

TAMARA DAIANE DE SOUZA

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE FITORREMEDIAÇÃO DE ÁGUAS
CONTAMINADAS COM ARSÊNIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S729o
2016 Souza, Tamara Daiane de, 1988-
Otimização do processo de fitorremediação de
águas contaminadas com arsênio / Tamara Daiane de
Souza. - Viçosa, MG, 2016.
xvii, 159f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador : Alison Carraro Borges.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Água - Poluição. 2. Fitorremediação. 3. Arsênio.
4. Aguapé (Planta). I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Engenharia Agrícola. Programa de
Pós-graduação em Engenharia Agrícola. II. Título.

CDD 22 ed. 363.7394

TAMARA DAIANE DE SOUZA

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE FITORREMEDIAÇÃO DE ÁGUAS
CONTAMINADAS COM ARSÊNIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 16 de dezembro de 2016.

Ann Honor Munteer

Giovanni de Oliveira Garcia

Paola Alfonsa Vieira Lo Monaco

Antonio Teixeira de Matos
(Coorientador)

Alisson Carraro Borges
(Orientador)

À Deus,

Aos meus pais Paulo e Rosemeire,

Aos meus irmãos Wildmarch e Gabriel,

Às minhas sobrinhas Duda e Jéssica,

Ao Múcio,

Pelo amor e apoio incondicionais,

Dedico e ofereço este trabalho.

“Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, que o mais importante é o decidir”

Cora Coralina

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua presença constante em minha vida e pela força concedida.

À Universidade Federal de Viçosa e Departamento de Engenharia Agrícola, pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro.

Ao professor Alisson Carraro Borges, pela orientação, confiança e conhecimentos transmitidos, e, principalmente, pela compreensão e tratamento cordial em todos momentos.

Ao coorientador Antonio Teixeira de Matos, pelas sugestões, conselhos e ensinamentos.

Ao coorientador Jaime Wilson Vargas de Mello, por disponibilizar com tanta cordialidade o uso do Laboratório de Elementos Traço.

Agradeço em especial ao Renato Veloso, por toda ajuda na especiação, essencial na realização deste trabalho. Pelo seu bom humor, mesmo até tarde da noite, muito obrigada Renato. Agradeço também a Adriana, pela colaboração e agilidade nas análises.

À minha estagiária, Amanda Braga, por todo auxílio no experimento e pela alegria transmitida em todos os momentos.

Ao meu amado Múcio, por todo incentivo, paciência e pela ajuda em todas as etapas, tanto na parte técnica quanto na emocional, fundamentais na concretização deste trabalho.

À todos os integrantes do Grupo de Pesquisa em Qualidade Ambiental (GPQA) pelo apoio e amizade: Amanda, Erlon, Edcássio, Magno, Suymara, Claudety, Paola, Marta, Gustavo, Gheila, Bárbara e Vinícius.

Aos funcionários Simão e Gil, pela prontidão em me auxiliar sempre que necessário.

Aos Professores Juraci Alves de Oliveira e Pedro Bond Schwarstsburd, pelo auxílio com as espécies vegetais e prontidão em sanar dúvidas.

À todos professores e funcionários do Departamento de Engenharia Agrícola, pela atenção e por fazer deste departamento um lugar agradável.

Aos meus pais, Paulo Roberto e Rosemeire, por serem os meus maiores incentivadores em tudo que tenho realizado, pelo zelo e amor incondicionais.

Aos amigos e familiares, em especial, aos meus irmãos e sobrinhas, Widmarch, Gabriel, Duda e Jéssica, pelo incentivo, torcida e por compreenderem minha ausência em diversos momentos.

CONTEÚDO

LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELAS.....	XII
RESUMO	XIV
ABSTRACT	XVI
1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	1
1.1. Introdução geral.....	1
1.2. Objetivos.....	3
1.3. Referências	5
CAPÍTULO 1: FITORREMEDIAÇÃO DE ARSÊNIO: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
1. FITORREMEDIAÇÃO.....	8
1.1. Fitoestabilização.....	9
1.2. Fitofiltração	10
1.3. Fitovolatilização	12
1.4. Fitoextração.....	14
1.5. Vantagens do processo de fitorremediação	18
1.6. Demais limitações e desafios da fitorremediação.....	20
2. ESPÉCIES VEGETAIS: <i>EICHHORNIA CRASSIPES</i> (AGUAPÉ) E <i>LEMNA VALDIVIANA</i> (LENTILHA D'ÁGUA)	21
2.1. <i>Eichhornia crassipes</i> (Aguapé).....	21
2.2. <i>Lemna</i> (Lentilha d'água).....	24
3. ARSÊNIO NO MEIO AMBIENTE	27
3.1. Fontes de arsênio.....	27
3.2. Contaminação de água por arsênio.....	28
3.3. Riscos para saúde	29
3.4. Dinâmica do arsênio no meio aquoso.....	31
4. OTIMIZAÇÃO DE EXPERIMENTOS: DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL.....	35
4.1. Metodologia de superfície de resposta	36
4.2. Planejamento composto central.....	37
5. REFERÊNCIAS	42
CAPÍTULO II: ARTIGO TÉCNICO-CIENTÍFICO.....	56
OTIMIZAÇÃO DA FITORREMEDIAÇÃO DE ARSÊNIO UTILIZANDO A ESPÉCIE VEGETAL <i>EICHHORNIA CRASSIPES</i> (AGUAPÉ).....	56

RESUMO	56
ABSTRACT	58
1. INTRODUÇÃO.....	60
2. MATERIAL E MÉTODOS	63
2.1. Obtenção e aclimatação das plantas.....	63
2.2. Delineamento e condições experimentais	63
2.3. Determinação do arsênio total e fósforo total e especiação (As(III) e As(V))	65
2.4. Avaliação do desempenho da planta, fator de bioacumulação e translocação	66
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
3.1. Otimização da absorção arsênio pelo aguapé.....	69
3.2. Absorção de fósforo.....	77
3.3. Desempenho do aguapé	78
3.4. Especiação do Arsênio	80
4. CONCLUSÕES.....	83
5. REFERÊNCIAS	84
CAPÍTULO III: ARTIGO TÉCNICO-CIENTÍFICO	90
OTIMIZAÇÃO DA FITORREMEDIAÇÃO DE ARSÊNIO UTILIZANDO A ESPÉCIE VEGETAL <i>LEMNA VALDIVIANA</i>	90
RESUMO	90
ABSTRACT	91
1. INTRODUÇÃO.....	92
2. MATERIAL E MÉTODOS	95
2.1. Obtenção e aclimatação das plantas.....	95
2.2. Delineamento e condições experimentais	95
2.3. Determinação do arsênio total e fósforo total e especiação (As(III) e As(V))	97
2.4. Avaliação do desempenho da planta e fator de bioacumulação.....	98
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	101
3.1. Otimização da absorção de arsênio pela <i>Lemna</i>	101
3.2. Desempenho da planta.....	109
3.3. Absorção de fósforo.....	110
3.4. Especiação de arsênio	112
4. CONCLUSÕES.....	115
5. REFERÊNCIAS	116

CAPÍTULO IV: ARTIGO TÉCNICO-CIENTÍFICO.....	120
CINÉTICA DE ABSORÇÃO DE ARSÊNIO PELAS ESPÉCIES EICHHORNIA CRASSIPES E LEMNA VALDIVIANA SOB CONDIÇÕES OTIMIZADAS.....	120
RESUMO	120
ABSTRACT	122
1. INTRODUÇÃO.....	123
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	126
2.1. Obtenção e aclimação das plantas.....	126
2.2. Delineamento experimental: cinética de remoção	126
2.3. Determinação do arsênio total e fósforo total e especiação do As (As(III) e As(V)).....	127
2.4. Avaliação do desempenho, fator de bioacumulação e translocação na planta.....	129
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	131
3.1. Cinética de remoção de As pelo aguapé	131
3.2. Cinética de remoção de As pela <i>Lemna valdiviana</i>	139
4. CONCLUSÕES.....	150
5. REFERÊNCIAS	151
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	156
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	157
APÊNDICE I	158
APÊNDICE II	159

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1. Representação esquemática da fitoestabilização.....	10
Figura 2. Representação esquemática da fitovolatilização.....	13
Figura 3. Representação esquemática da fitoextração.....	15
Figura 4. Aguapé (<i>Eichhornia crassipes</i>).....	23
Figura 5. <i>Lemna valdiviana</i>	26
Figura 6. Diagrama esquemático da inserção do arsênio na cadeia alimentar humana.....	31
Figura 7. Diagrama Eh-pH das espécies de As em meio aquoso, no sistema As-O ₂ -H ₂ O a 25 °C e 1 bar de pressão total.....	32

Capítulo II

Figura 1. Gráfico de Pareto correspondente (a) todas as variáveis e (b) as variáveis utilizadas no modelo de regressão em nível de 5% de significância.....	70
Figura 2. Correlação entre os dados experimentais e o modelo matemático proposto.....	71
Figura 3. Gráfico de Contorno relacionando as concentrações de N-NO ₃ e P-PO ₄ e a variável resposta massa de As removido por unidade de massa seca da planta (mg g ⁻¹) com pH fixo de 6,5.....	74
Figura 4. Gráfico de Contorno relacionando a concentração de N-NO ₃ e o pH, sendo a variável resposta massa de As removido por unidade de massa seca da planta (mg g ⁻¹) para concentração fixa de 0,069 mmol L ⁻¹ de P-PO ₄	75
Figura 5. Gráfico de Contorno relacionando a concentração de P-PO ₄ e o pH, sendo a variável resposta massa de As removido por unidade de massa seca da planta (mg g ⁻¹) para concentração fixa de 6,9 mmol L ⁻¹ de N-NO ₃	75
Figura 6. Funções de desejabilidade da otimização da remoção de As pela <i>E. crassipes</i>	76
Figura 7. Gráfico de Pareto correspondente a absorção de fósforo pela <i>E. crassipes</i>	77
Figura 8. Monitoramento do Potencial de oxirredução (Eh) (a) e pH (b) durante os 10 dias de cultivo.....	82

