



## AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE FITORREMEIADORA DA MACRÓFITIA *LEMNA MINOR* (LENTILHA D'ÁGUA) NA REDUÇÃO DE FOSFATO EM MEIO AQUÁTICO

Bianca de Assis Rodrigues<sup>1\*</sup>  
Felipe Souza Menezes<sup>1</sup>  
Jonathan dos Santos Silva<sup>1</sup>  
Josilene Aparecida Silva<sup>1</sup>  
Victória Maria Lopes Peli<sup>1</sup>  
Prof. Dr. Klauss Engelmann<sup>1</sup>

### RESUMO

A eutrofização pode ser causada pelo aumento das concentrações de fósforo nas águas. Uma alternativa para solucionar este problema é a fitorremediação passiva com a *Lemna minor*. Através de experimentos em quadruplicata simulando o estado eutrófico, foi analisada a eficiência da *Lemna minor* em retirar o fósforo do meio aquático. As concentrações de fósforo nas águas dos tanques antes e após o tratamento com a *Lemna minor* foram determinadas através de espectrofotometria de absorção molecular. A metodologia foi aperfeiçoada ao longo dos experimentos, o que resultou em melhores resultados no último experimento. Foi observado que o tanque que esteve em uma posição em que recebia maior incidência de luz, obteve uma maior eficiência de remoção de fósforo, provavelmente devido à maior taxa de fotossíntese que realizou. Entretanto, ao observar a concentração de fósforo normalizada pela massa de *Lemna minor* inserida em cada tanque, o terceiro tanque foi o que apresentou maior eficiência de remoção, mostrando que outros fatores internos das plantas precisam ser considerados. Este trabalho possibilitou a melhoria da metodologia para o estudo de fitorremediação de concentrações de fósforo com a *Lemna minor*, o que poderá ser seguido em trabalhos futuros.

**Palavras-chave:** Eutrofização, Fitorremediação, Fosfato, *Lemna minor*.

### ABSTRACT

*Eutrophication can be caused by increased phosphorus concentrations in water. An alternative to solve this problem is passive phytoremediation with Lemna minor. Through experiments in quadruplicate simulating the eutrophic state, the efficiency of Lemna minor in removing phosphorus from the aquatic environment was analyzed. Phosphorus concentrations in pond water before and after treatment with Lemna minor were determined by molecular absorption spectrophotometry. The methodology was improved throughout the experiments, which resulted in better results in the last experiment. It was observed that the tank that was in a position where it received the highest incidence of light, obtained a greater efficiency of phosphorus removal, probably due to the higher rate of photosynthesis it performed. However, when observing the phosphorus concentration normalized by the mass of Lemna minor inserted in each tank, the third tank showed the highest removal efficiency, showing that other internal factors of the plants need to be considered. This work made it possible to improve the methodology for the study of phytoremediation of phosphorus concentrations with Lemna minor, which can be followed in future works.*

**Keywords:** Eutrophication, Phytoremediation, Phosphate, *Lemna minor*.

---

<sup>1</sup> Curso Técnico em Química – ETEC Irmã Agostina  
Av. Feliciano Correa s/n – Jardim Satélite - CEP 04815-240 - São Paulo – Brasil  
\* tccetecgp1@gmail.com

## 1 INTRODUÇÃO

A eutrofização é um fenômeno decorrente da poluição de corpos d'água por, principalmente, compostos nitrogenados e fosforados (CETESB, 2022), a qual prejudica esses ecossistemas e, dentre outras atividades, a piscicultura. Neste fenômeno, a água passa a ter uma alta presença de organismos anaeróbicos, dentre os quais as cianobactérias, que produzem cianotoxinas (GONZÁLEZ; GOMEZ, 2010), constituindo um risco à saúde pública, pois alteram as propriedades do meio, como sabor e odor, e liberam toxinas prejudiciais aos seres humanos, que podem ser divididas em três grupos: endotoxinas (atingem o sistema endócrino-hormonal), neurotoxinas (atingem o sistema nervoso) e hepatotoxinas (atingem o fígado), sendo este último grupo o mais comum entre as toxinas produzidas no processo eutrófico, ocasionando o desenvolvimento de tumores (EMÍDIO, 2012).

Dentre os compostos fosforados envolvidos neste fenômeno está o fosfato, o qual é um macronutriente essencial às plantas e animais, sendo muito utilizado em campos agrícolas como fertilizante, pois o replantio sucessivo esgota a reserva natural de fosfato do solo (EMÍDIO, 2012). O fósforo também é utilizado na produção de detergentes sólidos e líquidos, de suplementos de alimentação animal, conservantes alimentares, cosméticos, pesticidas e outros produtos industriais (EMÍDIO, 2012). O arraste fluvial é o maior responsável pelo fluxo de fosfato, despejando-o nos sistemas aquáticos, devido à grande produção antropogênica desse nutriente, que passa a ser poluente, pois apenas 10% são consumidos pelo ecossistema, e os demais 90% viram sedimentos que são transportados para os corpos d'água (EMÍDIO, 2012), causando a eutrofização.

Entre as formas de solucionar este problema estão a diminuição do despejo de nutrientes nos corpos d'água e ataque às algas (LANGANKE, 2022), e a fitorremediação, a qual é uma forma de manipular o ciclo biogeoquímico com materiais biológicos naturais (BRITO, 2020). Plantas aquáticas macrófitas podem ser utilizadas para este fim, por terem um baixo custo, boa eficiência de Demanda Química de Oxigenação (DQO) e de Demanda Bioquímica de Oxigenação (DBO), além da capacidade de armazenamento de metais pesados, nitrogênio e fósforo (SILVA *et al.*, 2019). Após o uso para fitorremediação, é possível recolher a biomassa contaminada e gerar biogás ou produzir compostagem para uso como fertilizante, entre outras formas de reaproveitamento (SILVA *et al.*, 2019).

