceanos, como os minerais de argila, oxidróxidos e MOP, possui carga negativa no pH da água do mar. Assim, os cátions metálicos são eletrostaticamente atraídos para a sua superfície. Desta forma metais dissolvidos são adsorvidos por filmes de matéria orgânica, como esquematizado na figura 6.

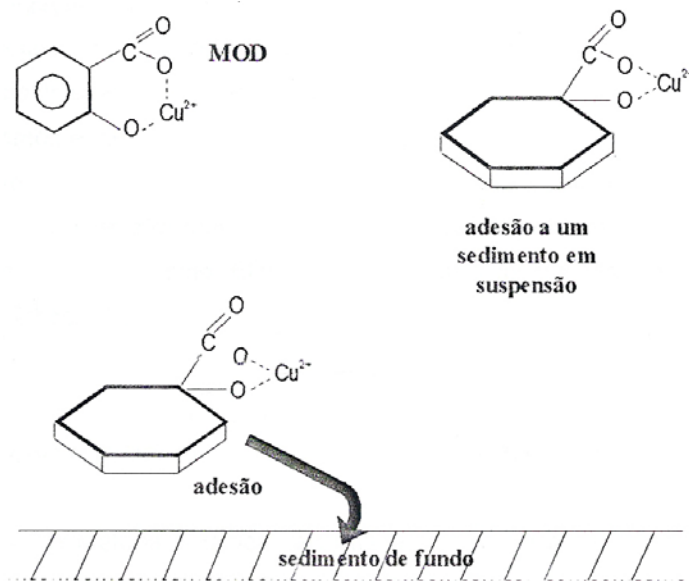


Figura 6: Complexação de íons metálicos por MO em sedimentos em suspensão, exemplificado pelo Cu (Thurman, 1985).

2.5.2 – Incorporação à biota nas regiões oxigenadas

Já mencionamos o papel dos metais como micronutrientes. No caso da água do mar, eles são extremamente importante para o fitoplâncton, já que fazem parte de enzimas que catalisam reações na glicólise, ciclo do ácido tricarboxílico, fotossíntese e metabolismo protéico. Os metais se acumulam nos organismos marinhos de acordo com o fator de concentração:

$$FC = \text{concentração do metal na biota} / \text{concentração do metal na água do mar}$$

Fatores de concentração tão altos quanto 10^5 podem ser observados. Os cátions principais têm maiores fatores de concentração. O Fe possui o mais alto, devido à sua ligação em biomoléculas, como a ferredoxina. Nos organismos menores, os metais possuem valores mais altos de FC, devido à sua grande relação superfície-volume (Libes, 1992).

Não devemos esquecer que os metais também se concentram nas conchas e esqueletos como as esículas de protozoários que possuem grande quantidade de Sr. Elementos como este são ressolubilizados da mesma forma que N, P e Si, ou seja, após a morte do organismo. Eles passam assim a ter um comportamento de macronutriente (Libes, 1992)

2.5.3 – Adsorção e precipitação sob condições anóxicas

A oxidação da matéria orgânica particulada pode levar a condições anóxicas que permitem às bactérias reduzir sulfatos a sulfetos. Por outro lado, um nível alto de MOP também é remineralizado, deixando os metais-traço solúveis. Os níveis resultantes de sulfetos e

metais dissolvidos são altos o bastante para formar sulfetos metálicos insolúveis em águas pouco oxigenadas (Libes, 1992).

2.6 – Metais na biota

os organismos vivos requerem os elementos-traço em quantidades suficientes para suprir suas funções nutricionais, mas não em quantidades tão elevadas que se tornem tóxicos. A margem entre o adequado e a toxicidade por muitos metais é bastante tênue, talvez um fator de 2 em alguns casos. Assim qualquer fator ambiental que reduza ou aumente a acumulação de um elemento-traço tem uma importância biológica grande. A acúmulo e a detoxificação de um elemento por um organismo também depende da espécie química deste elemento.

Como já visto, os fatores físico-químicos ambientais que determinam a disponibilidade do metal são fundamentalmente o potencial redox (Eh) e o pH. Também já vimos que a quantidade e a reatividade das várias espécies dos elementos tais como óxidos, matéria orgânica carbonatos, fosfatos, e sulfetos também têm pronunciado efeito em sua disponibilidade (Jenne & Luoma, 1977).

Além da especiação e das características físico-químicas do ambiente (Eh e pH), a disponibilidade dos elementos para os organismos pode ser influenciada pelas características fisiológicas e ecológicas do organismo. O diagrama a seguir apresenta de forma simplificada o caminho geral dos processos que resultam em acúmulo de metais nos tecidos dos organismos.

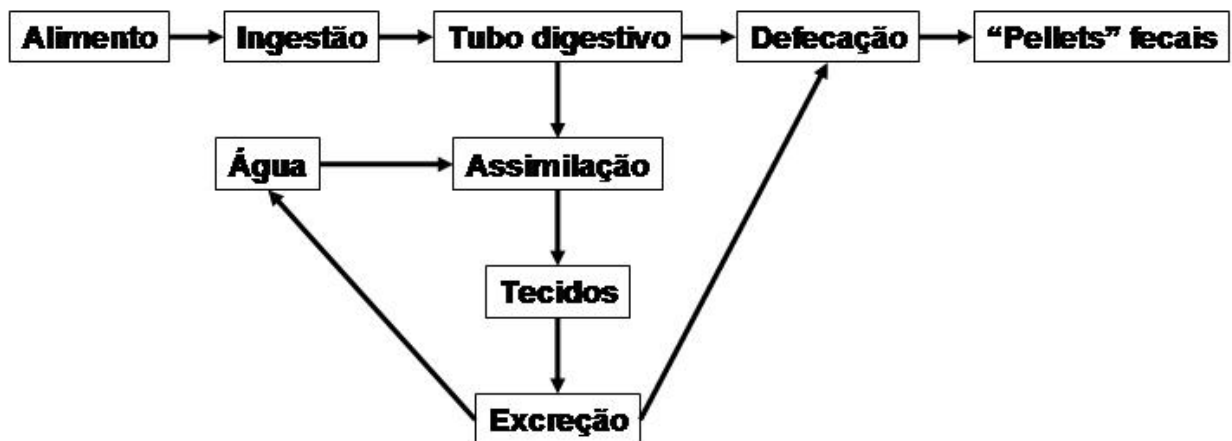


Figura 7: Fluxo geral de metais nos organismos (Jenne & Luoma, 1977).

A concentração de um dado elemento num dado instante para um organismo pode ser descrita por:

$$dc / dt = I - L \quad (1)$$

$$L = kc \quad (2)$$

Onde:

I = taxa de assimilação bruta do elemento (influxo)

L = taxa de perda do elemento (efluxo)

k = taxa constante de perda

considerando-se o k de cada elemento, a meia-vida biológica do mesmo num organismo pode ser determinada pela relação:

$$T_{1/2} = 0,695/k$$

Após um tempo suficiente de exposição a uma concentração constante de metal (I = valor constante), c deve se aproximar de um estado de equilíbrio com L se aproximando de I. O tempo necessário para o equilíbrio é função das taxas relativas. Para organismos pequenos com grande relação superfície-volume (fitoplâncton), o tempo pode ser de horas; para organismos maiores como peixes podem se passar meses até o equilíbrio ser atingido. Devemos lembrar, entretanto, que como cada organismo é na realidade uma mistura de interações entre vários compartimentos bioquímicos, a equação é bastante simplificada. Porém ela ilustra a importância tanto dos fatores externos (forma e concentração do elemento) representados por I, quanto dos fatores internos do próprio organismo, representados por k.

2.6.1 – Bioacumulação e biomagnificação

O aumento na concentração do elemento-traço em um organismo comparado com a concentração no seu alimento, chama-se bioacumulação (Libes, 1992). Elementos com valores de k altos têm menor capacidade para a bioacumulação mesmo se sua forma predominante no ambiente é bastante disponível para assimilação. Similarmente, complexos como CH_3Hg^+ , muito disponíveis para assimilação representam o mais alto potencial de perigo aos organismos vivos. Na realidade o Hg é o único elemento para o qual foi comprovado o fenômeno da biomagnificação (aumento exponencial de concentração ao longo da cadeia trófica).