Capítulo III

Figura 1. Gráfico de Pareto para (a) todas as variáveis e (b) apenas para as variáveis utilizadas no modelo.....	102
Figura 2. Relação entre dados experimentais e dados preditos pelo modelo de regressão.	103
Figura 3. Superfície resposta da absorção de As pela <i>L. valdiviana</i> em relação ao pH, P-PO ₄ e N-NO ₃ , sendo os valores fixos de 6,5, 0,069 e 6,9 para pH, P-PO ₄ e N-NO ₃ respectivamente.	107
Figura 4. Gráfico de desejabilidade da otimização da remoção de As pela <i>L. valdiviana</i>	109
Figura 5. Gráfico de Pareto dos fatores intervenientes na absorção de fósforo pela planta.....	111
Figura 6. Relação entre dados experimentais e preditos com relação a absorção de fósforo pela <i>Lemna valdiviana</i>	112
Figura 7. Monitoramento do pH (a) e Potencial de oxirredução (Eh) (b) durante os 7 d de cultivo na solução nutritiva.....	114

Capítulo IV

Figura 1. Remoção de As pelo aguapé com o tempo, quando cultivado em solução nutritiva contendo concentrações de (a) 0,56 mg L ⁻¹ ; (b) 0,87 mg L ⁻¹ e (c) 1,39 mg L ⁻¹ desse elemento químico.	133
Figura 2. Relação entre a concentração inicial estimada utilizando-se a equação de regressão ajustada e a concentração inicial real de As... ..	134
Figura 3. Dinâmica das espécies de As ao longo do período de cultivo de aguapé em solução nutritiva contaminada com concentrações de (a) 0,56 (b) 0,89 e (c) 1,38 mgL ⁻¹ de As, potencial de oxirredução do meio e eficiência de remoção de As pela planta.	136
Figura 4. Plantas expostas a diferentes concentrações de arsênio (a) 0; (b) 0,89 e (c) 1,38 mg L ⁻¹ na solução nutritiva utilizada no cultivo.	138
Figura 5. Fator de bioacumulação (FB) de acordo com a concentração de arsênio na solução nutritiva contaminada com As, utilizada no cultivo das plantas.....	139
Figura 6. Remoção de As pela lemna com o tempo, quando cultivada em solução nutritiva contendo concentrações de (a) 0,13 mg L ⁻¹ ; (b) 0,48 mg L ⁻¹ ; (c) 0,99 mg L ⁻¹ e 1,4 mg L ⁻¹ desse elemento químico.	142
Figura 7. Relação entre coeficiente de remoção de As (k) e concentração de arsênio na solução nutritiva contaminada utilizada no cultivo da <i>L. valdiviana</i>	143

- Figura 8. Dinâmica das espécies de As ao longo do período de cultivo da *L. valdiviana* em solução nutritiva contaminada com concentrações de (a) 0,13 (b) 0,48 e (c) 0,99 e (d) 1,4 mg L⁻¹, potencial de oxirredução do meio e eficiência de remoção de As pela para as..... 145
- Figura 9. Concentração de P e massa de As removida ao longo do período de cultivo da *L. valdiviana* em solução nutritiva contendo as concentrações de (a) 0,13 (b) 0,48 e (c) 0,99 e (d) 1,4 mg L⁻¹ de As.. 147

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Exemplos de plantas hiperacumuladoras de metal e seu potencial de bioacumulação	17
Tabela 2. Principais compostos de arsênio e suas características	28
Tabela 3. Valores de α para planejamento PCC ortogonal ou rotativo (fatorial completo) com um único ponto central.....	40

Capítulo II

Tabela 1. Valores utilizados no DCC	64
Tabela 2. Condições experimentais para especificação de arsênio	66
Tabela 3. Análise de Variância (ANOVA) do modelo de regressão para remoção de arsênio pelo aguapé	72
Tabela 4. Resultado dos ensaios de validação do modelo de regressão	73
Tabela 5. Análise de Variância (ANOVA) do modelo de regressão para remoção de fósforo pelo aguapé	78
Tabela 6. Índices de desempenho do aguapé	79
Tabela 7. Proporção de As(III) e As(V), de acordo com os ensaios realizados	81

Capítulo III

Tabela 1. Valores utilizados no DCC	96
Tabela 2. Condições experimentais para especificação de arsênio	98
Tabela 3. Análise de variância do modelo de regressão da absorção de As pela <i>Lemna valdiviana</i>	104
Tabela 4. Resultado dos ensaios de validação do modelo de regressão ..	105
Tabela 5. Índices de desempenho da planta	110
Tabela 6. Proporção entre as espécies de arsênio ao final dos ensaios ...	113

Capítulo IV

Tabela 1. Níveis utilizados para o ensaio de cinética de remoção de As pelas espécies vegetais.....	126
Tabela 2. Condições experimentais para especiação química do arsênio	128
Tabela 3. Parâmetros de ajuste para o modelo linear e o de primeira ordem para cinética de remoção de As pelo aguapé	131
Tabela 4. Índices médios de desempenho da planta de acordo com a concentração de As na solução nutritiva de cultivo.....	137
Tabela 5. Parâmetros de ajuste para o modelo linear e o de primeira ordem para cinética de remoção de As pela <i>L. valdiviana</i>	140
Tabela 6. Índices médios de desempenho da <i>L. valdiviana</i> de acordo com a concentração de As na solução nutritiva utilizada no cultivo da planta	148

RESUMO

SOUZA, Tamara Daiane, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2016. **Otimização do processo de fitorremediação de águas contaminadas com arsênio.** Orientador: Alisson Carraro Borges. Coorientadores: Antonio Teixeira de Matos e Jaime Wilson Vargas de Mello.

A contaminação ambiental por arsênio (As) tem implicado em problemas adversos relacionados a danos ecológicos e à saúde humana. O tratamento de águas contaminadas com As pode ser realizado por uma variedade de técnicas, dentre as quais a fitorremediação destaca-se como alternativa de alta viabilidade, em que se utiliza plantas com potencial de absorver e criar condições de imobilizar o contaminante de interesse. Objetivou-se avaliar a influência das variáveis pH, concentração de fosfato e concentração de nitrato no processo de absorção de As pelas espécies *Eichhornia crassipes* (Aguapé) e *Lemna valdiviana* (lentilha d'água) utilizando a metodologia de superfície resposta com intuito de se otimizar o processo. De posse das condições otimizadas, em uma segunda fase buscou-se estabelecer a cinética de absorção de As pelas espécies vegetais em várias concentrações de As, estudar a dinâmica de As(III) e As(V) no meio, bem como avaliar a influência do As no crescimento das espécies. Os níveis ótimos para absorção de As pela espécie vegetal *Eichhornia crassipes* foram alcançados em pH igual a 7,5; ausência de fosfato e nível mínimo de nitrato de 0,0887 mmol L⁻¹ na solução nutritiva utilizada no cultivo das plantas. Já para *Lemna valdiviana*, os níveis ótimos foram pH 6,5; fósforo igual a 0,0488 mmol L⁻¹ P-PO₄ e nitrogênio, na forma de nitrato, de 7,9 mmol L⁻¹. Os modelos matemáticos propostos para ambas espécies se ajustaram de forma satisfatória aos dados. Observou-se que absorção de fósforo pela planta aumentou linearmente com a concentração de fósforo na solução nutritiva e proporcionou o decréscimo na absorção de arsênio. Nas condições otimizadas, ambas as espécies se mostraram hiperacumuladoras de As para concentrações de até 1,0 mg L⁻¹ do metal, concentração a partir da qual as plantas apresentam redução no crescimento. A cinética de primeira ordem se ajustou adequadamente ao decaimento do As na solução

nutritiva pelas espécies vegetais estudadas, sendo que o coeficiente de remoção decresceu à medida em que se aumentou a concentração de As nessa solução. Assim, as espécies *Eichhornia crassipes* e *Lemna valdiviana*, se respeitadas as condições adequadas, possuem elevado potencial para fitorremediar águas contaminadas com As, em escala plena.

ABSTRACT

SOUZA, Tamara Daiane, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2016. **Phytoremediation optimization process of water contaminated with arsenic.** Adviser: Alisson Carraro Borges. Co-Advisers: Antonio Teixeira de Matos and Jaime Wilson Vargas de Mello.

Environmental contamination by arsenic (As) has been implicated in adverse problems related to ecological damage and human health. The treatment of water contaminated with As can be accomplished by a variety of techniques, among which phytoremediation stands out as high viable alternative, which plants with potential to absorb and create conditions to immobilize the contaminant of interest are used. The objective of this research was to evaluate the influence of pH, phosphate concentration and nitrate concentration in the As uptake by the species *Eichhornia crassipes* (water hyacinth) and *Lemna valdiviana* (duckweed) using the surface response methodology in order to optimize the process. In the second stage, it was possible to establish the kinetics of As absorption by the plant species in various As concentrations, study the dynamics of As(III) and As(V) in the environment as well as to evaluate the influence of As in species growth. The optimal levels for the absorption of As by *Eichhornia crassipes* were reached at pH 7.5; absence of phosphate and minimum nitrate level tested 0.0887 mmol L⁻¹ in the nutrient solution used in the plant cultivation. For *Lemna valdiviana*, the optimal levels were pH 6.5; phosphorus equal to 0.0488 mmol L⁻¹ P-PO₄ and nitrogen in the form of 7.9 mmol L⁻¹ nitrate. The mathematical models proposed for both species fit the data satisfactorily. It was observed that absorption of phosphorus by the plant increased linearly with the concentration of phosphorus in the nutrient solution and led to a decrease in the absorption of As. Under optimized conditions, both species were hyperaccumulating of As at concentrations of up to 1.0 mg L⁻¹ of the metal, concentration at which the plants showed reduced growth. First order kinetics were adjusted to As decay in the aqueous medium by the studied plant species, and the absorption coefficient decreased as the concentration of As was increased. Thus, within the conditions used, the species *Eichhornia*

crassipes and *Lemna valdiviana* have a high potential for phytoremediation of water contaminated with As at full scale.

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1. Introdução geral

O arsênio (As) é conhecido por exercer efeitos mutagênicos, citotóxicos e genotóxicos com elevado potencial de causar câncer de pele, nos rins, pulmão e bexiga (Liu et al., 2011). Este elemento possui quatro estados de oxidação: arsenato (As(V)), arsenito (As(III)), arsênio (As(0)) e arsina (As(-III)) (Sharma e Sohn, 2009). O As(V) é o estado termodinamicamente estável do arsênio em ambientes aeróbios, enquanto As (III) predomina em condições de baixo potencial redox (Rahman e Hasegawa, 2011). As principais fontes de arsênio no ambiente são: geologia local, atividades antrópicas, como mineração, queima de combustíveis fósseis e uso de agroquímicos (pesticidas e fertilizantes).