A *Lemna minor*, conhecida popularmente como lentilha d'água, é uma espécie de macrófita aquática encontrada em corpos d'água doces ou com pouca salinidade (até 4 g.L<sup>-1</sup>) protegidos de ventos fortes e correntezas, geralmente formando densas populações que flutuam na superfície dos corpos d'água ricos em matéria orgânica (LANDOLT; KANDELER, 1987). Sua utilidade é variada, servindo em tratamento de efluentes (ROSE, 2000) e na alimentação de animais domésticos (ISLAM, 2002). Se desenvolvida em ambientes eutróficos, estas plantas podem conter entre 35 e 45% de proteínas e 5 a 15% de fibras (JOURNEY; SKILLICORN; SPIRA, 1993).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência da *Lemna minor* na fitorremediação de íons fosfato em corpos d'água eutróficos simulados.

### 1.1. EUTROFIZAÇÃO

Os corpos d'água têm naturalmente uma quantidade de nutrientes dissolvidos que limita o crescimento de organismos produtores, como as algas e cianobactérias, mantendo a cadeia equilibrada (LANGANKE, 2022). Entretanto, pode haver um excesso de nutrientes que tem como fontes o destino de tratamentos de esgoto doméstico, água de irrigação de fazendas que transportam compostos nitrogenados e fosforados de adubos, pesticidas e fertilizantes para os corpos d'água (LANGANKE, 2022), e efluentes industriais (CETESB, 2022), desequilibrando o ecossistema.

A presença de muitos organismos produtores torna a água turva, o que bloqueia a entrada de luz solar, impedindo que ela atinja o fundo do corpo d'água, e prejudicando a fotossíntese das espécies que estão em profundidade, principalmente plantas enraizadas (LANGANKE, 2022). Isso leva a uma menor disponibilidade de oxigênio dissolvido na água (desoxigenação), prejudicando a vida dos organismos aeróbios, e ocasionando a morte de, principalmente, peixes e plantas (LANGANKE, 2022). Esse processo também diminui a dissolução de oxigênio atmosférico nas águas, agravando a situação, que fica mais crítica quando as algas começam a morrer, pois animais decompositores (bactérias e organismos bentônicos), que utilizam oxigênio dissolvido para decomposição, diminuem ainda mais os níveis de oxigênio do corpo d'água (LANGANKE, 2022). Em estágio avançado o corpo d'água é considerado "morto", pois poucos animais conseguem sobreviver nele (LANGANKE, 2022).

## 1.2. FITORREMEDIAÇÃO E AS MACRÓFITAS AQUÁTICAS

A fitorremediação é uma técnica de descontaminação do solo, da água ou do ar utilizando como agente de descontaminação as plantas (PIRES *et al.*, 2003). É um processo eficaz e viável por ser biótico e utilizar um conjunto específico de plantas que podem remover, decompor e/ou acumular os contaminantes de duas formas: direta (absorver, acumular ou metabolizar nos seus tecidos) ou indireta (na extração dos contaminantes ou propiciando a atividade microbiana que os degrade) (TEIXEIRA, 2012).

Neste processo podem ser utilizadas as macrófitas aquáticas, que estão presentes em quase todos os meios aquáticos, e são responsáveis pela produção de oxigênio, renovação dos nutrientes dissolvidos, criação de *habitats*, fixação e estabilização dos sedimentos e outras características mais, tornando-as um grupo de interesse para estudo (TEIXEIRA, 2012). Também são fonte de alimento e local de abrigo para diversas espécies (KAFFER; COLARES; HEFLER, 2011).

## 1.3. LEMNA MINOR

As macrófitas flutuantes do gênero *Lemna* são encontradas em ecossistemas lênticos de água salobra, como lagos e lagoas, em várias regiões continentais com exceção do Ártico e da Antártica (ALMEIDA, 2018). Divididas em cinco gêneros e 37 espécies, são as menores angiospérmicas do mundo e apresentam crescimento exponencial, podendo, sob condições ideais de temperatura e intensidade luminosa, duplicar em dois dias ou menos (ALMEIDA, 2018). Além disso, essa espécie possui excelente capacidade de adaptação, sendo tolerante ao estresse desses mecanismos (ALMEIDA, 2018). Esta propriedade é importante para o tratamento de efluentes, removendo nutrientes e metais pesados (ALMEIDA, 2018).

A *Lemna minor* é a menor angiosperma ou planta que floresce do reino das plantas e a menor planta flutuante monocotiledônea, sendo composta por uma ou poucas folhas e uma única raiz ou radícula sem caule, com comprimento entre 2 e 4 mm (EKPERUSI; SIKOKI; NWACHUKWU, 2019). Se reproduz vegetativamente se dividindo para formar plantas individuais separadas (CORREL; CORREL, 1972). Agrega-se formando colônias nas águas superficiais (EKPERUSI; SIKOKI; NWACHUKWU, 2019) e seu tempo de duplicação da folhagem é de cerca de 1,4 dias (FRICK, 1985). Se cultivada em laboratório pode crescer indefinidamente se