2.6.2 – Alterações no comportamento do metal por presença de outros metais

A acumulação e retenção de um dado elemento por um organismo é também influenciada pela concentração de outros elementos presentes. Efeitos detoxificantes provocados por alterações inter-elementos, têm sido cada mais identificados. Por exemplo, o aumento de Zn na dieta de cavalos, aumenta a proteção contra chumbo. O Cr parece dar proteção contra vanádio em pintos. Adições de Zn e Se também derecem a toxicidade do Cd em alguns animais. Sais de arsênico têm sido demonstrados como diminuidores dos efeitos tóxicos do Se em ratos e pintos (Jenne & Luoma, 1977).

Em geral, os cátions inorgânicos têm efeitos protetores em bactérias e algas contra a toxicidade de outros cátions metálicos, já que competem por sítios de ligação na superfície celular. De acordo com Shuttleworth and Unz (1991) íons Ca^{2+} e Mg^{2+} reduzem a toxicidade de cobre, níquel e zinco em bactérias filamentosas do gênero *Thiothrix*.

Sem dúvida, a ação protetora mais bem conhecida é a do Se em relação aos efeitos tóxicos do Hg. Ganther et al. (1973 *apud* Jenne & Luoma, 1977) propuseram que os efeitos protetores do Se resultam de sua complexação com o Hg em proteínas de alto peso molecular nos tecidos. Tais complexos desviam o Hg de suas moléculas-alvo toxicológicas.

Referências bibliográficas:

FÖRSTNER U, WITTMAN GTW. 1979. Metal pollution in the aquatic environment. Springer-verlag, 485 pp.

HUGHES EA, LUOMA SN. 1977. Forms of trace elements in soils, sediments, and Associated waters: an overview of their determination and biological availability. In: ERDA (eds.) Biological implications of metals in the environment. Technical Information center, 110-143.

LIBES S.M. 1992. An introduction to marine biogeochemistry. John Wiley & Sons, Inc. 734 pp.

SHUTTLEWORTH KL, UNZ RF. 1991. Influence of metals and metal speciation On the growth of filamentous bacteria. Water Res., 25: 1177-1186.

SALOMONS W, FORSTNER U, MADER P. 1995. Heavy metals: problems and solutions. Springer-Verlag, 412 pp.

THURMAN EM. 1985. Organic Biogeochemistry of Natural Waters. Martinus Nijhoff/ Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 407.

Capítulo 3- Controle da poluição por Metais Pesados

3.1 - A Aplicação da Metodologia dos Parâmetros Críticos

A análise dos parâmetros críticos tem sido empregada há anos para o controle da descarga de efluentes de usinas nucleares no meio líquido (Preston, 1969; 1975). A metodologia foi posteriormente utilizada no estudo da contaminação por mercúrio na Baía de Liverpool e nos estudos de despoluição do estuário do Rio Tamisa (Preston & Portman, 1981). No Brasil, a metodologia foi proposta para o controle de poluição de corpos hídricos por metais (Penna Franca et al., 1982), e utilizada na Baía de Sepetiba (Lacerda, 1983).

A metodologia tem por aspecto básico identificar quais os poluentes potencialmente críticos numa determinada área sob impacto. O estudo identifica também as principais vias de acesso desses poluentes ao homem. O ideal é que essa identificação seja realizada em caráter pré-operacional, ou seja, antes da instalação e/ou operação das fontes poluidoras. Como isso dificilmente ocorre, fica também dificultado o controle do lançamento de poluentes após sua identificação.

Se por um lado, não se faz uma previsão pré-operacional, por outro, os parâmetros críticos podem ser identificados com maior rapidez nas áreas em que já se conhece as fontes poluidoras, devido à quantidade de informações publicadas sobre estas áreas.

Em linhas gerais, a metodologia para identificação dos parâmetros críticos baseia-se nas seguintes etapas:

- 1- levantamento de dados na literatura e coleta de material para análise, de forma a conswguir informações sobre as características físicas e químicas (circulação de água, pH, potencial redox, temperatura, salinidade, etc.);
- 2- envio de questionários à população local, onde se pretende conhecer seus hábitos alimentares, produção de pescado, etc.;
- 3- seleção dos metais críticos e dos alimentos críticos (vias de acesso) e das fontes de lançamento criticas;
- 4- elaboração de inquérito dietético mais completo fornecendo subsídios para o calculo das taxas específicas de ingestão dos metais críticos;
- 5- comparação das taxas obtidas com as taxas máximas permitidas adotadas no país, levando à identificação de todos os parâmetros críticos.

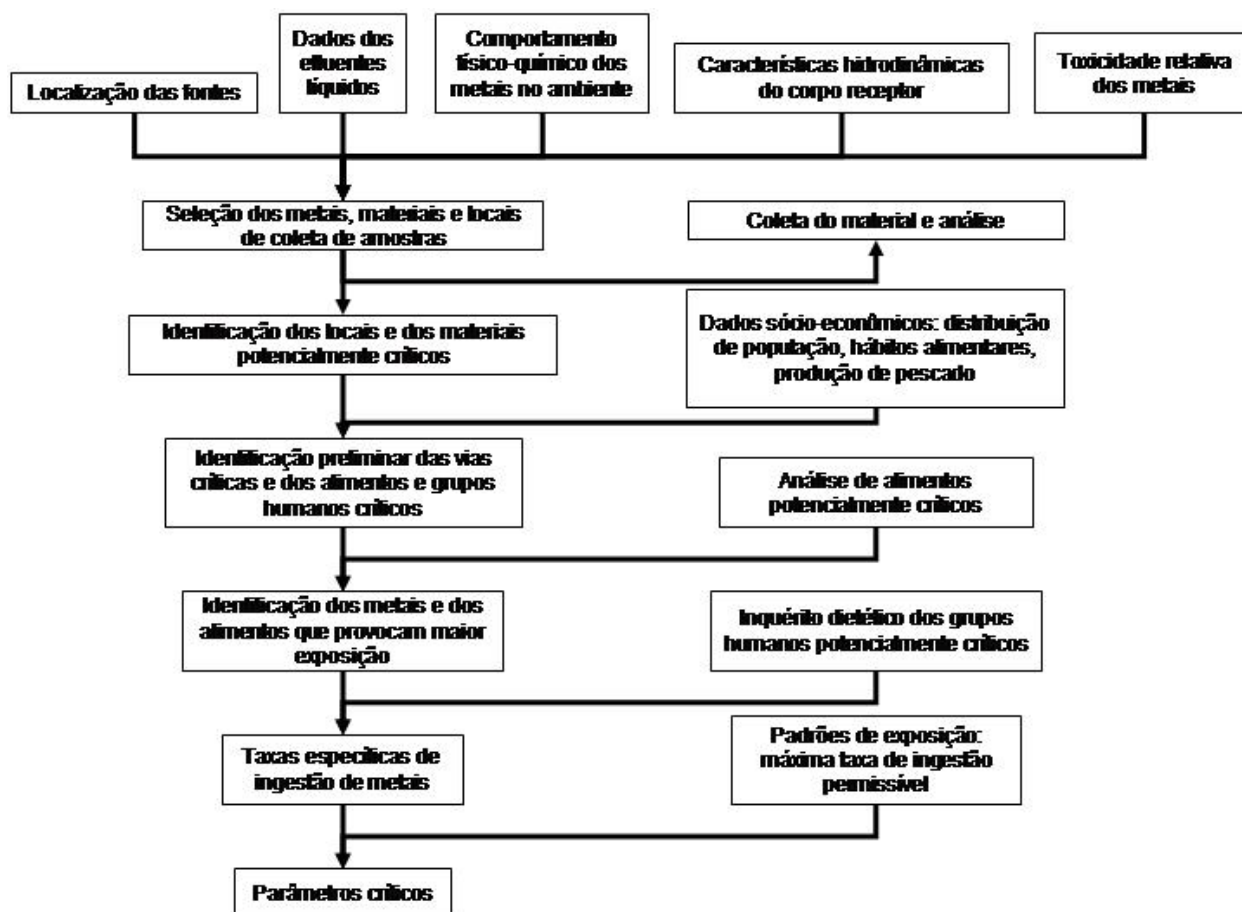


Figura 8: Esquema representativo para análise de ambientes aquáticos pela metodologia dos parâmetros críticos proposto por Penna Franca et al. (1982).

Vale lembrar que no Brasil as taxas de descarga das indústrias não são conhecidas com segurança e sua fiscalização não é rígida. Portanto, o controle sobre o lançamento de efluentes raramente é realizado.