De acordo com Stroud et al. (2011), estima-se que elevadas concentrações de As em água para fins de consumo humano afetam mais de 150 milhões de pessoas em todo mundo. Adicionalmente, este elemento químico possui elevado potencial de bioacumulação, de modo que sua disposição no ambiente é uma preocupação global (Rahman et al., 2014).

No Brasil, diversos estudos relatam a exposição humana ao As em águas superficiais, sendo que Minas Gerais é a unidade da federação mais estudada (Litter et al., 2012). Matschullat et al. (2000) estudaram a região conhecida como “quadrilátero ferrífero mineiro” e relataram concentrações médias de As em águas superficiais de $30,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Os mesmos autores observaram variações de 200 a $860 \mu\text{g kg}^{-1}$ no solos e de 22 a $3200 \mu\text{g kg}^{-1}$ em sedimentos.

Na Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005 (Brasil, 2005) estão estabelecidos limites entre $0,14 \mu\text{g L}^{-1}$ a $33 \mu\text{g L}^{-1}$ de As em água, dependendo do seu tipo de uso. Já na Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011, estabeleceu-se o limite máximo de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ de As em efluentes para emissão em corpos receptores (Brasil, 2011).

Diante do exposto, esforços devem ser direcionados para impedir contaminação do solo e águas, bem como remediar os locais sabidamente poluídos. Os sistemas convencionais para tratamento de água para reduzir a concentração de As são complexos. Alguns métodos são: adsorção-coprecipitação com sais de alumínio e ferro (Song et al., 2006), adsorção com alumina ativada, carvão ativado ou bauxita (Daus et al., 2004), osmose reversa, troca iônica (Kim e Benjamin, 2004) e nanofiltração (Maity et al., 2005). Estes métodos, via de regra, produzem resíduos secundários que podem ser igualmente maléficos, trazem risco aos trabalhadores, possuem alto custo de implementação e difícil manutenção (Olmos-Marquez et al., 2012).

Neste contexto, a fitorremediação surge como alternativa promissora. Na fitorremediação utilizam-se plantas para remover poluentes do meio contaminado, seja ele aquoso ou solo (Vamerali et al., 2010; Olmos-Marquez et al., 2012). Plantas utilizadas para este fim devem idealmente combinar acúmulo de metal na parte aérea e alta produtividade de biomassa. A partir da descoberta dessas plantas, também conhecidas como hiperacumuladoras, há grande interesse em aprofundar o conhecimento da técnica (Vamerali et al., 2010).

Para o meio aquoso, nos últimos anos tem-se constatado que algumas plantas aquáticas possuem alta capacidade de acumular elementos tóxicos por diferentes mecanismos, tais como *Azolla caroliniana*, *Salvinia mínima*, *Lemna sp* e *Eichhornia crassipes*.

A estratégia de fitorremediação de As é regulada pelos seguintes mecanismos: (i) absorção ativa (com o fosfato como transportador), (ii) a absorção passiva (com a ajuda de aquagliceroporinas), e (iii) adsorção físico-química (rizofiltração). As plantas inicialmente acumulam As nas raízes, por via de captação de fosfato, ou seja, mecanismos simplástico e posterior translocação para a parte aérea (brotos e folhas). De acordo com esse mecanismo de captação, a disponibilidade de fosfato do meio influencia, fortemente, a absorção de As pelas plantas. A quantidade de As translocado das raízes para a parte aérea indica a eficiência do processo de fitorremediação proporcionado por essa planta. No entanto, mais de 90% de

As total acumulado na planta é armazenado nas raízes e apenas algumas plantas têm a capacidade de translocar esse As para a parte aérea (Rahman e Hasegawa, 2011).

A otimização das condições do processo de fitorremediação ainda são um desafio para ciência, principalmente no que tange à remoção direta na água, uma vez que na maioria dos experimentos avaliam-se as remoções no solo. Adicionalmente, fatores como pH da água, concentração máxima de As suportado pela planta, obtenção de coeficientes cinéticos são fatores ainda pouco explorados e essenciais nesse campo do saber.

1.2. Objetivos

Objetivou-se com o presente trabalho, avaliar formas de otimização do processo de fitorremediação em águas contaminadas com As. Para tal, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- I. Avaliar os fatores pH, concentração de nitrato, concentração de fosfato, tempo de contato e concentração de As no processo de fitorremediação;
- II. Definir parâmetros operacionais de sistemas de tratamento de águas contaminadas com As, via fitorremediação;
- III. Avaliar o potencial das plantas cultivadas, *Eichhornia crassipes* (aguapé) e *Lemna valdiviana* (lentilha d'água): desempenho agrônômico, estado nutricional e capacidade suporte;
- IV. Ajustar modelos matemáticos para estimativa da concentração de As na água em função do tempo de contato e da concentração inicial;
- V. Avaliar a influência dos estados de oxidação As(III) e As(V), no processo de fitorremediação desse poluente.

Com base no exposto, a tese foi organizada em forma de capítulos, assim distribuídos:

Capítulo I: Fitorremediação de arsênio: revisão bibliográfica;

Capítulo II: Otimização da fitorremediação de arsênio utilizando a espécie vegetal *Eichhornia crassipes*;

Capítulo III: Otimização da fitorremediação de arsênio utilizando a espécie vegetal *Lemna valdiviana*;

Capítulo IV: Cinética de remoção de arsênio pelas espécies vegetais *Eichhornia crassipes* e *Lemna valdiviana*.

1.3. Referências

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Ministério do Meio Ambiente. Brasília. 2005

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA n. 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Ministério do Meio Ambiente. Brasília. 2011

DAUS, B.; WENNRICH, R.; WEISS, H. Sorption materials for arsenic removal from water: A comparative study. *Water Research*, v. 38, n. 12, p. 2948-2954, 2004.

KIM, J.; BENJAMIN, M. M. Modeling a novel ion exchange process for arsenic and nitrate removal. *Water Research*, v. 38, n. 8, p. 2053-2062, 2004.

LITTER, M. I.; ALARCON-HERRERA, M. T.; ARENAS, M. J.; ARMIENTA, M. A.; AVILES, M.; CACERES, R. E.; CIPRIANI, H. N.; CORNEJO, L.; DIAS, L. E.; CIRELLI, A. F.; FARFAN, E. M.; GARRIDO, S.; LORENZO, L.; MORGADA, M. E.; OLMOS-MARQUEZ, M. A.; PEREZ-CARRERA, A. Small-scale and household methods to remove arsenic from water for drinking purposes in Latin America. *Science of the Total Environment*, v. 429, p. 107-122, 2012.

LIU, S.; ZHANG, F.; CHEN, J.; SUN, G. X. Arsenic removal from contaminated soil via biovolatilization by genetically engineered bacteria

under laboratory conditions. *Journal of Environmental Sciences-China*, v. 23, n. 9, p. 1544-1550, 2011.

MAITY, S.; CHAKRAVARTY, S.; BHATTACHARJEE, S.; ROY, B. C. A study on arsenic adsorption on polymetallic sea nodule in aqueous medium. *Water Research*, v. 39, n. 12, p. 2579-2590, 2005.

MATSCHULLAT, J.; BORBA, R. P.; DESCHAMPS, E.; FIGUEIREDO, B. R.; GABRIO, T.; SCHWENK, M. Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle, Brazil. *Applied Geochemistry*, v. 15, n. 2, p. 181-190, 2000.

OLMOS-MARQUEZ, M. A.; ALARCON-HERRERA, M. T.; MARTIN-DOMINGUEZ, I. R. Performance of *Eleocharis macrostachya* and its importance for arsenic retention in constructed wetlands. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 19, n. 3, p. 763-771, 2012.

RAHMAN, M. A.; HASEGAWA, H. Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere*, v. 83, n. 5, p. 633-646, 2011.

RAHMAN, S.; KIM, K. H.; SAHA, S. K.; SWARAZ, A. M.; PAUL, D. K. Review of remediation techniques for arsenic (As) contamination: A novel approach utilizing bio-organisms. *Journal of environmental management*, v. 134C, p. 175-185, 2014.

SHARMA, V. K.; SOHN, M. Aquatic arsenic: Toxicity, speciation, transformations, and remediation. *Environment International*, v. 35, n. 4, p. 743-759, 2009.

SONG, S.; LOPEZ-VALDIVIESO, A.; HERNANDEZ-CAMPOS, D. J.; PENG, C.; MONROY-FERNANDEZ, M. G.; RAZO-SOTO, I. Arsenic removal from high-arsenic water by enhanced coagulation with ferric ions and coarse calcite. *Water Research*, v. 40, n. 2, p. 364-372, 2006.

STROUD, J. L.; NORTON, G. J.; ISLAM, M. R.; DASGUPTA, T.; WHITE, R. P.; PRICE, A. H.; MEHARG, A. A.; MCGRATH, S. P.; ZHAO, F. J. The dynamics of arsenic in four paddy fields in the Bengal delta. *Environmental Pollution*, v. 159, n. 4, p. 947-953, 2011.

VAMERALI, T.; BANDIERA, M.; MOSCA, G. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemistry Letters*, v. 8, n. 1, p. 1-17, 2010.

CAPÍTULO 1: FITORREMEDIAÇÃO DE ARSÊNIO: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. FITORREMEDIAÇÃO

Fitorremediação refere-se ao uso de plantas, podendo estar associadas a outros organismos presentes no meio, para reduzir as concentrações ou toxicidade de contaminantes nos ambientes. A técnica é frequentemente utilizada na remediação de metais pesados, radionuclídeos bem como poluentes orgânicos recalcitrantes (Ali et al., 2013).

Por ser impulsionada pela energia solar, a fitorremediação alia diversos benefícios, tais como relação custo benefício favorável, aplicação *in situ* e *ex situ* e facilidade operacional (Vamerali et al., 2010; Olmos-Marquez et al., 2012)

Dependendo dos contaminantes, das condições do local, do nível de remediação necessário e dos tipos de plantas cultivadas, a técnica de fitorremediação pode ser utilizada para fins de contenção ou remoção do poluente. No caso de fitorremediação de metais pesados, existem basicamente quatro estratégias utilizadas para tal fim, cada uma com seu mecanismo específico, quais sejam: (a) fitoestabilização, técnica por meio da qual as plantas estabilizam, em vez de remover os contaminantes, por meio da imobilização e consequente limitação da difusão; (b) fitofiltração, que emprega plantas para absorver, concentrar e/ou precipitar os contaminantes de um meio; (c) fitovolatilização, em que alguns elementos passíveis de volatilização pelas plantas, são absorvidos pelas raízes, convertidos em formas não tóxicas e depois liberados na atmosfera; (d) fitoextração, que envolve a absorção dos contaminantes pelas raízes, os quais são nelas armazenados ou são transportados e acumulados nas partes aéreas.