nutrientes, luz e água são providenciadas (EKPERUSI; SIKOKI; NWACHUKWU, 2019). É nativa da África, Ásia e Europa, mas também encontrada na Austrália e América do Sul (APPENROTH *et al.*, 2015). Os pássaros são responsáveis por sua propagação para novos sítios (EKPERUSI; SIKOKI; NWACHUKWU, 2019). A sua distribuição esporádica e natureza invasiva, e a capacidade de se reproduzir em diversos habitats, aumentaram o seu potencial para resistir a condições adversas, incluindo águas poluídas e degradadas (SUKUMARAN, 2013, DAS; GOSWAMI; TALUKDAR, 2014). Por isto está entre seus diversos usos a fitorremediação de diversos poluentes em ambientes aquáticos, dentre eles metais pesados, compostos orgânicos, produtos agrícolas, farmacêuticos e de higiene pessoal, nanomateriais, hidrocarbonetos advindos do petróleo e rejeitos radioativos (EKPERUSI; SIKOKI; NWACHUKWU, 2019).

## 2 METODOLOGIA

### 2.1. MATERIAIS

A tabela 1 mostra a relação de substâncias utilizadas no desenvolvimento do trabalho com suas fórmulas químicas e fabricantes.

O equipamento utilizado para quantificar as concentrações de fosfato das amostras foi o espectrofotômetro de absorção molecular no UV-Visível (modelo Nova 1600UV, Nova Instruments, Brasil).

Um *timer* eletrônico para promover iluminação artificial no período noturno com uma lâmpada de led também foi utilizado.

### 2.2. MÉTODO

Todas as vidrarias e tanques utilizados foram lavados com solução de HCl 0,05 mol.L<sup>-1</sup> e em sequência, água destilada em abundância, com a finalidade de não haver interferências de fosfato residual proveniente de detergentes e materiais de limpeza utilizados na manutenção destes materiais.

Para limpeza e desinfecção das mudas de *Lemna minor* foi feita a lavagem com água de abastecimento para retirada de detritos maiores, submersão em solução de hipoclorito de sódio diluída a 4% e água destilada em sequência. Após isto, as mudas permaneceram por 14 dias em soluções nutritivas hidropônicas, com reposição de água ao menisco do tanque, e o recipiente foi coberto por toucas higiênicas para evitar o acesso de insetos e não afetar a troca gasosa. O processo de limpeza e desinfecção foi feito a

cada sete dias e a solução nutriente também foi trocada semanalmente (GIMENES, 2015). Foi mantida a seguinte sequência de transferência das mudas: após a limpeza e desinfecção, as mudas foram transferidas para o tanque de fósforo (preparado com a Solução Nutritiva Flex Vermelho na concentração  $0,69 \text{ g.L}^{-1}$ , composição: Micros quelatizados EDTA, além de nitrato de potássio, MKP, MAP Cristal, entre outros) (Figura 1 à direita) e mantidas nele por sete dias. Após este período, as mudas foram movidas para o tanque de nitrogênio (preparado com a Solução Nutritiva Flex Azul na concentração  $0,69 \text{ g.L}^{-1}$ , composição: Nitrato de cálcio, nitrato de magnésio, produto de fabricação própria sob nº de reg. de produto no mapa: pr 000637-8.000018, e agente corante) (Figura 1 à esquerda) e mantidas nele por sete dias em média (Tabela 2).

**Tabela 1: Reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho, fórmulas químicas e fabricantes.**

Reagente	Fórmula Química	Fabricante
Água destilada	$\text{H}_2\text{O}$	-
Água de abastecimento	$\text{H}_2\text{O}$	-
Ácido clorídrico 37% P.A.	$\text{HCl}$	Synth
Solução Nutritiva Flex Azul (livre de $\text{P}_2\text{O}_5$ )	-	Plantpar
Solução Nutritiva Flex Vermelha (com $\text{P}_2\text{O}_5$ )	-	Plantpar
Hipoclorito de sódio	$\text{NaClO}$	Super Candida
Fosfato de potássio monobásico anidro P.A.	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Neon
Ácido sulfúrico P.A.	$\text{H}_2\text{SO}_4$	Synth
Tartarato de antimônio e potássio P.A.	$\text{C}_8\text{H}_4\text{K}_2\text{O}_{12}\text{Sb}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Synth
Molibdato de amônio P.A.	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Merck
L-Ácido ascórbico P.A.	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	Neon

Fonte: do próprio autor, 2022.

**Tabela 2: Períodos de cultivo dos tanques em quadruplicada.**

Semana	Data de cultivo	Data de encerramento
S1	27/04/2022	03/05/2022
S2	03/05/2022	10/05/2022
S3	10/05/2022	17/05/2022
S4	17/05/2022	24/05/2022

Fonte: do próprio autor, 2022.

**Figura 1: Tanques-mães de cultivo de solução nutritiva. À esquerda está o tanque de nitrogênio e à direita, o de fósforo.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