O método dos parâmetros críticos requer um número muito menor de análises de materiais do que os programas de monitoração convencionais. Assegura ainda uma melhor utilização dos recursos existentes para controle de poluição, orientando a sua aplicação em medidas corretivas de maior impacto na redução dos riscos para a população (Penna Franca et al., 1982).

Referências bibliográficas:

LACERDA LD. 1983. Aplicação da metodologia da abordagem dos parâmetros críticos no estudo da poluição por metais pesados na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. Tese de Doutorado, IBCCF, UFRJ. 135 pp.

PENNA FRANCA E, PFEIFFER WC, FIZMAN M, LACERDA LD. 1984. Aplicabilidade da análise pelos parâmetros críticos, usualmente empregada para instalações nucleares, no controle da poluição do ambiente marinho por metais pesados. Ciência e Cultura, **36** (2): 215-219.

PRESTON A. 1969. Aquatical monitoring programmes. In: Environmental contamination by radioactive materials, Viena, IAEA: 309-323.

PRESTON A. 1975. The radiological consequences of releases from nuclear facilities to the aquatic environment. In: IAEA (ed.): Impact of nuclear releases into the aquatic environment. Proceedings of the international Symposium on radiological impacts of releases from nuclear facilities into aquatic environment; 3-23.

PRESTON A, PORTMAN JE. 1981. Critical pathways analysis applied to the control of mercury inputs to United Kingdom coastal waters. Environ. Pollut., ser. B2: 451-464.

Capítulo 4: Análise de metais pesados: coleta e tratamento de amostras

A análise de metais pesados nos diversos materiais deve obedecer a um critério de planejamento em relação à coleta. A quantidade de material a ser amostrada e quantificada deve ser definida de forma a evitar perdas ou contaminações. Isto é feito em relação aos elementos que se quer determinar, a faixa de concentração esperada, o tipo de matriz e o método a ser utilizado na quantificação. A seguir temos uma descrição das principais etapas do trabalho de campo e laboratório de acordo com Beveridge et al. (1997) e Stoepler (1991).

4.1 – Coleta de material

4.1.1 – Material biológico

O material biológico de origem humana deve ser dividido em:

- fluidos, como sangue, plasma, urina ou leite;
- sólidos, como cabelo, músculo, tecido ou ossos.

Um detalhe a ser considerado é o fato dos elementos metálicos nos fluidos corporais estarem em baixíssimas concentrações (metais-traço). Assim a coleta deve ser feita com cuidado para não ocorrerem contaminações. Alguns exemplos são:

- utilização de frascos muito limpos para urina;
- frascos para sangue já devem conter um anticoagulante (heparina, citrato);
- sangue pode ser coletado com seringas, desde que sejam descartados os primeiros 5 ml;
- sendo necessária a acidificação da urina (pH ~ 2,0), fazê-la com ácido acético, nítrico ou clorídrico, evitando a ligação dos metais aos particulados;
- a amostragem de sangue e urina também deve seguir um padrão de horário, principalmente se a análise estiver relacionada com contaminação ocupacional.

O cabelo é considerado um material de biopsia e autopsia. Devido à dificuldade em se distinguir entre as influências exógenas e endógenas de alguns dos metais, o uso do cabelo para estudos epidemiológicos é limitado. Entretanto, para estimativas de poluição, tais como casos de envenenamento, o cabelo é um material valioso. Se a amostragem e preparação são realizadas com cuidado, a análise de cabelo permite a estimativa do tempo

de envenenamento e algumas vezes a meia-vida biológica do metal. Uma vantagem no uso do cabelo sobre os outros materiais biológicos é o enriquecimento de uma série de elementos nesta matriz em relação às outras. Isto equivale a dizer que o cabelo “concentra os elementos em sua matriz”. Esta concentração é geralmente da ordem de 100 ou mais vezes. Desta forma a contaminação durante a coleta deixa de ser um fator crítico. Unhas são matrizes com comportamento semelhante, porém sua superfície é muito pequena e a coleta é mais difícil (Stoepler, 1991).

O conteúdo de metais nas fezes, órgãos, ossos e dentes é geralmente mais alto que nos fluidos corporais. Assim o problema de contaminação fica diminuído. A coleta, por outro lado, é mais difícil.

Os resultados analíticos devem ser fornecidos em relação ao peso da matriz. Uma vez no laboratório, o material deve ser tratado de forma a perder seu conteúdo aquoso, o qual varia para cada matriz. Técnicas de liofilização, secagem em estufas a temperaturas muito altas e uso de um dessecador, são utilizadas antes do tratamento da matriz. Matrizes nas quais o conteúdo de metais está heterogeneamente distribuído (rins, fígado, etc.) devem ainda ser homogeneizadas (Stoppler, 1991).

4.1.2 – Material ambiental

As matrizes ambientais também podem ser divididas em dois grupos gerais:

- amostras ecológicas, como solos, sedimentos, plantas, animais selvagens;
- amostras de origem antropogênica, como alimentos, poeira, esgoto.

Para as primeiras, considera-se tomar os mesmos cuidados aplicados ao material biológico sólido. Além disso, o planejamento da coleta deve ser feito em cooperação entre ecólogos, biólogos, geólogos, etc., de forma a se atingir um padrão de amostragem rico. Devemos lembrar aqui que numerosos fatores ambientais influenciam a seleção do local, o número de sítios a serem amostrados (para que sejam estatisticamente relevantes ao final), a frequência de coleta, a homogeneização do material, etc. (Stoepler, 1991).

Para solos e sedimentos o uso de testemunhos é comum, por fornecer informações retrospectivas sobre as influências antropogênicas ou geológicas devido à estratificação da amostra. Os testemunhos são separados em fatias imediatamente após a coleta ou estocados inteiros a baixas temperaturas (criogênicas, de preferência).

As outras matrizes, principalmente os alimentos, tendem a conter quantidades muito baixas de metais-traço ecotóxicos. Então, a coleta desse material deve ser realizada com muito cuidado de forma a evitar a contaminação.

Cuidados devem ainda ser tomados se for necessária estocagem a médio ou longo prazo. O ideal é a realização imediata da análise. Mas isto nem sempre é possível, principalmente se as amostras de referência precisam ser guardadas (casos forensicos ou mesmo pesquisa básica). A estocagem, geralmente a baixas temperaturas, pode causar mudanças na composição da amostra que acabam influenciando os resultados. Outro perigo é a adsorção dos metais às paredes dos recipientes utilizados na coleta (Stoeppler, 1991).

A estocagem a longo prazo obedece a regras rígidas em alguns países devido a fatores mencionados. Ela deve ser uma estocagem criogênica e a temperatura recomendada na Europa é -80°C para amostras humanas e -140°C para todas as amostras nos EUA (Stoeppler, 1991).

4.1.3 – Matrizes aquosas

As matrizes aquosas são as mais difíceis de serem analisadas devido à baixa concentração de metais nela dissolvidos. Desde a coleta deve-se tomar extremos cuidados de forma a minimizar bastante a contaminação.

Para a água do mar ou doce (lagos, etc.) coletada a pequenas profundidades (amostras superficiais), basta que se utilize luvas plásticas e o material seja acondicionado em garrafas de polietileno para todos os metais. Apenas para o Hg, recomenda-se que os frascos de polietileno sejam utilizados por pouco tempo. Se um maior período entre a coleta e a análise for necessário, deve-se dar preferência a frascos de vidro (Stoeppler, 1991).

No momento da coleta recomenda-se estar próximo à proa do barco e contra a direção do vento. Amostragem no oceano a grandes profundidades (abaixo de 200m) são realizadas com sistemas especiais conhecidos como GoFLO (General Oceanics, Miami, FL). Estes amostradores são garrafas plásticas revestidas internamente com TEFLON que possuem tampas herméticas acopladas a sistemas que as abrem e fecham na profundidade desejada, sendo a operação controlada do barco (Paranhos, comunicação pessoal). É importante que não haja nenhuma peça de metal no mostrador.

Para água potável recomenda-se que os primeiros 20 litros coletados sejam descartados para evitar a contaminação do cano de cuprimento. As águas de esgoto são menos problemáticas, já que normalmente contém grande quantidade de metais.

4.2 – Análise de metais

4.2.1 – Espectrofotometria de absorção atômica

Entre os métodos mais freqüentemente empregados na análise de metais está a espectrofotometria de absorção atômica (AAS = "atomic absorption spectrometry"). O

princípio básico é a geração de átomos livres a partir de energia térmica. Os átomos gerados recebem luz de um comprimento de onda específico para sua absorção. A extensão da absorção de radiação é diretamente proporcional ao número de átomos, ou concentração, do elemento presente na amostra.