A seguir, serão discutidas cada uma das estratégias.

1.1. Fitoestabilização

Na fitoestabilização ou fitoimobilização utilizam-se determinadas espécies de plantas para imobilizar contaminantes, via de regra presentes no solo, por meio de absorção e acumulação pelas raízes, adsorção ou precipitação e complexação na zona radicular; redução da valência do metal e estabilização física em solos (Wuana e Okieimen, 2011; Ali et al., 2013). Na Figura 1 estão esquematizados os mecanismos da fitoestabilização.

Esta estratégia de fitorremediação reduz a mobilidade dos contaminantes e evita o transporte para as águas subterrâneas ou atmosfera. A técnica pode contribuir para restabelecer cobertura vegetal em locais onde a vegetação natural é escassa devido a altas concentrações de metais (Tordoff et al., 2000).

É importante ressaltar que a fitoestabilização não se destina à remoção de metais contaminantes de um local, mas sim estabilizá-los por meio do acúmulo ou precipitação no sistema radicular, reduzindo o risco para a saúde humana e o ambiente. É aplicado em situações em que há potenciais impactos na saúde humana e a exposição ao contaminante pode ser reduzida a níveis aceitáveis.

A perturbação das atividades do sítio contaminado pode ser menor quando comparado com tecnologias de descontaminação mais intrusivas (Padmavathiamma e Li, 2007).

A fitoestabilização é mais eficaz em solos de textura fina e com elevado teor de matéria orgânica. No entanto, alguns locais altamente contaminados em que o crescimento e sobrevivência das plantas, mesmo que tolerantes, é difícil, não são adequados para fitoestabilização (Berti e Cunningham, 2000).

Características das plantas adequadas para fitoestabilização incluem: tolerância à altos níveis do contaminante de interesse; elevada produtividade de biomassa radicular capaz de imobilizar estes contaminantes por meio de absorção, precipitação ou redução; e retenção de contaminantes na zona radicular ao invés de translocar para a parte aérea, para evitar manejo especial e eliminação da parte aérea (Padmavathiamma e Li, 2007).

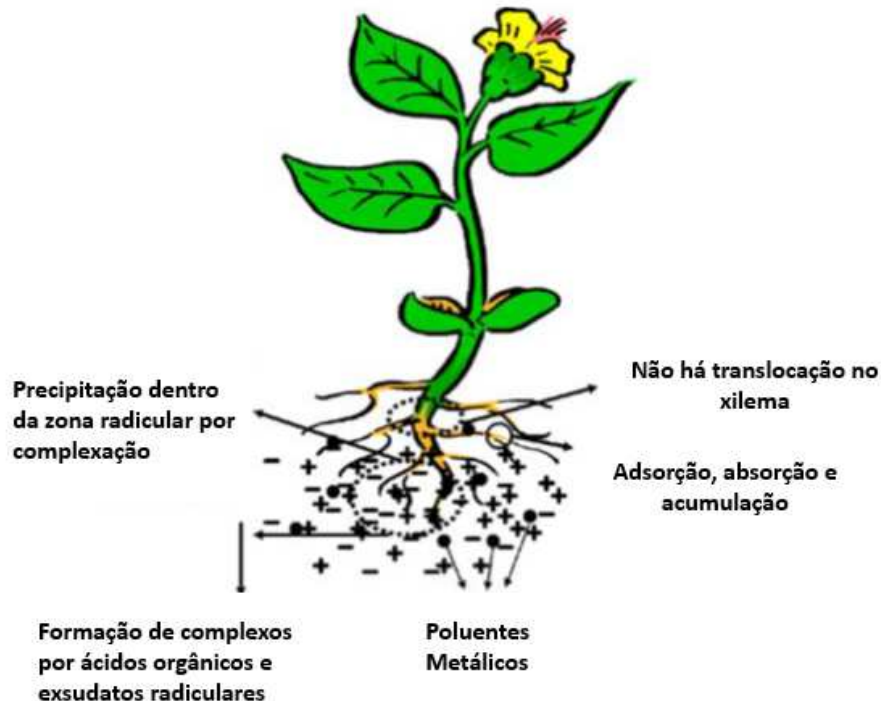


Figura 1. Representação esquemática da fitoestabilização.

. Fonte: Adaptado de Padmavathiamma e Li (2007).

1.2. Fitofiltração

Fitofiltração é a utilização de raízes das plantas (rizofiltração) ou mudas/plântulas (blastofiltração) para absorver ou adsorver poluentes, principalmente metais, de água e efluentes aquosos (Ali et al., 2013). As raízes das plantas ou mudas cultivadas em água, absorvem, precipitam e concentram metais tóxicos. Os mecanismos envolvidos incluem quimiossorção, complexação, troca iônica, microprecipitação e adsorção na superfície (Gardea-Torresdey et al., 2004).

Geralmente, a rizofiltração usa plantas terrestres em vez de plantas aquáticas, devido as características do sistema radicular, sendo que plantas terrestres, via de regra, possuem raízes fibrosas, cobertas de pêlos e com grandes áreas de superfície. Efluentes industriais contendo poluentes metálicos podem ser tratados via rizofiltração. O processo envolve o cultivo de plantas em sistema hidropônico e transplante destas para águas poluídas, onde as plantas absorvem e concentram os metais em suas raízes.

Exsudatos radiculares e alterações do pH da rizosfera também podem implicar na precipitação de metais nas superfícies radiculares. Com o passar do tempo, há saturação dos metais nas raízes. Deste modo, faz-se necessário remoção e disposição bem como substituição das plantas. Nota-se que este mecanismo está intimamente relacionado com a fitoestabilização, sendo, na prática, difícil sua diferenciação.

Adicionalmente, o processo de rizofiltração não inclui a translocação do contaminante para a parte aérea da planta. Todavia, na prática, muitas vezes estes mecanismos estão associados e uma mesma planta pode combinar todas as estratégias de fitorremediação.

Plantas utilizadas para fitofiltração, em especial para rizofiltração, devem ser capazes de acumular e tolerar quantidades significativas do contaminante alvo, bem como apresentar fácil manejo, baixo custo de manutenção e um resíduo secundário mínimo demandando disposição. É também desejável que as plantas produzam quantidades expressivas de biomassa radicular e superfície de contato (Dushenkov e Kapulnik, 2000).

Em adição às plantas, rizobactérias, também denominadas rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP), desempenham papel importante na fitofiltração. Elas são capazes de colonizar as raízes e promover o crescimento da planta (Khan et al., 2009; Titah et al., 2013). Algumas pesquisas têm sido realizadas para avaliar as interações de rizobactérias e plantas para remediar metais pesados (Glick, 2010; Ma et al., 2011; El Aafi et al., 2012; Rajkumar et al., 2012). Yang et al. (2012) relataram

que a adição de bactérias redutoras de arsênio (As) podem promover o crescimento da *Pteris vittata* e aumentar a acumulação e absorção desse poluente pelas raízes.

1.3. Fitovolatilização

Alguns contaminantes metálicos, tais como o arsênio (As), mercúrio (Hg) e selênio (Se), podem existir no estado gasoso no meio ambiente. A fitovolatilização é o processo de absorção destes poluentes na forma elementar pela planta, sua conversão biológica para forma volátil e posterior liberação na atmosfera. Pesquisadores têm procurado a ocorrência natural ou plantas geneticamente modificadas capazes de realizar tal processo (Padmavathiamma e Li, 2007). O mecanismo da fitovolatilização é mostrado esquematicamente na Figura 2.

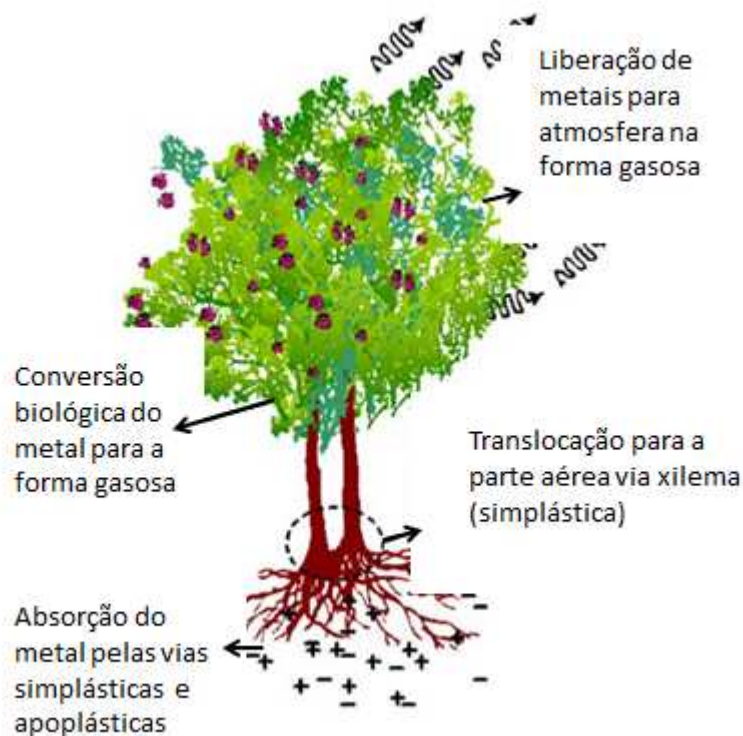


Figura 2. Representação esquemática da fitovolatilização.

Fonte: Adaptado de Padmavathiamma e Li (2007).

O uso desta estratégia é limitado pelo fato de que ela não transfere o poluente para um meio restrito; apenas transfere de um meio difuso, geralmente solo, para outro meio difuso, a atmosfera. Deste modo, a fitovolatilização é a estratégia mais controversa diante das demais tecnologias de fitorremediação, uma vez que há dúvidas se a volatilização destes elementos para a atmosfera é segura (Padmavathiamma e Li, 2007).