Foram preparadas soluções-contaminantes de fósforo  $8$  e  $16 \text{ mg.L}^{-1}$ , esta última concentração somente no primeiro cultivo, a partir do fosfato de potássio monobásico anidro P.A., com a finalidade de criar sistemas eutrofizados artificiais nos tanques. A concentração de  $8 \text{ mg.L}^{-1}$  de fósforo foi adotada por ser a média do intervalo de concentração de fósforo total encontrado nos esgotos sanitários brasileiros ( $6$  a  $10 \text{ mgP.L}^{-1}$ ) (CETESB, 2022). A concentração de  $16 \text{ mg.L}^{-1}$  foi adotada para verificação de como seriam os resultados com uma concentração dobrada de fósforo em relação à média dos esgotos sanitários brasileiros. Juntamente a elas foi feita a Solução Nutritiva Flex Azul  $0,69 \text{ g.L}^{-1}$ . Foram designados quatro tanques para análises em quadruplicada, e a eles foram adicionados  $400 \text{ mL}$  da solução e marcadas as alturas dos níveis da água em cada um para manutenção do volume de água perdido por evaporação, impedindo a saturação de fósforo. Após esta etapa,  $0,1 \text{ g}$  de mudas de *Lemna minor* lavadas com água destilada foram adicionadas aos tanques. Os tanques foram cobertos com toucas higiênicas e colocados em ambiente protegido da chuva, mas com incidência de luz solar por uma janela e de luz artificial através de uma lâmpada LED no período noturno durante sete dias (Figura 2). Após este período, os exemplares cultivados de *Lemna minor* foram retirados dos tanques, e as soluções dos tanques foram armazenadas em frascos de vidro (limpos e

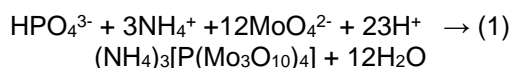
desinfetados) de 150 mL para que posteriormente fossem feitas as análises das amostras no espectrofotômetro. Após isto, os tanques foram lavados com solução de HCl 0,05 mol.L<sup>-1</sup> e com água destilada.

**Figura 2: Estrutura de condicionamento dos tanques com banho de luz artificial de lâmpada LED no período noturno por 12 h por dia.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

Para a segunda análise (cultivo em 03 de maio de 2022), foi preparada solução-estoque de fósforo de 20 mg.L<sup>-1</sup> e para as demais 200 mg.L<sup>-1</sup>, para facilitar a pipetagem com volumes mais precisos, a partir do fosfato de potássio monobásico anidro P.A., com a finalidade de construção das curvas analíticas utilizando o espectrofotômetro de absorção molecular UV-Visível e para análise das águas dos tanques com concentrações iniciais de solução-contaminante de 8 e 16 mg.L<sup>-1</sup>, esta última observada apenas no primeiro cultivo (27 de abril de 2022). Elas puderam ser analisadas pelo espectrofotômetro através da formação do complexo fosfomolibdato de amônio (equação 1, SABESP, 2003).



Para formação do complexo fosfomolibdato de amônio foram preparados 50 mL de soluções reagente combinado contendo 25 mL de solução de ácido sulfúrico 20%, 2,5 mL de solução de tartarato de antimônio e potássio 0,004 mol.L<sup>-1</sup>, 7,5 mL de solução de molibdato de amônio 0,032 mol.L<sup>-1</sup> e 15 mL de solução de ácido ascórbico 0,1 mol.L<sup>-1</sup>. Para fazer a curva analítica para as análises das águas dos tanques, foram preparadas soluções-padrão com concentrações de fósforo 2, 4, 6, 8 e 10 mg.L<sup>-1</sup>. Aguardou-se o tempo de formação e estabilização do complexo, que tem duração de 10 a 15 min em dias mais quentes e de 1 h em dias mais frios, segundo observações durante os experimentos, pela estabilização das medidas de absorvância do espectrofotômetro, mudando a coloração das soluções de incolor para azul Royal intenso (caso a coloração azul passe de límpida para turva e mais escura, significa que foi ultrapassado o limite

de tempo da reação, pois o complexo é instável e pode haver interferência na leitura da amostra). Iniciaram-se as análises imediatamente após estes períodos, de acordo com as condições de tempo dos dias de análises. Foi feita a leitura do espectro de absorção entre 780 e 920 nm das soluções-padrões de concentração 6 mg.L<sup>-1</sup>, para determinação do comprimento de onda de máxima absorção. A partir disso, as leituras foram ajustadas para este comprimento de onda para construção das curvas analíticas e leitura das amostras (SILVA, 2021).

Para preparar as amostras para análise, foi colocado 1 mL de solução do reagente combinado em balões volumétricos de 5 mL e completou-se o volume com 4 mL das amostras (SILVA, 2021).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os testes foram iniciados em fevereiro de 2022, sendo necessária a desinfecção (Figura 3) e reprodução da *Lemna minor* por um tempo de 15 dias.

**Figura 3: Manutenção do tanque a qual incluía a desinfecção dos exemplares de *Lemna minor*.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

Durante os primeiros 15 dias, o lote foi armazenado dentro do laboratório próximo às janelas e não apresentou o crescimento exponencial conforme citado nas referências da sua reprodução na natureza. Foram revisados os cálculos e pesagens das soluções hidropônicas, que não apresentaram erro de preparo e criou-se como hipótese a falta de iluminação adequada. Para contornar esta situação, foi feita a montagem de um sistema de iluminação noturna no dia 06 de abril de 2022 (Figura 4), que dispunha de um *timer* eletrônico e uma lâmpada de luz LED branca, programada para iluminar os tanques durante 12h (entre às 18 h e às 06 h), os exemplares começaram a se reproduzir pouco.

**Figura 4: Sistema de iluminação com luz LED.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

Neste primeiro teste com a iluminação de LED, observou-se que a proximidade da lâmpada aos tanques provocou evaporação de água das soluções devido ao calor emitido pela lâmpada. Durante esse período houve recesso na instituição, o que impossibilitou os acessos aos tanques. Provavelmente devido a isso, ocorreu a deplasmólise dos exemplares (Figura 5), invalidando os estudos desta semana. A osmose é o fluxo de solvente que ocorre em membranas semi-permeáveis por difusão do meio com menor concentração para o com maior concentração (PEIXOTO, 2020). A deplasmólise ocorre quando a concentração do nutriente dentro das plantas é maior do que a da água dos tanques, criando um fluxo de água dos tanques para dentro das plantas, o que fez com que elas estourassem.