Para a análise dos metais nas amostras, é necessário que as mesmas sejam submetidas a tratamentos prévios, em geral, uma digestão ácida. Podemos seguir os passos mais freqüentemente utilizados para diferentes matrizes no diagrama apresentado na figura 9. A digestão ácida permite a liberação dos átomos da matéria orgânica presente na amostra. Os átomos livres estão na verdade em uma solução ácida fraca (HCl 0,1 N) e esta solução é levada à AAS. Na espectrofotometria de chama, a solução é vaporizada após submetida a uma chama de fogo, e o metal livre no vapor é detectado pelo comprimento de onda de sua absorção. Bastará então converter o resultado de absorbância para concentração na matriz (Stoeppler, 1991).

O espectrofotômetro também pode ser de forno de grafite. Estes são aparelhos com maior sensibilidade e que funcionam sem a formação de chama. A geração de vapor deve-se ao aumento da temperatura num tubo de grafite. Comparados com absorções de chama seu limite de detecção é bem maior (muitas ordens de magnitude). Para amostras muito contaminadas, a absorção com forno de grafite é muitas vezes empregada diretamente sem a digestão prévia da amostra (Beveridge et al. 1997).

Atualmente novos sistemas, todos desenvolvidos na tentativa de aumentar cada vez mais o limite de detecção têm sido desenvolvidos. Entre eles estão os FIAS ("flow injection atomic spectrometry"). Estes são sistemas fechados, nos quais a amostra sofre as reduções e oxidações necessárias ao seu preparo, e o metal é diretamente detectado numa absorção atômica de chama. Há ainda o acoplamento de forno de microondas a este sistema, para a digestão prévia da matéria orgânica presente na amostra sem a utilização dos métodos convencionais (digestão ácida), e obviamente, diminuindo cada vez mais, os riscos de contaminação devido à manipulação, assim como o tempo requerido para a detecção do metal (Bastos, 1997).

4.2.2 – Espectroscopia de emissão atômica

Trata-se de um simples fotômetro de chama, utilizado mais especialmente para os metais do grupo 1 da tabela periódica. Uma forma mais sofisticada envolve a formação de plasma nesse sistema (ICPAES = "inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy"). O aparelho permite a análise simultânea ou seqüencial de misturas aquosas de íons metálicos, com limite de detecção na faixa de partes por bilhão. O método tem vantagens como poucos efeitos de interferência da matriz e um mínimo preparo de amostras. A maior vantagem, entretanto, é a precisão (<1%) (Beveridge et al., 1997). Através de ICPAES foi

possível avaliar a incorporação de Pb, Fe, Cu, As, Mo, V, Se e Mn por varias cepas numa matriz mista (Mahan et al., 1989).

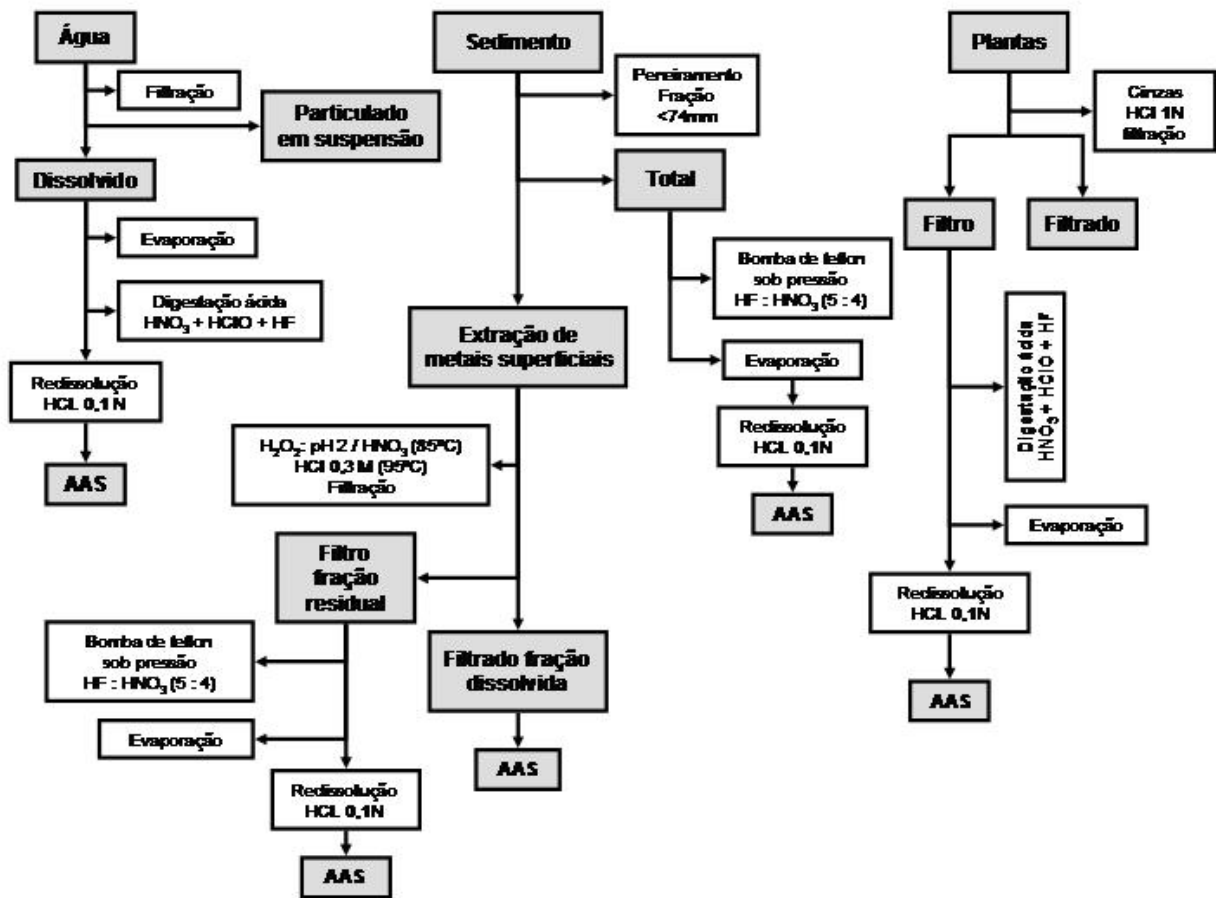


Figura 9: Tratamento de amostras para análise de metais por absorção atômica.

4.2.3 – Espectrofotometria de fluorescência atômica

Neste tipo de análise, em vez de medir a energia absorvida pelo átomo metálico, é medida a energia de fluorescência que ele emite após receber a energia luminosa em seu comprimento de onda específico. Comparada com absorção atômica, a espectrofotometria de fluorescência oferece a vantagem da medição simultânea de até 12 elementos, pelo fato de poder se arranjar várias fontes de luz ao redor de um plasma ou chama. Se a fonte de luz é de alta intensidade, a sensibilidade da análise aumenta, já que o sinal de fluorescência é proporcional a intensidade da fonte de luz. Infelizmente fontes de luz de alta intensidade não estão disponíveis para todos os metais. Uma longa faixa linear de curvas de calibração é uma outra vantagem do método (Beveridge et al., 1997).

4.2.4 – Espectrometria de massa acoplada a indução de plasma

O método pode ser aplicado a determinação de metais em várias substâncias, incluindo fluidos biológicos. Não é uma técnica totalmente livre de interferentes e também requer alguma preparação de amostra. Entretanto, para soluções de aquosas o limite de detecção varia de 0,01 a 0,1 mg.L⁻¹, ou seja, 10-100 vezes mais sensível que ICPAES. Como utiliza-se um espectrômetro de massa para preparação e detecção de elementos, obtém-se informação razoavelmente precisa e uma exatidão entre 0,1 e 1% (Shuttleworth & Unz, 1993).

4.2.5 – Voltametria

Chama-se voltametria o estudo das relações entre corrente e potencial numa célula de eletrólise, onde a corrente é determinada pela taxa de difusão de uma espécie eletroativa. Uma das técnicas eletroquímicas usadas na determinação da concentração de metais é a polarografia diferencial de pulso. Os limites de detecção dessa técnica estão em torno de 10⁻⁷M. a técnica também oferece informações sobre a especiação do metal em solução, já que o potencial redox do metal é afetado pelos ligantes (Beveridge et al., 1997).