Vale ressaltar que as formas voláteis de alguns compostos, como o dimetildiseleneto, é 600 a 500 vezes menos tóxico que formas inorgânicas de Se encontrados no solo (Zayed et al., 2000). Deste modo, a fitovolatilização, principalmente de Se e Hg, podem ser consideradas no âmbito da fitorremediação, uma vez que as formas inorgânicas destes elementos são removidas e as espécies gasosas não são susceptíveis de deposição nas proximidades do local remediado. Com relação ao As, a

volatilização se dá na forma de dimetilarsenito e tem sido verificada como um mecanismo de resistência em algas marinhas. No entanto, existem poucos estudos relacionados à capacidade de volatilização de As por plantas terrestres em quantidades significativas (Padmavathiamma e Li, 2007).

As vantagens da estratégia de fitovolatilização são: pouco manejo após implantação; perturbação mínima no local e teoricamente, não há necessidade de disposição especial da planta, sendo que esta, supostamente, não acumula o contaminante. Todavia, tal afirmação deve ser cuidadosamente investigada, uma vez que as estratégias de fitorremediação, via de regra, apresentam-se correlacionadas. Ou seja, uma planta que possui o potencial de volatilizar determinado elemento, pode também possuir ou adquirir, por meio da plasticidade fenotípica, potencial de rizofiltração e fitoextração e conseqüentemente bioacumular o poluente.

Alguns autores apontam que a fitovolatilização pouco interfere nos níveis do contaminante na atmosfera, seja pelo fator de diluição ou por processos de degradação naturais, tais como a fotodegradação (Souza et al., 2000; Zayed et al., 2000). No entanto, Padmavathiamma e Li (2007) apontam que esta técnica deve ser evitada em locais próximos de centros populacionais e com condições meteorológicas que propiciem rápida deposição de compostos voláteis. Assim, devido a tais limitações, a estratégia de fitovolatilização deve ser cuidadosamente estudada antes de sua implementação.

1.4. Fitoextração

Fitoextração, também conhecida como fitoacumulação, refere-se a absorção pelas raízes e translocação de contaminantes do meio para a parte aérea das plantas. Esta técnica utiliza plantas denominadas hiperacumuladoras, que tem a capacidade de armazenar altas concentrações de contaminantes específicos. Estas podem acumular e

tolerar altas concentrações de poluentes quando comparadas com concentrações normalmente encontradas em plantas não-acumuladoras, sem sintomas visíveis. No caso de metais, os teores acumulados podem ser de 0,1% a 1% em relação à matéria seca das plantas, dependendo do tipo de metal (Sarma, 2011). Na Figura 3 está esquematizado o processo de fitoextração.

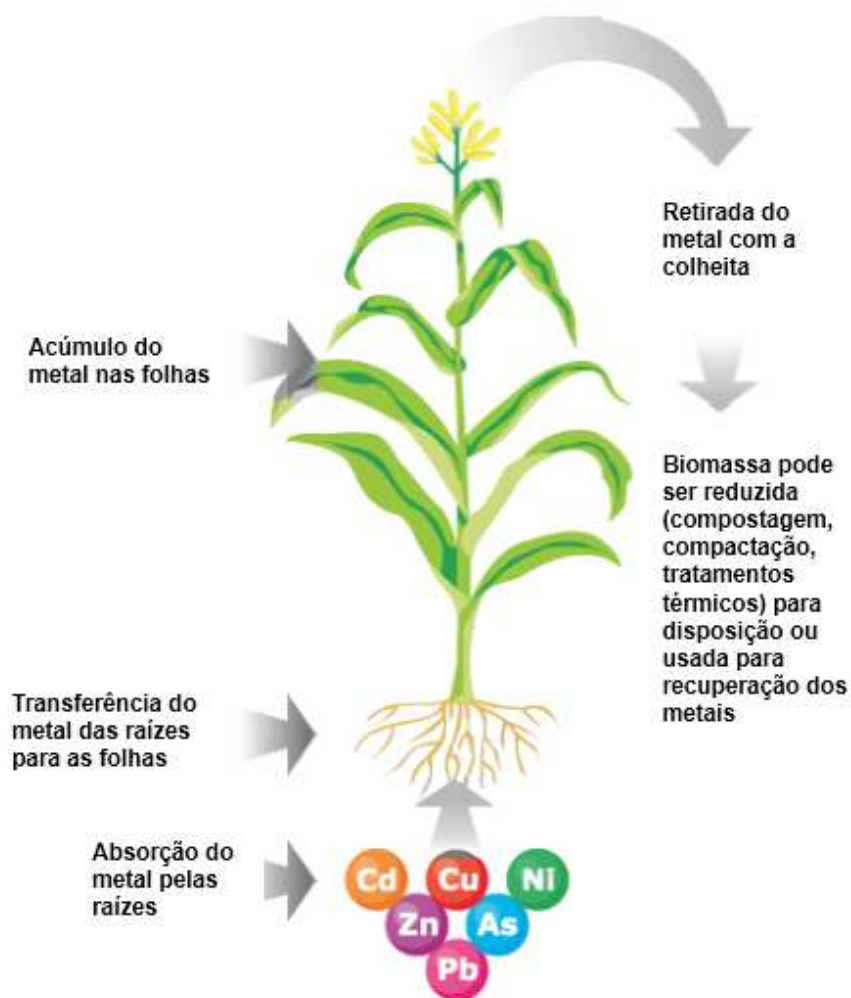


Figura 3. Representação esquemática da fitoextração.

Fonte: Adaptado de Nascimento e Xing (2006).

O tempo necessário para remediação de um local contaminado via fitoextração depende de vários fatores, tais como: tipo e extensão da

contaminação, duração da fase de crescimento da planta hiperacumuladora, potencial de absorção e translocação da mesma, fatores de estresse que a planta pode ser submetida, características do solo (pH, teor de matéria orgânica, CTC etc.) dentre outros (Fumagalli et al., 2014). De acordo com Blaylock e Huang (2000), no solo, o tempo para remediar uma área pode variar de 1 a 20 anos. Deste modo, fica explícito que uma possível limitação da técnica é o tempo demandado para remediação de uma área.

A estratégia de fitoextração é adequada para remediar grandes áreas contaminadas, em profundidades rasas, com níveis moderados de disponibilidade de contaminantes.

Sarma (2011) cita que mais de 500 espécies de plantas, que englobam 101 famílias, foram classificadas como hiperacumuladoras, incluindo membros das famílias Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae, Violaceae e Euphobiaceae. Consequentemente, este tema tem sido alvo de estudos em diversas partes do mundo nas últimas décadas. Na Tabela 1 estão compilados potenciais de bioacumulação de metais de várias espécies relacionados a alguns estudos realizados.

Tabela 1. Exemplos de plantas hiperacumuladoras de metal e seu potencial de bioacumulação

Planta	Metal	Bioacumulação Base seca	Referência
<i>Zea mays</i>	Cr	2538 mg kg ⁻¹	Sharma et al. (2003)
<i>Pteris vittata</i>	As	23000 mg kg ⁻¹	Dong et al. (2005)
<i>Sesbania drummondii</i>	Cd	1687 mg kg ⁻¹	Israr et al. (2006)
<i>Thlaspi caerulescens</i>	Zn	19410 mg kg ⁻¹	Banasova et al. (2008)
<i>Sorghum sudanense</i>	Cu	5330 mg kg ⁻¹	Wei et al. (2008)
<i>Phragmites australis</i>	Cr	4825mg kg ⁻¹	Calheiros et al. (2008)
<i>Arabis paniculata</i>	Cd	1127 mg kg ⁻¹	Zeng et al. (2009)
<i>Atriplex halimus</i>	Cd	606,51 mg kg ⁻¹	Nedjimi e Daoud (2009)
<i>Sedum alfredii</i>	Zn	13,799mg kg ⁻¹	Jin et al. (2009)
<i>Phytolacca americana</i>	Mn	32000 mg kg ⁻¹	Pollard et al. (2009)
<i>Brassica juncea</i>	Ni	3916 mg kg ⁻¹	Saraswat e Rai (2009)
<i>Potentilla griffithii</i>	Zn	19600 mg kg ⁻¹	Hu et al. (2009)
<i>Rorippa globosa</i> (Turcz.)	Cd	218,9 mg kg ⁻¹	Sun et al. (2010)
<i>Thlaspi praecox</i> Wulfen	Cd	>1000 mg kg ⁻¹	Vogel-Mikus et al. (2010)
<i>Eichhornia crassipes</i>	Mn	2100 mg kg ⁻¹	Soltan e Rashed (2003)
<i>Lemna minor</i>	As	17408 mg kg ⁻¹	Duman et al. (2010)

A efetividade da fitoextração requer dois fatores essenciais: (i) seleção adequada da planta, o que inclui características fisiológicas/estruturais e capacidade adaptativa relacionada com a plasticidade, e (ii) desenvolvimento de práticas de manejo ideais. Com relação a planta, os seguintes atributos devem ser plenamente conhecidos (USEPA, 2000):

- O nível de acumulação, translocação e potencial absorção de metais;
- Taxa de crescimento e rendimento da biomassa;
- Tolerância a ampla faixa de condições edafoclimáticas;

- Disponibilidade e preferência de *habitat*, por exemplo, terrestre, aquático etc.;
- Característica raiz e profundidade da zona de radicular;
- Resistência/sensibilidade ao ataque de pragas e doenças.

Adicionalmente, as plantas não devem ser atrativas a animais, a fim de evitar a bioacumulação dos metais na cadeia trófica. Já com relação às práticas de manejo, deve-se estabelecer um esquema de colheita adequado bem como condições de solo e controle de espécies invasoras (Padmavathiamma e Li, 2007).

Como qualquer processo, a fitoextração também apresenta suas limitações. A técnica geralmente é aplicável em locais que contêm níveis de disponibilidade de metais de baixo a moderado, uma vez que o crescimento das plantas é prejudicado em meios fortemente poluídos. A topografia deverá ser favorável ao cultivo agrícola. As plantas selecionadas devem ser de fácil cultivo, rápido crescimento e tolerar demais condições adversas que por ventura ocorram no local a ser remediado.