**FIGURA 5: Tanques em que ocorreu a deplasmólise.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

O sistema de banho de luz foi remanejado e adequado para que não ocorresse a incidência de uma grande quantidade de calor, mas garantindo uma boa fonte de iluminação (Figura 2).

Na fase analítica, a determinação do fósforo da amostra foi obtida através da técnica do azul de molibdênio, cor característica da reação do complexo formado em meio ácido entre o molibdato de amônio e o ortofosfato reduzido pelo ácido ascórbico dando seu aspecto azul intenso com absorvância máxima em 880 nm (SABESP, 2003). A figura 6 mostra as soluções-padrão para

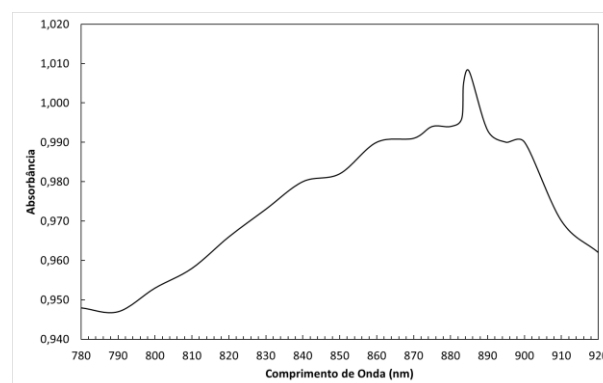
a curva analítica. E de acordo com a Figura 7, o espectro de absorvância captado pela solução-padrão de concentração de fósforo  $6 \text{ mg.L}^{-1}$  indica o valor do comprimento de onda de máxima absorção de 883,5 nm.

**FIGURA 6: Balões volumétricos com o branco e as soluções-padrão para construção da curva analítica.**



Fonte: do próprio autor, 2022

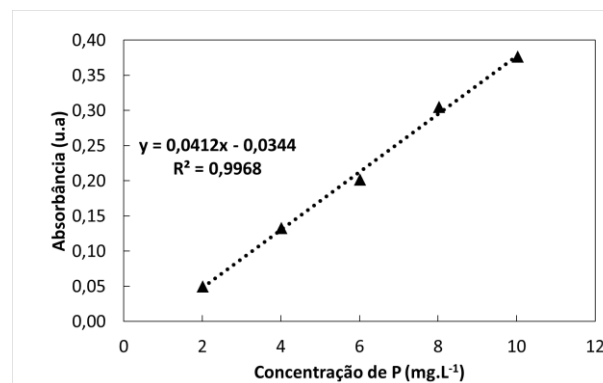
**FIGURA 7: Espectro de absorção do complexo de fosfomolibdato de amônio.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

Conforme a Figura 8, a curva analítica obtida atendeu à metodologia sendo possível mensurar as amostras.

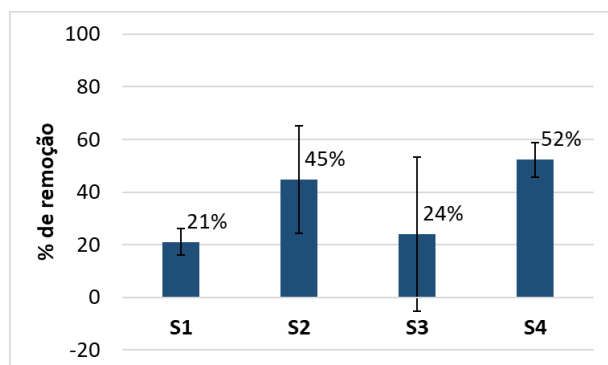
**FIGURA 8: Curva analítica para mensurar a concentração de  $\text{PO}_4^{3-}$  nas amostras de água dos tanques.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

A partir das análises foram obtidos os resultados de concentração de fósforo nos tanques em cada semana e calculadas as porcentagens de remoção médias mostradas na Figura 9. O desvio padrão foi menor e os resultados foram mais eficientes na S4, provavelmente devido às melhorias na metodologia. Na S3 foi observado o maior desvio padrão, inclusive maior do que a média. O valor mínimo observado foi de 4,56% e o máximo de 67,29%, o que pode ser atribuído aos exemplares de *Lemna minor* dos tanques com menor eficiência tiveram algum problema com relação a seu estado de saúde ou outros não percebidos a uma visão macroscópica.

**FIGURA 9: Médias e desvios padrões das porcentagens de remoção de fósforo dos tanques de cada semana.**



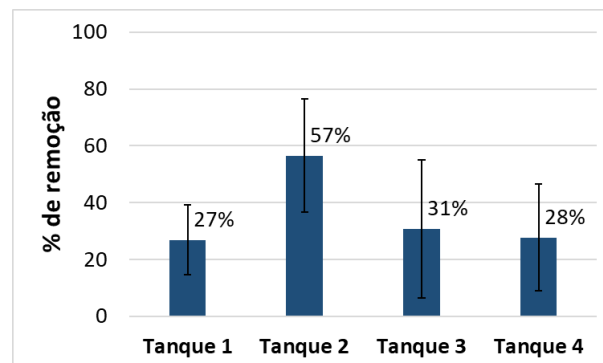
Fonte: do próprio autor, 2022.