4.2.6 – Eletrodos seletivos

Eletrodos seletivos para íons (ion-selective electrodes = ISEs) são de larga aplicabilidade pois podem ser usados na determinação de cátions e ânions. Os eletrodos permitem a determinação de metais em solução com um limite de detecção em torno de 10⁻⁶ M. comparados a outros métodos de análise instrumental, os eletrodos têm vantagens do tipo: medidas podem ser feitas em volumes pequenos como 10 mL; são simples de usar; geralmente não são afetados pela cor da amostra, turbidez, matéria em suspensão ou viscosidade (Beveridge et al., 1997).

4.2.7 – Cromatografia iônica

As técnicas cromatográficas utilizando gás ou líquido soa excelentes na separação de misturas de espécies metálicas, cujas concentrações são baixas. Cromatografia gasosa, (GC = gás chromatography) tem sido utilizada na análise de vários metais e espécies organometálicas. Como apenas espécies voláteis podem ser separadas, é necessário converter o metal a uma forma volátil. Em estudos de especiação, utiliza-se a alquilação ou a redução a formas híbridas para converter espécies organometálicas a produtos voláteis. Estes podem então ser separados por volatilização seletiva num detetor adequado, como um espectrofotômetro de absorção atômica (Beveridge et al., 1997).

4.3 – Algumas técnicas mais específicas para o estudo das interações dos metais com os organismos

4.3.1 – Deslocamento de corante ou próton

Estas são as técnicas principalmente utilizadas em estudos de incorporação de metais em microrganismos. Um corante catiônico do tipo verde de Janus ou violeta de metila é usado para saturar os sítios aniônicos da superfície celular microbiana (Savvaïdis et al., 1990). As células são então encubadas numa solução contendo metal. A quantidade de corante deslocado como resultado da ligação de íons metálicos à célula é medida espectrofotometricamente. Esta técnica aplica-se bem à determinações de íons metálicos ligados a superfícies celulares e pode ser usada na ausência de equipamentos analíticos convencionais (Savvaïdis et al., 1990)

A técnica de deslocamento de prótons segue o princípio similar. Prótons são deslocados das superfícies celulares pela adição de íons metálicos. Um microeletrodo de pH pode ser utilizado para seguir a saída dos prótons da célula (Guida et al., 1991).

4.3.2 – Ensaios com isótopos radioativos

Radioisótopos de íons metálicos (tóxicos ou não) têm sido utilizados para medidas de entrada e saída desses cátions nas células, o que quase sempre ocorre através de proteínas de membrana. Nestes ensaios, os isótopos são quantificados em contadores de cintilação, contadores de radiação gama ou outros equipamentos específicos (Beveridge et al., 1997)

4.3.3 – Microscopia eletrônica de transmissão e espectroscopia de raio-X de energia dispersiva

A microscopia eletrônica de transmissão (TEM = "transmission electronic microscopy") é um método excelente de localizar e visualizar depósitos metálicos associados aos organismos. Quando um feixe de elétrons de alta energia (60-120 KeV) atravessa a matéria, ele interage com os átomos da matéria. Muitas vezes os elétrons de alta energia passam próximos dos elétrons ou do núcleo do átomo de tal forma que eles são desviados de sua trajetória inicial. Isto acontece mais freqüentemente com elementos de elevado número atômico. Como as moléculas das células são principalmente compostas por elementos de número atômico baixo (C, H, O, N), há pouco desvio da trajetória eletrônica e a visualização é dificultada. Para superar este problema, as células são coradas negativamente com sais de metais-pesados. Pode-se também complexar diretamente as células com íons de metais-pesados, corando-os positivamente. Uma vez coradas, estruturas de 0,5-1,0 nm podem ser visualizadas (Beveridge et al., 1994).

A espectroscopia de raios-X de energia dispersiva fornece informações adicionais. Esta técnica baseia-se na captura de sinais de raios-X que são emitidos da amostra quando um feixe de elétrons interage com as células. Ocasionalmente a interação é tão intensa que o elétron pode ser ejetado de sua órbita. Durante o rearranjo dos elétrons remanescentes, raios-X de energia relativa aos diferentes elementos são gerados. Estes são coletados num detector acoplado a uma coluna do TEM. Os raios de diferentes energias são separados em um analisador multi-canal e espectros de cada elemento são produzidos. Os espectros têm diferentes energias (eV) sendo registrados com diferentes alturas (concentração). A combinação de raios-X com TEM permite a localização de metais nas células ou outras matrizes.

Referências bibliográficas

- BASTOS WR. 1997. Métodos de digestão utilizando microondas para determinação automatizada de Hg em amostras ambientais e humanas: implantação de laboratórios e avaliação de qualidade analítica. Tese de mestrado, UFRJ, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, 100 pp.
- BEVERIDGE TJ, POPKIN TJ, COLE RM. 1994. Electron microscopy. In: P. Gerhardt (ed.), Methods for general molecular bacteriology. American Society of Microbiology, Washington, DC, pp: 42-71.
- GUIDA L, SAIDI Z, HUGHES MN, POOLE RK. 1991. Aluminium toxicity and binding to *Escherichia coli*. Arch. Microbiol., **156**: 507-512.
- MAHAN CA, MAJIDI V, HOLCOMBE JA. 1989. Evaluation of the metal uptake of several algae strains in a multicomponent matrix utilizing inductively coupled plasma emission spectrometry. Anal. Chem., **61**: 624-627.
- SAVVAIDIS I, HUGHES MN, POOLE RK. 1990. Displacement of surface bound cationic dyes: a method for the rapid and semi-quantitative assay of metal binding to microbial cells. J. Microbiol. Meth., **11**: 95-106.
- SHUTTLEWORTH KL, UNZ RF. 1993. Sorption of heavy metals to the filamentous bacterium *Thiothrix* strain A1. Appl. Environ. Microbiol., **59**: 1274-1282.
- STOEPLER M. 1991. Analytical chemistry of metals and metal compounds. In: E. Merian (ed.), Metals and their compounds in the environment. VCH Verlagsgesellschaft mbh, pp: 105-206.

Capítulo 5- Os metais tóxicos – alguns aspectos na interação com organismos – resistência e detoxificação

Os organismos vivos estiveram sempre expostos aos metais tóxicos. Entretanto, a poluição do ambiente por metais, incluindo radionuclídeos, aumentou consideravelmente nos últimos anos. Tal fato deve-se principalmente ao crescimento da atividade industrial, embora produtos agrícolas e lançamento de esgotos também contribuam (Babich & Stotzky, 1985; Gadd, 1990).

Fatores ambientais como pH, presença de determinados cátions e ânions, presença de matéria orgânica solúvel ou particulada, os quais determinam a especiação do metal, podem reduzir ou eliminar sua toxicidade (Gadd & Griffiths, 1978). Alguns fatores que influenciam na toxicidade dos metais em solução podem ser observados na figura 10.

De maneira geral, os metais se ligam aos grupos sulfidríla (SH) das proteínas ou a sítios de ligação de um micronutriente, competindo com ele. As enzimas passam a ter suas funções debilitadas e uma série de sintomas começam a ser sentidos. Por outro lado, os organismos, e neste caso principalmente os superiores como os mamíferos, possuem proteínas que funcionam na homeostase dos micronutrientes e que também exercem detoxificação dos metais pesados. O mecanismo é de quelação também através de ligação a grupos sulfidríla, tornando o metal inerte. Essas proteínas são chamadas metalotioneínas. Tem baixo peso molecular e foram primeiro descritas por Margoshoes & Vallee (1957) para o córtex renal dos cavalos.

Alguns microrganismos são capazes de crescer em concentrações elevadas de metais como resultado do desenvolvimento de mecanismos específicos de resistência. A tolerância pode resultar de propriedades intrínsecas do organismo, tais como membrana celular impermeável, produção de polissacarídeos extracelulares, ou a simples falta de um sistema específico de transporte de metais para o interior das células (Beveridge et al., 1997). Além destes, há mecanismos de detoxificação mais elaborados, para quando o metal já está no interior da célula.