É importante ressaltar que, na literatura, os termos fitorremediação e fitoextração muitas vezes são utilizados como sinônimos. Como já abordado, a fitorremediação refere-se ao uso de plantas no processo de remediação enquanto que a fitoextração é uma estratégia específica da fitorremediação. Todavia, na prática, todas as estratégias encontram-se interligadas e presentes na maioria das plantas fitorremediadoras, sendo praticamente impossível se estabelecer um único mecanismo (Sarma, 2011; Vithanage et al., 2011; Rajkumar et al., 2012). Tal fato torna o processo complexo e, portanto, um amplo campo de estudo.

1.5. Vantagens do processo de fitorremediação

A técnica de fitorremediação proporciona um ambiente esteticamente agradável e tem boa aceitação do público, uma vez que é popularmente

relacionada como uma alternativa “limpa”, quando comparada com outros métodos, principalmente os químicos. Além disso, a técnica tem baixos custos de instalação e de manutenção em comparação com outras opções de remediação, uma de suas principais vantagens (Pilon-Smits e Freeman, 2006; Van Aken, 2009).

A fitorremediação também é eficaz no tratamento de grandes áreas, onde outros métodos de correção não são economicamente viáveis ou tecnicamente praticáveis, sendo, portanto, uma importante ferramenta no contexto da engenharia sustentável.

Pode-se observar, também, que a utilização de plantas em processos sinérgicos de fitorremediação proporciona resultados não só na limpeza do meio ambiente, mas também na restauração de ecossistemas (Pilon-Smits e Freeman, 2006; Gomes et al., 2016).

A técnica, no geral, provoca menos perturbações aos ecossistemas quando comparada com a biorremediação, na qual os microrganismos são adicionados ao solo ou à água para degradar contaminantes orgânicos específicos ou para deixar os metais pesados inertes e menos biodisponíveis, ou às intervenções físicas e químicas (Doran, 2009).

O estabelecimento de vegetação em solos poluídos também evita a erosão e lixiviação do metal e possibilita maior retenção de água na superfície do solo (Cameselle et al., 2013). Adicionalmente, a fitorremediação possibilita condições favoráveis para a colonização microbiana da rizosfera, que auxilia na degradação simbiótica e na retirada de poluentes do solo (Doran, 2009).

Do ponto de vista econômico, vantagens de fitorremediação incluem contenção do risco, por meio da fitoestabilização, importante no caso de acidentes e derramamentos de metais tóxicos. De acordo com Gomes et al. (2016), outra vantagem é a possibilidade de sua utilização na fitoextração de metais com valor de mercado, tais como Ni, Tl e Au, que podem ser removidos e reciclados após efetuada a fitoextração. Além disso, dependendo da qualidade da biomassa das plantas utilizadas na

fitorremediação, também podem ser usadas para a produção de energia (biogás ou combustão direta), etanol, incorporação a materiais cerâmicos, tijolos e em papel e celulose (Mishima et al., 2008; Bell et al., 2014; Gomes et al., 2016).

Teixeira et al. (2011) utilizaram a espécie *Eichhornia crassipes*, oriunda de uma planta de tratamento, como mistura à argila utilizada na fabricação de tijolos para construção civil e Mishima et al. (2008) demonstraram viabilidade na produção e etanol a partir da mesma espécie.

As macrófitas, além de assimilar metais em seus tecidos, também agem como catalisadores em reações de purificação da água, aumentando a diversidade ambiental na rizosfera e promovendo, assim, várias reações químicas e bioquímicas que melhoram sua qualidade (Gomes et al., 2016).

1.6. Demais limitações e desafios da fitorremediação

A aplicação da fitorremediação no controle da poluição apresenta, no entanto, limitações e desafios que requerem pesquisas, tanto relacionadas às plantas quanto às condições ambientais e aos diferentes tipos de contaminantes (Danh et al., 2009).

Neste contexto, pode-se destacar os seguintes: em geral, o processo de fitorremediação é mais lento que a maioria dos outros tratamentos, sendo que depende do crescimento e desenvolvimento da planta, e há pouca possibilidade de intervenção neste aspecto; alguns autores apontam que a fitorremediação não impede a lixiviação de contaminantes no perfil do solo, sendo passível a contaminação do lençol freático, mesmo ocorrendo a fitoestabilização; as condições ambientais possuem forte influência na eficiência da fitorremediação, a sobrevivência e o crescimento das plantas são afetados por condições edafoclimáticas extremas, condições de fertilidade do solo em áreas contaminadas etc. (Danh et al., 2009); poluentes presentes no solo e em águas requerem espécies hiperacumuladoras

específicas e, portanto, ampla gama de pesquisas antes de seu cultivo em condições de campo.

Como exemplo, pode-se citar o caso hipotético de um ambiente contaminado com arsênio e mercúrio, no qual, provavelmente, será necessária a implementação de duas espécies hiperacumuladoras diferentes, e pode ser que o mercúrio seja tóxico a espécie fitorremediadora de arsênio e vice versa (Mijovilovich et al., 2009); adicionalmente, o contaminante, principalmente no caso de metais, deve estar na forma biodisponível para as plantas. Se o metal estiver fortemente adsorvido na matriz do solo ou às partículas suspensas em meio aquoso, dificilmente a fitorremediação será eficiente (Sarma, 2011); e, por fim, há risco de sua biomagnificação na cadeia alimentar (Ali et al., 2013).

Apesar das limitações, a fitorremediação apresenta-se como técnica altamente promissora e pesquisas realizadas em todo mundo têm buscado maior conhecimento e superação dos desafios da técnica.

2. Espécies vegetais: *Eichhornia crassipes* (Aguapé) e *Lemna valdiviana* (Lentilha d'água)

2.1. *Eichhornia crassipes* (Aguapé)

Eichhornia crassipes, popularmente conhecida como aguapé ou jacinto d'água, se caracteriza por ser uma macrófita aquática flutuante livre, nativa da América do Sul, pertencente à família *Pontederidaceae* (Figura 4). Se reproduz de duas formas: sexuadamente por sementes, viáveis por pelo menos 15 anos no sedimento dos corpos d'água, e também de forma assexuada, por estolões (Hasan e Chakrabarti, 2009). Encontra-se

distribuída em abundância nas regiões tropicais e subtropicais. A espécie é caracterizada como uma das plantas daninhas mais agressivas do mundo, estando presente em reservatórios e lagos. Essas plantas possuem elevado potencial de reprodução, podendo aumentar sua área de cobertura em 15% ao dia, dobrando a cada seis ou sete dias (Martins et al., 2009; Jafari, 2010).

A espécie tem provado possuir elevado potencial econômico e ecológico para muitas regiões subtropicais e tropicais do mundo. O aguapé é listado como uma das plantas mais produtivas na terra, sendo sua logística de crescimento verificada em águas doces de mais de 50 países, nos cinco continentes. É especialmente difundida na América do Sul e Central, sudeste asiático, sudeste dos Estados Unidos, África central e ocidental (Jafari, 2010).

É amplamente relatado na literatura que o aguapé é originária do Brasil, região amazônica, e foi descrita pela primeira vez em 1824, em coleta de plantas no rio São Francisco (Jafari, 2010).

A planta fresca contém, em média, 95,5% de conteúdo de água, 0,04% de N, 0,06% de P_2O_5 , 0,20% de K_2O e 3,5% de matéria orgânica. O aguapé cresce em uma ampla variedade de tipos de áreas alagadas, tais como lagos, córregos, lagoas, canais, valas, e áreas de remanso. Tolerar valores de pH de 4 a 10 no meio onde está sendo cultivada (Center et al., 2002), o que indica que a *Eichhornia crassipes* pode ser utilizada no tratamento de diferentes tipos de efluentes. A temperatura ideal da água para o crescimento dessas plantas é entre 28 - 30 °C, enquanto que a baixa umidade do ar, de 15% a 40%, pode também ser fator limitante para o crescimento da espécie (Jafari, 2010).



Figura 4. Aguapé (*Eichhornia crassipes*).

Nos últimos anos, com o crescente interesse em pesquisas com a macrófita tem-se constatado ser um boa espécie para remoção de poluentes ou mesmo como bioindicadora de metais pesados nos ecossistemas aquáticos.

O aguapé pode ser um problema econômico, uma vez que afeta negativamente a pesca, retarda ou impede a navegação, dificulta a irrigação bem como a captação de água para abastecimento e implica em problemas para hidroelétricas. Todavia, com manejo apropriado e se utilizada para fins específicos, os benefícios da *Eichhornia crassipes* podem superar os aspectos negativos.

No contexto da fitorremediação, o aguapé passou a ser utilizado recentemente, mas tem demonstrado resultados promissores. O interesse partiu, principalmente, da abundância da espécie. Adicionalmente, tem-se gasto na ordem de bilhões de dólares anualmente na tentativa de exterminar a planta de diversos corpos hídricos, sem sucesso (Jafari, 2010). Assim, devido à alta propagação, direcionou-se, em um primeiro momento, a utilização da planta para remoção de macronutrientes da água, especialmente o nitrogênio. A planta tem sido muito utilizada em estações de tratamento de esgoto de pequeno porte.

Diversos estudos sobre a descontaminação de águas revelaram que o aguapé pode, de maneira eficiente, acumular metais pesados (Duman et al., 2010; Hadad et al., 2011; Saleh, 2012; Gomes et al., 2016)

contaminantes orgânicos (Lin e Li, 2016) e nutrientes (Qin et al., 2016). No rio Sacramento-San Joaquin, Califórnia, em estudo realizado por Greenfield et al. (2007), foi constatado que o tecido foliar do aguapé possuía a mesma concentração de mercúrio que o sedimento de fundo, sugerindo que a retirada da planta remediaria a contaminação por mercúrio no lago, se descartada de forma apropriada. Assim, a macrófita se mostra como espécie de grande interesse no tratamento de águas superficiais, bem como no tratamento secundário e terciário de efluentes.

Além da harmonia paisagística, a planta tem diversas possibilidades de utilização, tais como fonte de alimentos para animais, fertilizante para uso na agropecuária, fonte de biomassa para aproveitamento energético, matéria-prima para a construção, fabricação de artesanato, papel e placas (Hasan e Chakrabarti, 2009). Além disso, a planta tem sido utilizada como biossorvente de vários poluentes. No entanto, todos os usos potenciais do aguapé não possibilitam seu total controle nos ambientes aquáticos.

Em conclusão, a compreensão de tantas possibilidades da espécie é, ainda, relativamente incipiente, e dificulta seu gerenciamento nos sistemas aquáticos. Diante do exposto, fica explícito que pesquisas utilizando a espécie são de extrema relevância para uma gestão sustentável do controle e aproveitamento da mesma, já que é uma realidade sua presença “invasora” em todo o mundo.