A Figura 10 resume as observações feitas com relação a cada tanque. O tanque 2 foi o que apresentou maior porcentagem de remoção média comparado aos outros tanques, sendo quase o dobro dos outros, que tiveram porcentagens de remoção próximas, o que ocorreu devido ao posicionamento deste tanque com relação à iluminação permitir uma maior incidência de luz sobre ele (Figura 2), aumentando a taxa de fotossíntese e assim a remoção de fósforo. Os desvios padrões altos mostram como foram alteradas as porcentagens de remoção de acordo com a evolução das semanas, e, portanto, da melhoria da metodologia.

Para uma análise mais detalhada, a Figura 11 exhibe os resultados obtidos na última semana de experimentos (cultivo em 17 de maio de 2022). O tanque 2 foi o que teve maior porcentagem de remoção de fósforo, porém os outros tanques também apresentaram bons resultados. A isso pode ser atribuído todos os ensinamentos que os experimentos anteriores proporcionaram, melhorando desde a forma do cultivo até a análise de dados. Entretanto, ao se observar a concentração de fósforo normalizada pela massa

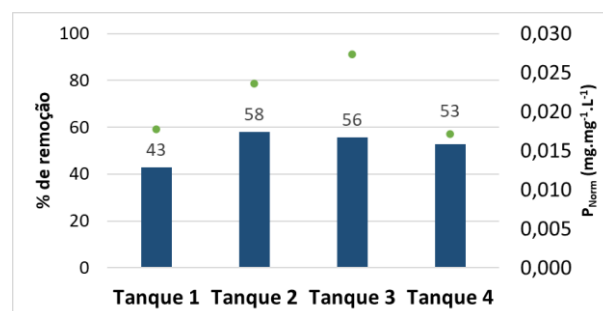
de *Lemna minor* em cada tanque, foi observado que o tanque 3 foi mais eficiente, mostrando que apesar deste tanque receber uma menor massa de *Lemna minor* foi mais eficiente em remover o fósforo, indicando que outros efeitos não observados referentes ao desempenho dos exemplares devem ser considerados e podem se sobressair em relação ao efeito que a maior luminosidade pode proporcionar.

**FIGURA 10: Médias e desvios padrões das porcentagens de remoção de fósforo de cada tanque.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

**FIGURA 11: Dados do último experimento realizado (cultivo em 17 de maio de 2022) de porcentagem de remoção e remoção de fósforo normalizada de acordo com as massas de *Lemna minor* em cada tanque.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

### 3.1. CULTIVO EM 27 DE ABRIL DE 2022

Após as falhas dos primeiros testes, no cultivo de 27 de abril de 2022 começou-se a estabilizar os cultivos sem apresentarem variantes ao manejo em relação à planta.

Preparou-se as soluções-contaminantes para os tanques-teste com concentração de fósforo total de 8 e 16 mg.L<sup>-1</sup> em triplicata e quadruplicada respectivamente conforme Figura 12. O estudo com os tanques com concentração de fósforo de 8 mg.L<sup>-1</sup> foi descartado posteriormente por não haver necessidade de

comparação não havendo um estudo completo com uma concentração inicial e também pelo fato de ter sido realizado em triplicata. Foi adotado para os próximos testes a concentração  $8 \text{ mg.L}^{-1}$  até o final do estudo.

O acerto da leitura dos resultados em relação ao preparo do reagente combinado para a complexação do fósforo ocorreu ao verificar erro no preparo da solução de ácido sulfúrico, em que estava sendo utilizado o ácido sulfúrico concentrado ao invés da solução 20% que consta na literatura.

**FIGURA 12: Preparo dos novos tanques.**

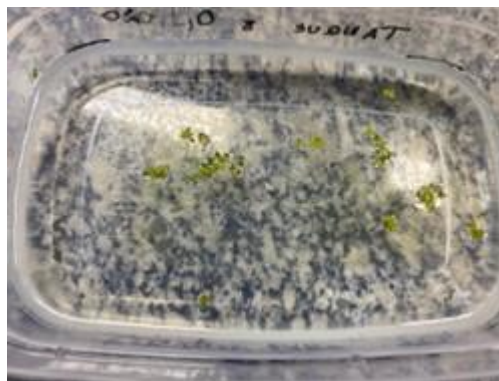


Fonte: do próprio autor, 2022.

### 3.2. CULTIVO EM 03 DE MAIO DE 2022

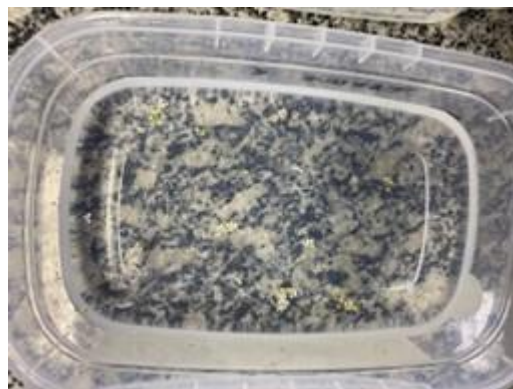
Foi preparado outro teste em quadruplicada, para avaliação da remoção, e nesta semana houve erro no preparo da solução, inviabilizando o teste. A concentração contaminante definida para  $8 \text{ mg.L}^{-1}$ , os tanques apresentaram precipitação dos cristais de fosfato e musgo no fundo, além do tanque 2 apresentar um esbranquiçamento das folhas da *Lemna minor*. Foi observado que o tanque-mãe de cultivo de nitrogênio estava com presença de insetos e bolor, sendo refeita a desinfecção e retornando os exemplares ao tanque-mãe de fosfato após limpeza, para o preparo de uma nova solução para o tanque-mãe de nitrogênio, conforme as Figuras 13, 14 e 15.