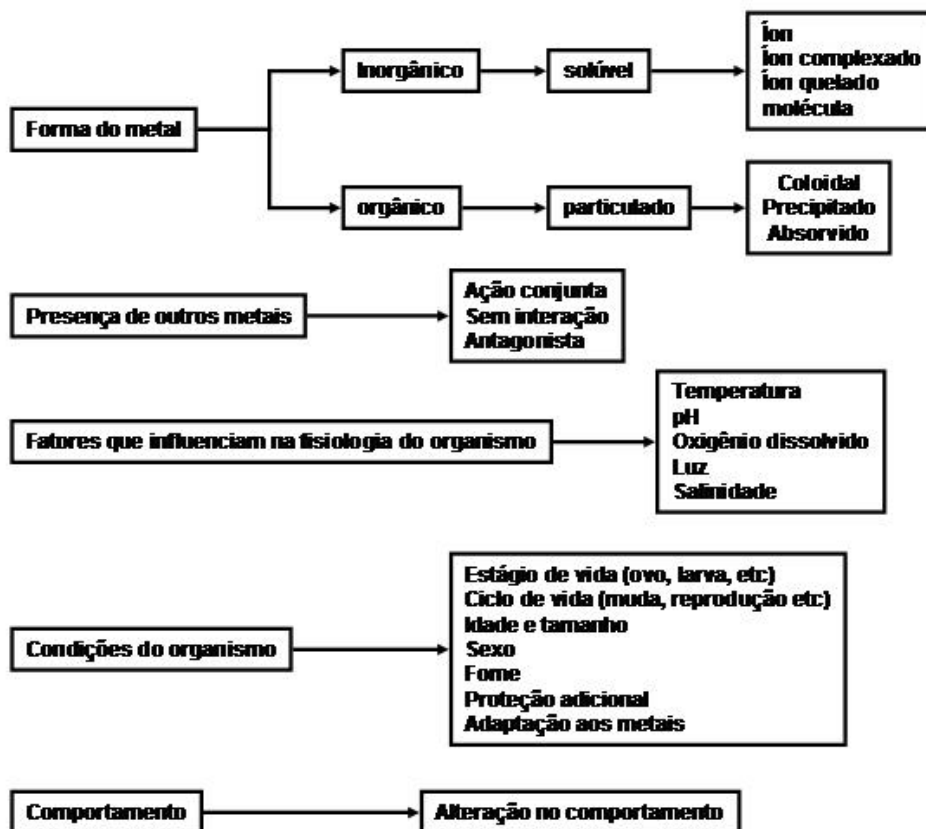


Figura 10: Fatores que influenciam a toxicidade dos metais (Bryan, 1976 *apud* Förstner & Wittman, 1979)

Este capítulo abordará os metais tóxicos, aqueles, como já explicado, sem função metabólica conhecida. Também serão abordados alguns exemplos de seus usos, toxicologia e mecanismos de detoxificação. Deve-se, entretanto, lembrar que os metais essenciais micronutrientes, também passam a ser tóxicos quando sua concentração está acima daquela requerida para o bom desempenho das atividades metabólicas. Para eles, os organismos também criaram seus mecanismos de defesa, os quais são muitas vezes específicos para o metal em questão, ou inespecíficos, podendo ser os mesmos dos metais tóxicos.

5.1 – Alumínio

Embora o alumínio tenha sido sempre um metal de interesse, seu papel no metabolismo dos organismos vivos ainda está para ser elucidado. A princípio o alumínio é um metal não-essencial, portanto tóxico. A dose letal aguda (LD_{50}) de alumínio é de $2,5 \times 10^{-2} \text{ mol.Kg}^{-1}$ em

ratos (Maeda & Sakaguchi, 1990). Alguns autores sugerem, entretanto, que o alumínio exerce funções essenciais, embora sua toxicidade esteja comprovada (Berman, 1980).

Experimentos *in vitro* comprovam a inibição do alumínio sobre a enzima hexoquinase (Harrison et al., 1972 *apud* Berman, 1980), sugerindo que a hexoquinase e todos os sistemas de transferência de fosfato envolvendo ATP ou íons Mg^{2+} sejam prováveis sítios-alvo para o alumínio.

Em seres humanos, os compostos de alumínio são fracamente absorvidos pelo trato gastrointestinal. Entretanto, a ingestão excessiva como a que pode ocorrer devido a tratamentos com antiácidos, tende a causar problemas (Berman, 1980).

Quanto à essencialidade do alumínio, dúvidas permanecem. A essencialidade de um elemento é comprovada quando uma doença é provocada em função de sua suspensão na dieta. Como o alumínio é ubíquo no ambiente, essa constatação é dificultada. Hove et al., (1938 *apud* Berman, 1980) produziram uma dieta deficiente em alumínio para ratos, mas não conseguiram comprovar qualquer efeito, concluindo que se o metal é essencial, deve sê-lo em, no máximo, 1 μ g diário na dieta.

Cerca de 15 espécies de microalgas marinhas foram capazes de acumular alumínio em cultura (Riley & Roth, 1971, *apud* Maeda & Sakaguchi, 1990), o que pode significar uma certa toletância ao metal.

5.2 – Arsênico

Arsênico é um metalóide, como já explicamos anteriormente. A dose média letal (LD_{50}) é de $1,6 \times 10^{-3} \text{ mol.kg}^{-1}$ para ratos. Através dos tempos, o arsênico e seus compostos têm sido muito utilizados. Romanos e gregos, entre outros usavam compostos de arsênico terapeuticamente e como veneno (Berman, 1980).

Alguns autores consideram o arsênico um metal essencial (Maeda & Sakaguchi, 1990). O arsênico costuma ser encontrado em todos os organismos, sendo que organismos marinhos contêm arsênico em maiores quantidades (acima de 100 mg.kg^{-1} ou mais). Nesses organismos, o arsênico está quase sempre na forma orgânica, e sua toxicidade é baixíssima. Já o arsênico dissolvido na água do mar está na forma de compostos inorgânicos com 2 diferentes números de oxidação, As (III) e As(V), em concentrações de 0,4 e 1,6 $\mu\text{g.L}^{-1}$ respectivamente. Até o momento desconhece-se em qual nível trófico o arsênico pode ser acumulado em concentrações elevadas e alquilado, tornando-se um composto orgânico (Maeda & Sajkaguchi, 1990).

O arsênico é um veneno protoplasmático e acumulativo. Todo o organismo é afetado. As espécies trivalentes reagem com os grupos sulfidríla nas células, inibindo enzimas

essenciais ao metabolismo, tais como as do sistema piruvato oxidase. O arsênico também é capaz de desacoplar a fosforilação (Berman, 1980).

Efetivamente, a toxicidade do arsênico é dependente do seu número de oxidação. Por exemplo, o arsenito (H_2AsO_3^-) é cerca de 200 vezes mais tóxico do que arsenato (H_2AsO_4^-) para os organismos (Beveridge et al., 1997). Assim a oxidação do As(III) a As(V) é considerada uma forma de detoxificação. Nas bactérias este tipo de resistência ocorre através da enzima arsenito-oxidase, codificada no DNA cromossômico.

Outro mecanismo de resistência ao arsênico em procariotos é mediado por DNA plasmidial. Cinco genes do operon ars do plasmídeo pR773 de *Escherichia coli* estão envolvidos no processo, o qual se inicia com a redução do arsenato a arsenito (arsenato redutase, NADPH-dependente), e termina com o efluxo do composto de arsenito através das proteínas ArsA e ArsB (Cervantes et al., 1994).

É importante ter em mente que os compostos de arsênico estão presentes em pesticidas, raticidas e herbicidas comumente utilizados no ambiente doméstico. Já em processos industriais, ele é utilizado na manufatura de vidro, semicondutores elétricos e fotocondutores. Outros inúmeros exemplos do uso industrial do arsênico são fornecidos por Berman (1980).

5.3 – Cádmio

O Cádmio é muito similar ao zinco em estrutura atômica e comportamento químico. Ambos os metais costumam ocorrer juntos na natureza (Berman, 1980). A diferença principal é que o zinco é um elemento essencial, já o cádmio não tem função biológica.

O cádmio é usado em inúmeros processos industriais. O mais conhecido é a galvanoplastia. Cádmio também é constituinte de ligas de fusíveis e soldas de alumínio. É utilizado em amálgamas dentárias e em baterias, juntamente com o níquel.

O cádmio é um dos elementos mais tóxicos aos organismos vivos. Em ratos, a dose letal aguda é de $6,3 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Maeda & Sakaguchi, 1990). O cádmio exerce seu efeito tóxico ligando-se aos grupos sulfidríla das proteínas e quebrando a fita simples de DNA (Foster, 1983). O cádmio também tem afinidade pelos grupamentos hidroxil, carboxil, fosfatil, cisteinil e histidil das proteínas, por purinas e profirinas. Ele é capaz de interromper a fosforilação oxidativa.