2.2. Lemna (Lentilha d’água)

As Lemnas são plantas da subfamília Lemnoideae, pertencentes à família Araceae, sendo consideradas as menores plantas vasculares do mundo. Conhecidas como “duckweeds” (erva-de-pato), “lentilhas d’água” ou somente “Lemna”. A subfamília *Lemnoideae* é representada por 38 espécies e cinco gêneros (*Spirodela*, *Lemna*, *Wolffiella*, *Wolffia* e *Landoltia*), dos quais metade ocorre nas regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre (Souza

e Lorenzi, 2005). A espécie *Lemna valdiviana* é uma das 13 espécies do grupo Lemna e uma das mais difundidas no Brasil.

Possuem hábito aquático, são cosmopolitas e, geralmente, encontradas livres na superfície de águas doces paradas ricas em nutrientes e ambientes protegidos de ventos fortes e turbulência. As Lemnas estão adaptadas em ampla variedade de regiões climas e são distribuídas por todo o mundo, exceto em regiões em que a temperatura permanece abaixo de zero durante o inverno ou em regiões desérticas (Hasan e Chakrabarti, 2009).

A temperatura ideal para o crescimento máximo das Lemnas, encontra-se entre 17,5 e 30 °C, sendo que toleram temperaturas entre 5 e 30 °C. São consideradas como tolerantes a uma ampla faixa de pH, sendo que Khataee et al. (2012) afirmam que estas espécies sobrevivem bem em pH entre 4 e 9.

As *Lemnaceas* dão origem a espécies que apresentam crescimento rápido, sendo que, em condições ótimas de luz, temperatura e nutrientes, o crescimento segue taxas exponenciais, podendo dobrar sua massa a cada 48 horas. Normalmente uma planta gera 20 outros indivíduos e sob condições experimentais chega a produzir quatro toneladas de massa fresca por hectare por dia (Hasan e Chakrabarti, 2009). O crescimento das lemnas pode ser, no entanto, reduzido devido a fatores como alta densidade de plantas, falta de nutrientes, valores extremos de pH e competição com outras plantas por luz e nutrientes (França et al., 2009).

As Lemnas têm morfologia relativamente simples, uma vez que não possuem caules ou folhas verdadeiras. Possuem uma ou poucas frondes na forma ovalada, que raramente excedem os 5 mm de comprimento (Figura 5).



Figura 5. *Lemna valdiviana*

As Lemnas são macrófitas aquáticas consideradas, por muitos, como espécies invasoras, caracterizadas como verdadeiras pragas nos espelhos de água por sua rápida propagação, sendo também conhecidas por sua alta produção de biomassa. Por outro lado, tal como já abordado com o aguapé, essas características tornam as macrófitas aquáticas potencialmente atrativas, do ponto de vista ambiental e econômico, pois pode ser aproveitado no tratamento de águas e efluentes. Lemnas produzidas sob cultivo hidropônico convertem quantidades expressivas de compostos inorgânicos em biomassa vegetal, sendo que a acumulação na planta é diretamente proporcional à taxa de crescimento. Quando plantas são colhidas, nutrientes e minerais são removidos do sistema e uma dinâmica é constituída, dando origem à base de uma tecnologia no contexto de purificação de ambientes aquáticos, em consonância com a produção de biomassa de alto valor nutricional.

A biomassa produzida, dependo da utilização, ainda pode ser aproveitada na produção de papel, alimentação animal, produção de biogás e na fertilização de solos. Na piscicultura, as macrófitas aquáticas podem ser aproveitadas como fertilizantes da água, proporcionando o aumento de organismos que participam da cadeia alimentar dos peixes ou como fonte alternativa de proteína para sua alimentação (Graeff et al., 2007).

Li et al. (2011) referiram às Lemnas como melhores espécies vegetais na remoção de pesticidas e metais pesados. Khataee et al. (2012) relataram

que as vantagens adicionais no uso de *Lemna* sp. são seu baixo custo, capacidade de absorção, minimização no uso de produtos químicos, redução no volume de lodo gerado e facilidade de transporte.

Estudos de fitorremediação de arsênio utilizando *Lemna* sp. já foram relatados por alguns autores (Charlier et al., 2005; Duman et al., 2010; Sasmaz et al., 2015). Todavia, ainda são incipientes os estudos com a espécie *Lemna valdiviana*, encontrada em maior proporção no Brasil.

3. Arsênio no meio ambiente

3.1. Fontes de arsênio

De acordo com Zhang et al. (2002), o arsênio é o 20º elemento mais abundante na crosta terrestre. Classificado como um elemento químico semi-metálico, possui número atômico 33, massa específica 5,7 g cm⁻³ e que sublima a 613 °C. Possui três formas alotrópicas: amarela, preta e cinza.

A liberação de compostos de arsênio no meio ambiente está associada com uma variedade de fenômenos e processos, tais como atividade vulcânica, material geológico, queima de combustíveis e atividades industriais, como produção de vidros, plásticos, produtos químicos e farmacêuticos, materiais semicondutores e eletrônicos, mineração e, também, com o uso de pesticidas e herbicidas à base de arsênio (Jain e Ali, 2000; Yamamura e Amachi, 2014).

Naturalmente, o arsênio ocorre em aproximadamente 200 diferentes formas minerais das quais 60% são arsenatos, 20% sulfetos e sulfossais e os 20% restantes incluem arsenitos, óxidos, silicatos e arsênio elementar (As) (Mandal e Suzuki, 2002). Na Tabela 2 estão apresentadas as principais formas de arsênio encontradas, tanto no meio aquoso quanto no solo, sua fórmula química e suas respectivas constantes de dissociação.

10 $\mu\text{g L}^{-1}$. Já para águas subterrâneas é reportado valores entre 0,5 a 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Singh et al., 2015). Ravenscroft et al. (2009) relataram que mais de 70 países apresentam concentrações elevadas de arsênio em águas subterrâneas e superficiais. Levando-se em consideração o limite estabelecido pela OMS de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ para água potável, estima-se que mais de 100 milhões de pessoas estão em risco com relação ao consumo de água contaminadas com arsênio.

No Brasil, a Portaria 2914/11 do Ministério da Saúde, que dispõe sobre os padrões de potabilidade, estabelece um nível máximo de arsênio de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Brasil, 2011b). Na Resolução CONAMA 357/05, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água, ficou instituído que corpos d'água de classe 1 e 2 não devam apresentar concentração de As total maior que 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Brasil, 2005). Para lançamento de efluentes líquidos, na Resolução CONAMA 430/11 está estabelecido que não se pode lançar um efluente com concentração de arsênio maior que 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Brasil, 2011a).

A contaminação da água potável é a principal fonte de As para o ser humano, seguida do consumo de alimentos cultivados em solos contaminados ou irrigados com água contaminada por arsênio. Estes representam as principais fontes de ingestão de As por seres humanos, que faz com que seja considerado um sério problema de saúde pública para milhões de pessoas em grandes áreas em todo mundo. Nos últimos anos, a exposição a arsênio ganhou atenção, uma vez que foram constatadas altas concentrações de As inorgânico em alguns alimentos, especialmente arroz e alguns legumes, consequência da alta concentrações disponíveis de As no solo e na água de irrigação (Mondal et al., 2006; Zhao et al., 2010; Fu et al., 2011; Rahman e Hasegawa, 2011; Bhattacharya et al., 2012).

3.3. Riscos para saúde

Numerosos estudos têm sido realizados para avaliar a toxicidade de arsênio e seus efeitos sobre a saúde humana em diversas regiões

contaminadas (Phan et al., 2010; Maity et al., 2012). Como abordado, o arsênio é ingerido por seres humanos por meio de duas vias principais; em primeiro lugar, o consumo direto de água potável contaminada e, em segundo, para as populações não expostas a elevadas concentrações de As na água potável, alimentos representam as principais fontes de As para seres humanos (Figura 6).

O arsênio é extremamente nocivo à saúde humana. Dentre os vários efeitos, podem ser destacados: melanose, leucomelanose, queratose, hiperqueratose, dorso, edema, gangrena e câncer de pele. Melanose e queratose são as apresentações mais comuns entre os povos afetados (Singh et al., 2015). A exposição crônica ao arsênio inorgânico também causa vários distúrbios em diferentes sistemas biológicos como o sistema digestivo, respiratório, cardiovascular, sistema hematopoiético, sistema endócrino, renal, sistema neurológico e sistema reprodutivo que, no geral, dão origem ao câncer (Maharjan et al., 2005).

Longas exposições, tais como de 5 a 10 anos, com ingestão de elevadas concentrações de arsênio inorgânico (maiores que $0,5 \text{ mg L}^{-1}$) conduzem a um quadro clínico sério, denominado na literatura internacional como “*arsenicosis*”, o qual relaciona os efeitos relacionados crônicos do arsênio, incluindo problemas de pele, câncer de pele, cânceres internos (bexiga, rim, pulmão), problemas de circulação nas pernas e pés e, possivelmente, diabetes, elevada pressão arterial alta e transtornos reprodutivos (Who, 2011). A extensão global e gravidade da “*arsenicosis*” não é, ainda, totalmente conhecida. Mas já é explícito que o arsênio é extremamente tóxico e, portanto, esforços devem ser direcionados na prevenção e descontaminação de águas por esse elemento.