**FIGURA 13: Tanque 1 do cultivo de 03 de maio de 2022 com a presença de musgo verde ao fundo do tanque.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

**FIGURA 14: Tanque 2 do cultivo de 03 de maio de 2022 com folhas da *Lemna minor* esbranquiçadas.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

**FIGURA 15: Tanque-mãe de nitrogênio com bolor.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

### 3.3. CULTIVO EM 10 DE MAIO DE 2022

Seguiu-se o processo de cultivo e manejo conforme o método sem apresentar variâncias macroscópicas nos tanques, como contaminações



cruzadas ou aspectos não característicos na planta, conforme as Figura 16.

**FIGURA 16: Preparo da curva e leitura das análises.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

### 3.4. CULTIVO EM 17 DE MAIO DE 2022

Nesta semana não houve variações perante o processo de manejo e cultivo, mas uma etapa no processo de leitura da amostra foi inclusa: a filtragem da água residual do tanque em papel filtro faixa azul (1 – 2 µm de poro), pois houve formação de detritos das folhas mortas que ficaram nos frascos de coleta e puderam ser observados macroscopicamente.

A filtragem é um processo essencial para leitura, pois esta retira interferentes visuais que podem afetar a análise de espectrofotometria. Nas semanas anteriores não foram notados detritos a olho nu, por isso essa etapa não foi executada. O filtrado, quando adicionado ao reagente combinado, apresentou valores de absorvância 10 vezes menores do que a curva de calibração que estava sendo executada, o que impedia a leitura real das concentrações da amostra. Para resolver este problema, o padrão fosfato foi diluído em água (1:10) antes de reagir-lo, conforme Figura 17.

**FIGURA 17: Preparo da curva e leitura das análises.**



Fonte: do próprio autor, 2022.

Para esta semana, as experiências das semanas anteriores com a metodologia e o manejo permitiram os valores mais eficientes de

remoção de fósforo pelos exemplares de *Lemna minor*.

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do trabalho possibilitou o aprendizado e a busca de soluções para contornar diversos desafios encontrados, desenvolvendo o senso crítico e o pensamento científico dos membros do grupo. De início, foram resolvidas as questões com relação à iluminação dos tanques, trazendo conhecimentos sobre a necessidade de uma fonte de luz artificial nos horários em que não havia incidência solar sobre a bancada do laboratório em que os tanques estavam, para a melhor reprodução dos exemplares de *Lemna minor*, assim como o posicionamento da fonte com relação aos tanques se mostrou importante. Também se obteve a conclusão de que era necessário limpar todas as vidrarias e tanques com solução de HCl para retirar interferências de fosfato residual de materiais de limpeza, utilizados na manutenção destes objetos. Outra constatação foi percebida ao perceber que era necessário acompanhar o volume de água dos tanques com frequência quase diária, para que os exemplares não sofressem deplasmólise devido à evaporação de água dos tanques, o que inviabilizou uma semana de experimentos. Através do aperfeiçoamento do método analítico com soluções-padrões e análise no espectrofotômetro, além do refinamento na metodologia, o qual incluiu a etapa de filtração das amostras, foram alcançados melhores resultados.

Com os resultados foi possível observar que a posição do tanque em relação à fonte luminosa se mostrou um fator importante na porcentagem de remoção de fósforo pela *Lemna minor*. No cultivo em que a metodologia esteve mais refinada, os tanques apresentaram porcentagem de remoção de fósforo com valores próximos, o que mostrou a importância da observação cuidadosa a cada etapa e aperfeiçoamento do método. A concentração de fósforo normalizada se mostrou uma variável importante, por considerar a eficiência de remoção de fósforo de acordo com a massa de *Lemna minor* de cada tanque, mostrando que fatores internos dos exemplares podem influenciar na eficiência de remoção de fósforo.

Como sugestão para trabalhos futuros, pode-se incluir a execução de experimentos com refinamento do método alcançado neste trabalho, e a avaliação da concentração de fósforo normalizada pela massa em todos os experimentos. Além disso, o estudo de quais fatores internos da *Lemna minor* precisam ser avaliados na análise de remoção de fosfato por esta espécie e a sua influência nos resultados.

Outro fator importante a ser considerado é o uso de tanques de vidro ao invés dos de plástico, pela maior quantidade de luz que pode atravessá-los. Uma variável interessante de análise seria a medição dos níveis de oxigenação por métodos bioquímicos.

## AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos vão à nossa família pelo suporte e apoio tão necessários, ao corpo docente da ETEC Irmã Agostina, em especial ao nosso orientador Prof. Dr. Klaus Engelmann, pela paciência e dedicação aplicadas para nosso crescimento e desenvolvimento do trabalho, e aos colegas de classes pelo incentivo diário, compartilhando experiências e vivências.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. C. R. de. **Avaliação do potencial de *Lemna Minor* L. como bioindicador de toxicidade em águas residuais.** 2018. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- APPENROTH, K.-J. *et al.* Resurgence of duckweed research and applications: report from the 3<sup>rd</sup> International Duckweed Conference. **Plant Molecular Biology**, v. 89. 647-654, oct. 2015.
- BRITO, F. M. C. **Potencial de sorção do fósforo por materiais adsorventes naturais do semiárido para controle de eutrofização.** 2020. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Sanitária) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- CETESB. Apêndice E: Significado Ambiental e Sanitário das Variáveis de Qualidade das Águas e dos Sedimentos e Metodologias Analíticas e de Amostragem. **Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB)**, São Paulo. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/12/2017/11/Ap%C3%AAndic-e-E-Significado-Ambiental-e-Sanit%C3%A1rio-das-Vari%C3%A1veis-de-Qualidade-2016.pdf> Acesso em: 03 mai. 2022.
- CORRELL, D. S., CORRELL, H. B. Aquatic and Wetland Plants of Southwestern United States. **Environmental Protection Agency (EPA)**, Washington. Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/bibliography/4197> Acesso em: 09 mai. 2022.
- DAS, S., GOSWAMI, S., TALUKDAR, A. D. A Study on Cadmium Phytoremediation Potential of Water Lettuce, *Pistia stratiotes* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 92, 169-174, 2014.
- EKPERUSI, A. O., SIKOKI, F. D., NWACHUKWU, E. O. Application of common duckweed (*Lemna minor*) in phytoremediation of chemicals in the environment: State and future perspective. **Chemosphere**, v. 223, 285-309, mai. 2019.
- EMÍDIO, V. J. G. **A problemática do fósforo nas águas para consumo humano e águas residuais e soluções para o seu tratamento.** 2012. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Algarve, Algarve, Portugal.
- FRICK, H. Micronutrient tolerance and accumulation in the duckweed, *Lemna*. **Journal of Plant Nutrition**, v. 8, n. 12, 1131-1145, 1985.
- GIMENES, L. L. S. **Avaliação do potencial de remoção de arsênio utilizando *Lemna minor* L.** 2015. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas.
- GLOSSÁRIO. **Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB)**, São Paulo. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/glossario/#1500038827463-a879ae87-47f3> Acesso em: 13 mar. 2022.
- GONZÁLEZ, M. R.; GÓMEZ, L. G. Identificación de cianobacterias potencialmente productoras de cianotoxinas en la curva de salguero del río Cesar. **Revista Luna Azul**, Manizales, n. 31, 17-25, jul./dez. 2010.
- ISLAM, K. M. S. Feasibility of duckweed as poultry feed: A review. **Indian Journal of Animal Sciences**, Bangladesh, v. 72, n. 6, 486-491, jun. 2002.
- JOURNEY, W. K.; SKILLICORN, P.; SPIRA, W. **Duckweed aquaculture: A new aquatic farming system for developing countries.** Washington: World Bank Publication, 1993.
- KAFER, D. de S.; COLARES, I. G.; HEFLER, S. M. Composição florística e fitossociologia de macrófitas aquáticas em um banhado continental em Rio Grande, RS, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 62, n. 4, 835-846, 2011. DOI: 10.1590/S2175-78602011000400011.
- LANDOLT, E.; R. KANDELER. **The family of Lemnaceae - A monographic study: Phytochemistry, Physiology, Application, and Bibliography.** Zurique: Veroeffentlichungen des Geobotanischen Institutes der ETH, Stiftung Ruebel, 1987.

LANGANKE, R. Eutrofização. **Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB/USP)**, São Paulo. Disponível em: [http://ecologia.ib.usp.br/lepac/conservacao/ensino/des\\_eutro.htm#](http://ecologia.ib.usp.br/lepac/conservacao/ensino/des_eutro.htm#) Acesso em: 13 mar. 2022.

PEIXOTO, Clovis Pereira *et al.* Princípios de Fisiologia Vegetal: Teoria & Prática. *In*: PEIXOTO, Clovis Pereira *et al.* **Princípios de Fisiologia Vegetal: Teoria & Prática**. 1ª edição. ed. Rio de Janeiro: PoD, 2020. cap. 2, p. 37 – 47.

PIRES, F. R. *et al.* Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, 335-341, ago. 2003. DOI: 10.1590/S0100-83582003000200020.

ROSE, A. E. S. Studies on wastewater treatment by *Lemna Minor*. **Journal of Environmental Biology**, v. 21, n. 1, 43-46, jan. 2000.

SABESP (Brasil, São Paulo - SP). NORMA, NTS007, Fevereiro 2003. **Norma Técnica SABESP NTS 007: Fósforo - método colorimétrico com ácido ascórbico para águas residuárias**, São Paulo, p. 1-6, Fevereiro 2003. Disponível em: <https://docplayer.com.br/42615116-Norma-tecnica-sabesp-nts-007.html>. Acesso em: 15 mai 2022.

SILVA, Bianca Oliveira da *et al.* **REVISÃO SISTEMÁTICA: Absorção de íons fosfato de efluentes utilizando a macrófita aquática lentilha d'água (Lemna minor)**. Orientador: Prof Dr Klauss Engelmann. 2021. Trabalho de conclusão de curso (Técnico em Química) - ETEC Irmã Agostina, [S. l.], 2021. Disponível em: <http://ric.cps.sp.gov.br/bitstream/123456789/5574/1/Artigo%20G3%20Q%201S.pdf> Acesso em 03 fev. 2021.

SILVA, L. A. M. *et al.* Uso sustentável de macrófitas no tratamento de efluentes: uma revisão sistemática. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, Recife, v. 4, n. 4, 228-238, ago. 2019. DOI: 10.24221/JEAP.4.4.2019.2590.228-238.

SUKUMARAN D. Phytoremediation of Heavy Metals from Industrial Effluent Using Constructed Wetland Technology. **Applied Ecology and Environmental Sciences**, v. 1, n. 5, 92-97, oct. 2013.

TEIXEIRA, S. R. M. **Biorremediação de um efluente mineiro por *Lemna Minor***. 2012. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, Portugal.