O cádmio compete com outros metais por sítios de ligação nas células. Devido a sua semelhança em estrutura química e comportamento com o zinco, a competição com este metal é grande. O cádmio tende, por exemplo, a ocupar o lugar no zinco numa série de enzimas cujo funcionamento depende do mesmo.

A concentração média de cádmio na água do mar é de $0,04 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, e 78% dele está na forma orgânica. A maior parte das espécies inorgânicas no mar estão na forma de CdCl_2 (Maeda e Sakaguchi, 1990).

O cádmio também está presente na fumaça dos cigarros. Deve ser lembrado que o acúmulo deste metal é contínuo, já que sua meia-vida é de 38 anos (Berman, 1980).

Alguns microrganismos desenvolveram mecanismos de tolerância aos íons Cd. São principalmente conhecidos os mecanismos de procariotos e eucariotos microscópicos muitos deles são mediados por plasmídeos. Um dos sistemas detoxificantes de cádmio mais estudado é o de transporte transmembrana em *Alcaligenes eutrophus*, o qual ocorre através de proteína carreadora de cátions Czca. Um outro sistema de efluxo de cádmio via ATPase do tipo P, foi também identificado em bactérias Gram-positivas (Silver et al., 1989 *apud* Maeda & Sakaguchi, 1990).

Além dos sistemas de efluxo, metalotioneínas também foram encontradas em procariotos. Para a cianobactéria *Synechococcus* spp, foi identificada uma proteína ligante de Zn e Cd, denominada Smta, que é codificada no DNA cromossômico (Gupta et al., 1993).

Microrganismos eucariotos também possuem muitas vezes proteínas desse tipo. É o caso da alga clorofícea *Chlorella ellipsoidea* para a qual foi identificada uma proteína ligante de cádmio (Nagano et al., 1982 *apud* Maeda & Sakaguchi, 1990).

5.4 – Chumbo

O chumbo é considerado um dos 7 metais de antigüidade. Há registros do seu uso mesmo antes do êxodo dos hebreus do Egito. O chumbo ocorre na natureza como sulfeto ou galena, mas não no estado elementar. A descoberta do chumbo deve ter ocorrido pelo gotejamento acidental de galena no fogo (Berman, 1980).

Os povos antigos usavam chumbo para ornamentos como anéis e amuletos e também em pratos e bandejas. Provavelmente o primeiro uso da galena foi como maquiagem para os olhos. Gregos e romanos usaram bastante o chumbo na culinária. Como as tigelas de bronze utilizadas como pratos produziam um gosto amargo na comida, os sais de chumbo eram usados para adoçá-la. O vinho era preparado em potes com cobertura de chumbo e o azeite era estocado em vasilhas desse tipo. Lembra-se que os arquedutos romanos tinham igualmente cobertura de chumbo. Esse uso extensivo do chumbo levou a uma doença endêmica, chamada cólica do chumbo. Hofman (1885) e Gilfallan (1965) citados em Berman (1980), expuseram a teoria de que o envenenamento por chumbo foi uma das principais causas da queda do Império Romano.

O chumbo é um elemento não-essencial e a dose letal (LD_{50}) aguda é de $8 \times 10^{-3} \text{mol Kg}^{-1}$ em cobaias. A concentração total de chumbo na água do mar é de $3 \times 10^{-2} \mu\text{g L}^{-1}$ e as

principais espécies envolvidas são PbCO_3 e $\text{Pb}(\text{CO}_3)_2^{-2}$ (Moore, 1981 *apud* Maeda & Sakaguchi, 1990).

O chumbo na forma metilada é mais tóxico que na forma inorgânica. A toxicidade dá-se provavelmente devido à natureza apolar dos compostos organometálicos, o que permite sua rápida difusão através das membranas das células (Maeda & Sakaguchi, 1990). Embora os sais inorgânicos de chumbo não penetrem na pele intacta, eles podem ser absorvidos através de cortes e escoriações (Berman, 1980).

O chumbo é um veneno protoplasmático de ação lenta, que gera uma série de sintomas. Como os outros metais, ele tem afinidade por grupos sulfidrila, e muito de sua ação tóxica se deve a inibição desses grupos. Devido à grande solubilidade dos compostos orgânicos de chumbo em lipídeos, o metal tende a ser acumulado nos tecidos nervosos (Berman, 1980).

Experimentos mostraram que o acúmulo de chumbo em peixes ocorre através da cadeia alimentar, e o chumbo no trato alimentar do peixe é liberado mais lentamente do que aquele absorvido pelas brânquias (Vighi, 1981).

Poucos estudos existem sobre a resistência e detoxificação do chumbo. Algumas microalgas como *Phaeodactylum tricornutum* parecem ser resistentes, demonstrando inibição do processo fotossintético numa concentração de 10 mg L^{-1} (Woolery & Lewin, 1976). Bactérias consideradas resistentes foram *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Azotobacter spp.* e *Klebsiella aerogenes* (Beveridge et al., 1997). Tanto a metilação quanto à imobilização do Pb^{2+} parecem ser mecanismos de resistência. A cepa NCTC 418 de *K. aerogenes* foi estudada em detalhe e detoxifica Pb^{2+} através da formação de PbS (Aiking et al., 1985).

Atualmente, o chumbo está presente em massa no vidraceiro, pavio de velas, tinturas para cabelo e maquiagem para os olhos, entre tantas coisas.

5.5 – Mercúrio

O mercúrio é conhecido dos povos há milhares de anos. Aristóteles já mencionava o mercúrio em sua obra Meteorologica, como prata líquida (Berman, 1980). Isso dada a sua propriedade de ser um líquido a temperatura ambiente. O mercúrio ocorre na natureza na forma do minério cinábrio (HgS). As principais minas de cinábrio estão na Espanha, Iugoslávia, Rússia, Itália, Japão e México (Niagru, 1979). O mercurio é capaz de solubilizar vários outros metais formando amálgamas. Isso juntamente com sua alta toxicidade atraíram a atenção de filósofos e alquimistas por mais de três milênios (Schüller & Egan, 1976 *apud* Bastos, 1997).

O mercúrio já era usado em medicina na Índia e China antigas. No entanto, foi no século XVI, quando Paracelsus popularizou o uso do vapor de mercúrio para o tratamento de sífilis,

que o metal passou a ser usado como panacea, um antídoto universal contra todas as doenças (Berman, 1980).

O mercúrio é um elemento não-essencial e a dose aguda letal (LD_{50}) é de $1,3 \times 10^{-4} \text{ mol Kg}^{-1}$ para ratos. Tanto a espécie iônica (Hg^{2+}) quanto os compostos orgânicos são altamente tóxicos aos sistemas biológicos, novamente pela sua forte afinidade pelos grupamentos tiólicos (SH) das proteínas. O mercúrio também se combina a grupos fosforil, carboxil, amina e amida. O acúmulo de mercúrio no ambiente causa sérios problemas de saúde pública (Beveridge et al., 1997).

Contaminações por mercúrio lançado nos ambientes são historicamente conhecidas. Um caso clássico foi o acidente na Baía de Minamata, no Japão, onde 1.200 pessoas morreram e várias outras desenvolveram deficiências físicas ao se alimentarem de pescado contaminado com metilmercúrio proveniente de despejos industriais (Bastos, 1997).

Os compostos de metilmercúrio são os mais tóxicos e os maiores contaminantes dos ambientes. A transformação do mercúrio Hg^{2+} em metilmercúrio é mediada por microrganismos em ambientes aquáticos. Há evidências da participação de bactérias sulfato-redutoras mediando a metilação do mercúrio em sedimentos (Gilmour et al., 1992). O metilmercúrio representa pequena parcela do Hg presente nesses ambientes, mas é a forma dominante do metal nos organismos superiores (Malm et al., 1997).

A concentração total de mercúrio estimada nos oceanos é de $3 \times 10^{-2} \mu\text{g L}^{-1}$ e as formas inorgânicas dissolvidas são principalmente HgCl_4^{-2} e HgCl_2 (Maeda & Sakaguchi, 1990). Algumas microalgas e cianobactérias parecem ser resistentes a mercúrio. Os dados são provenientes de estudos de acumulação, não se sabendo qual é o mecanismo de tolerância (Maeda & Sakaguchi, 1990). Embora sejam poucos os estudos de metilação do mercúrio em microalgas, cerca de 67% do mercúrio encontrado no fitoplâncton coletado na Baía de Monterey, Califórnia, está na forma orgânica, sugerindo que ou ele é acumulado nessa forma, ou metilado pelos organismos fitoplanctônicos (Knauer & Martin, 1972 *apud* Maeda & Sakaguchi, 1990).

Tanto no mar quanto em água doce, o metilmercúrio é mais facilmente incorporado na cadeia trófica e pode ser biomagnificado, concentrando-se em grande quantidade em peixes, por exemplo. Assim é importante também que se mencione outras participações dos microrganismos, marinhos e dulcícolas, na formação de Hg^0 , contribuindo para o ciclo global de mercúrio e evitando assim a metilação. Cianobactérias marinhas produzem Hg^0 como forma de detoxificação (Mason et al.,

A detoxificação e conseqüente resistência já foi evidenciada em bactérias Gram-negativas e gram-positivas isoladas de diferentes ambientes. Dois fenótipos são conhecidos: resistência a HgCl_2 e resistência a compostos orgânicos como metilmercúrio ou acetato de etilmercúrio, conhecida como de amplo espectro. Em ambos os casos, a resistência envolve a eliminação

do mercúrio para o meio na forma de Hg^0 . A detoxificação se dá através da mercúrio redutase- NADPH dependente, que catalisa a redução de Hg^{2+} a Hg^0 . Os compostos orgânicos são detoxificados pela organomercúrio liase- NADPH dependente, que hidrolisa as ligações C-Hg produzindo os íons Hg^{2+} , os quais serão substrato para a redutase (Bestetti & Barbieri, 1991).

Os compostos orgânicos e inorgânicos de mercúrio são utilizados como catalisadores na indústria petroquímica, antissépticos na medicina e fungicidas na agricultura. O mercúrio metálico é utilizado em termômetros, barômetros, manômetros, baterias e outros componentes elétricos e eletrônicos (Andren & Niagru, 1979 *apud* Bastos, 1997). Devido à característica de amalgamar metais, o mercúrio é usado em restaurações dentárias, na indústria de cloro e soda e na mineração como base para extração de ouro em garimpos artesanais.

Efetivamente, o maior problema de contaminação por mercúrio no Brasil deve-se exatamente a sua utilização nos garimpos. Nos últimos 20 anos, os garimpos de ouro na Amazônia brasileira lançaram cerca de duas mil toneladas de mercúrio nos solos, rios e atmosfera (Malm et al., 1997). O mercúrio é usado no garimpo para a amalgamação do ouro em concentrações gravimétricas, de solo ou sedimento. Neste processo, o mercúrio é perdido para o ambiente, tanto como líquido para os corpos d'água e aterros com resíduos de mineração, quanto como vapor para a atmosfera durante a queima da amálgama para a recuperação final do ouro. Esta última etapa representa o maior percentual de mercúrio emitido para o ambiente (Pfeiffer & Lacerda, 1989).

5.6 – Ouro

O ouro é um metal usado para a ornamentação desde o início dos tempos. Segundo Berman (1980), os egípcios foram provavelmente os primeiros a trabalharem com ouro em metalurgia.

Bioquimicamente, o ouro não é um metal essencial, e, portanto, é considerado um elemento tóxico. A dose letal aguda de ouro em mamíferos é desconhecida (Maeda & Sakaguchi, 1990).

O ouro, de forma semelhante ao mercúrio, foi usado em medicina como panacea para todos os tipos de doenças. Os chineses foram provavelmente os primeiros a usar o ouro como propostas curativas, como no alívio de pruridos (Berman, 1980).

O ouro é utilizado hoje em ligas dentárias e no tratamento de úlceras cutâneas. Ouro radioativo também é empregado no tratamento do câncer. Há ainda uma série de utilizações do ouro em medicina e ciência. Utilizações industriais são: circuitos eletrônicos, conexões, resistências e semi-condutores. O ouro também é utilizado nos projetos espaciais

como selador de junções vidro-metal ou como protetor contra alta radiação solar e radiação infra-vermelha (Berman, 1980).

Os efeitos tóxicos mais comuns do ouro envolvem problemas na pele e mucosas, iniciando com pruridos e indo até dermatites. Os compostos de ouro podem ser tóxicos aos órgãos hematopoiéticos gerando trombocitopenia, leucopenia, agranulocitose e anemia (Berman, 1980).

A concentração de ouro na água do mar é de $4 \times 10^{-3} \mu\text{g Kg}^{-1}$ e a principal espécie encontrada é AuCl_2 (Maeda & Sakaguchi, 1990). A microalga dulcícola *Chlorella vulgaris* é capaz de acumular Au(I) e Au(III) das soluções aquosas com alta afinidade. Sob determinadas condições, o nível de ouro acumulado pode representar 10% do peso seco da célula. Au(III) acumulado intracelularmente é rapidamente reduzido a Au(I) e o ouro ligado à superfície celular é lentamente reduzido a Au(0). A redução do ouro é provavelmente um processo de detoxificação (Maeda & Sakaguchi, 1990)

5.7 – Prata

A prata também é um dos metais utilizados pelo homem desde a Antigüidade. Os gregos possuíam minerações de prata. A prata é encontrada pura ou associada a cobre, ouro e chumbo (Berman, 1980). A prata é um metal não-essencial e sua dose letal aguda (LD_{50}) em ratos é de $7,9 \times 10^{-4} \text{mol Kg}^{-1}$. A concentração de prata na água do mar varia entre 0,04 a $0,09 \mu\text{g L}^{-1}$. Cerca de 34% da prata dissolvida está em espécies orgânicas e as espécies inorgânicas são principalmente AgCl_2 (Maeda & Sakaguchi, 1990).

Além de ser usada em utensílios de mesa e joalheria, a prata está em ligas metálicas de alumínio, cádmio, cobre e chumbo, aumentando sua força, dureza e resistência a corrosão (Berman, 1980).

Os compostos de prata foram intensivamente usados como agentes antimicrobianos no tratamento de queimaduras e em infecções oculares (Slawson et al., 1992 *apud* Beveridge et al., 1997). Atualmente, ainda se utilizam os complexos protéicos de nitrato de prata em aplicações locais dada a suas propriedades germicidas (Berman, 1980).

A atividade tóxica da prata é principalmente local. A prata inativa os grupamentos sulfidríla das enzimas e também se combina com grupos amino, imidazol, carboxil e fosfato. Devido a sua lenta absorção, sua ação sistêmica não é extensiva. Além de se ligarem a proteínas, os íons também precipitam na forma de AgCl_2 onde foi aplicada. Concentrações elevadas de prata sobre a pele causam uma pigmentação que varia do cinza ao azul e é conhecida como argiria. Isso se deve à formação de sulfeto de prata e prata metálica. Não há maiores problemas, a não ser a mancha que persiste para o resto da vida (Berman, 1980)

Embora a prata tenha efeito germicida, algumas bactérias desenvolveram mecanismos de tolerância ao metal. Cepas de *Escherichia coli* e *Pseudomonas stutzeri* resistentes à prata foram isoladas de um paciente queimado e de uma mina de prata respectivamente (Gadd et al., 1989; Goddard & Bull, 1989; Starodub & Trevors, 1989). O acúmulo de prata por alguns microrganismos, como conseqüente mobilização e exclusão do metal são processos de resistência e detoxificação. Há também evidências experimentais de mecanismos de resistência genéticos codificados por plasmídeos, já encontrados em *E. coli* (Starodub & Trevors, 1989).

Outro estudo experimental envolvendo a cadeia trófica aquática (*Scenedesmus sp.*, *Daphnia magna*, mexilhões e peixe) e os metais prata e mercúrio, revelou que ambos podem ser acumulados por peixes através dos vários níveis da cadeia. O fator de concentração do mercúrio é mais alto que o da prata, e o mercúrio é biomagnificado enquanto a prata não (Terhaar et al., 1977 *apud* Maeda & Sakamuchi, 1990).

5.8 – Estanho e Telúrio

O estanho é um metal utilizado como cobertura protetora de outros metais e como anti-incrustante em tintas usadas no ambiente marinho (McDonald & Trevors, 1988 *apud* Beveridge et al., 1997). Ele é considerado por uns como um metal essencial (Maeda & Sakaguchi, 1990) e por outros como não-essencial.

O telúrio é um metalóide utilizado em baterias, ligas metálicas e em borracha como corante (Beveridge et al., 1997). É um elemento não-essencial.

Estudos de incorporação e tolerância para ambos em microrganismos podem ser revistos em Beveridge et al. (1997).