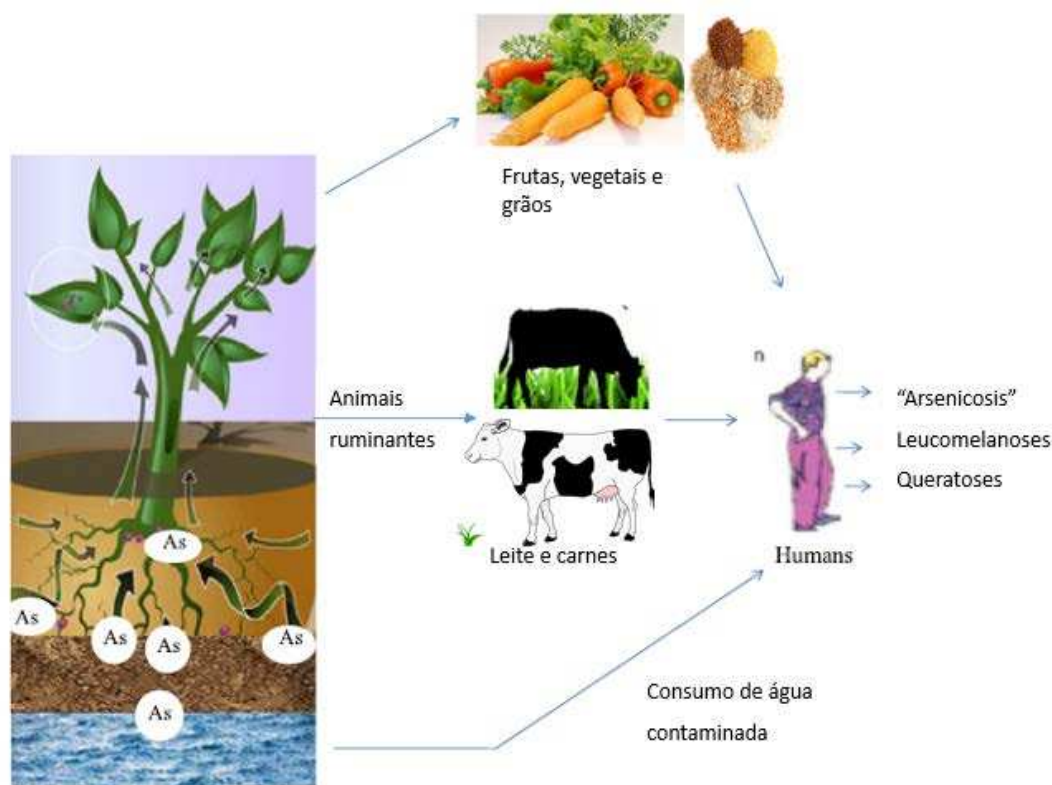


Figura 6. Diagrama esquemático da inserção do arsênio na cadeia alimentar humana.

Fonte: Modificado de Singh et al. (2015).

3.4. Dinâmica do arsênio no meio aquoso

A química do arsênio é complexa em virtude das grandes diferenças entre as propriedades dos seus compostos de origem natural ou antropogênica. O aspecto bioquímico mais observado no meio ambiente é a metilação. O arsênio inorgânico pode ser convertido em formas metiladas no meio ambiente, que em meio aquoso, tornam-se disponível para aumentar os níveis de arsênio na cadeia alimentar (Barra et al., 2000). Como a biodisponibilidade e os efeitos fisiológicos/toxicológicos do arsênio dependem de sua forma química, o conhecimento da especiação e transformação no meio ambiente é de extrema importância.

Em águas naturais, o arsênio é encontrado principalmente nas formas inorgânicas, como oxiânions do arsenito trivalente ou do arsenato

pentavalente. A distribuição das espécies é controlada, primordialmente, por duas características do meio: potencial redox (Eh) e potencial hidrogeniônico (pH). Deste modo, a dinâmica do arsênio no meio aquoso é ditada pelos níveis destes dois fatores. O diagrama Eh-pH das espécies de As em meio aquoso é mostrado na Figura 7.

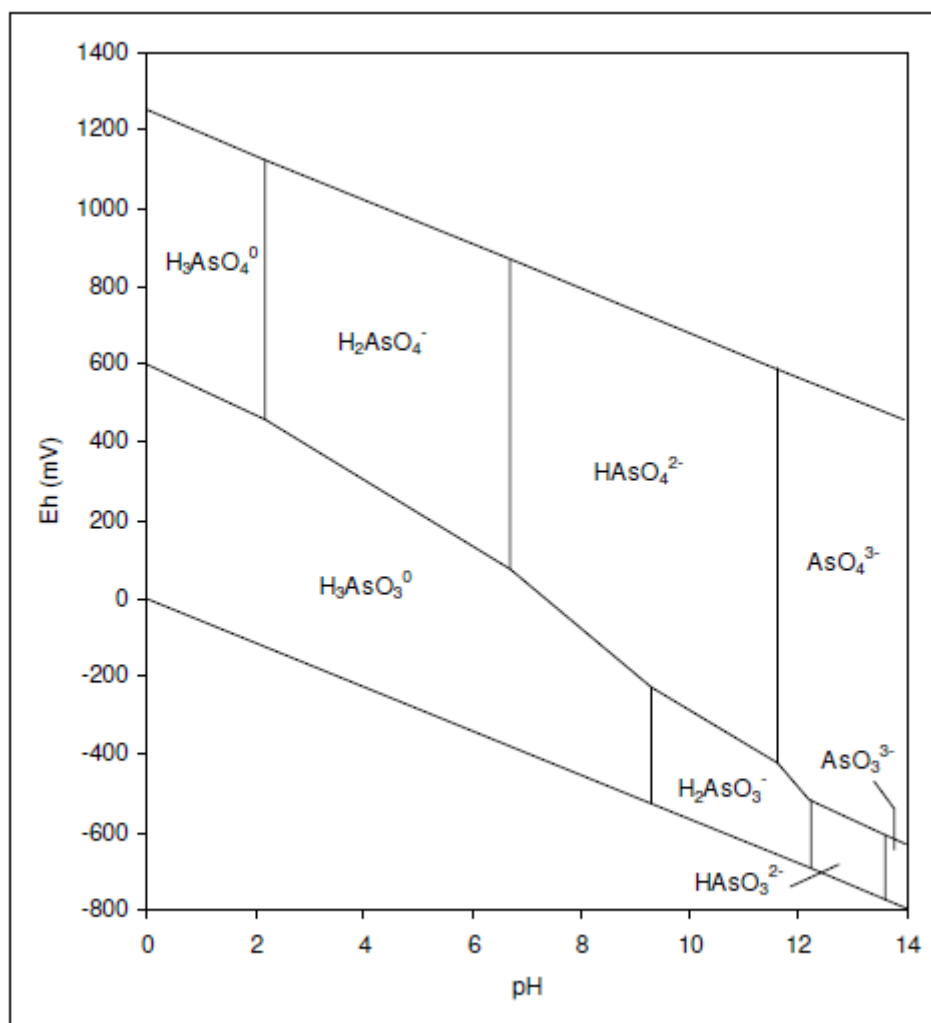


Figura 7. Diagrama Eh-pH das espécies de As em meio aquoso, no sistema As-O₂-H₂O a 25 °C e 1 bar de pressão total.

Fonte: Palmieri (2006).

O ácido arsenioso, H₃AsO₃, no qual o arsênio encontra-se no estado de oxidação (III), é um ácido fraco com pKa (9,22; 12,13; 13,4), portanto, em

meio aquoso, sob condições redutoras e pH menor que 9,2, a espécie arsenito não dissociada, H_3AsO_3 , será a predominante.

O ácido arsênico, com valores de pKa (2,20, 6,97, e 11,53), é comparável em força ao ácido fosfórico. Sob condições oxidantes, a espécie (H_2AsO_4^-) é a dominante a baixo pH (< 6,9) enquanto que para alto valor de pH, a espécie (HAsO_4^{2-}) torna-se dominante. Verifica-se que, nestas condições, o As está no estado de oxidação (V). O H_3AsO_4 e AsO_4^{3-} podem estar presentes em condições de extrema acidez e alcalinidade, respectivamente.

Torna-se importante ressaltar que a distribuição das espécies de As no sistema aquoso é definida, além de pelo pH do meio e potencial redox, pela presença de íons que podem ser precipitados como compostos insolúveis.

Condições ácidas e redutoras favorecem a precipitação de pigmento ouro (As_2S_3), realgar (AsS) ou outros minerais sulfetados contendo As coprecipitado. Deste modo, em águas em que se verifica elevadas concentrações de sulfeto livre, a concentração de As no meio provavelmente será baixa, já que este estará na forma precipitada.

Adicionalmente, elevados teores de material orgânico no meio aquoso podem propiciar a complexação do arsênio. Tais considerações são de extrema relevância no âmbito da fitorremediação no meio aquoso, uma vez que para absorção pelas plantas, e conseqüente eficiência do processo, o arsênio precisa estar biodisponível no meio.

Palmieri (2006) aborda que o arsênio é, possivelmente, o único elemento químico, entre os metalóides e os que formam oxi-ânions (As, Se, Sb, Mo, V, Cr, U, Re), suscetível à mobilização em valores de pH tipicamente encontrados em águas subterrâneas (pH 6,5 - 8,5) e em ampla faixa de condições redox.

Como conseqüência de sua mobilidade sob condições redutoras, o arsênio é um dos elementos químicos mais problemáticos no meio ambiente.

Ele pode ser encontrado em concentrações em nível de mg L^{-1} , enquanto os outros elementos químicos que formam oxiânions estão presentes somente em concentrações no nível de $\mu\text{g L}^{-1}$ (Smedley e Kinniburgh, 2002; Borba et al., 2004; Mukherjee et al., 2006).

Em águas subterrâneas, as regiões com os problemas mais críticos de contaminação tendem a ser encontradas em dois tipos de ambiente: bacias fechadas, em áreas áridas ou semiáridas, e aquíferos fortemente redutores, frequentemente derivados de aluviões. Segundo Smedley e Kinniburgh (2002), as concentrações de As nos materiais dos aquíferos com os maiores problemas não são excepcionalmente altos (1 a 20 mg kg^{-1}) e existem duas causas distintas que desencadeiam a liberação de As em grande escala. A primeira é o desenvolvimento de condições alcalinas ($\text{pH} > 8,5$) em ambientes áridos e semiáridos, como resultado combinado do intemperismo mineral e das altas taxas de evaporação. Esta mudança do pH leva à dessorção do As adsorvido, especialmente das espécies de As(V), ou impede que ele seja adsorvido. No segundo caso, o aquífero está hospedado em sedimentos ricos em matéria orgânica cuja degradação produz condições redutoras e valores de pH próximos do neutro acarretando a dessorção do As dos óxidos minerais e, também, a dissolução redutiva dos óxidos de Fe e Mn, que também contribui para a liberação do As.

Com relação às contaminações nas formas orgânicas, apesar de não serem as formas predominantes no meio aquoso, são mais comuns em lagos e em locais poluídos por herbicidas arseníferos ou com elevada atividade biológica. Suas espécies orgânicas mais comuns são os compostos metilados ácido monometilarsônico (MMA) e ácido dimetilarsínico (DMA). Na presença de microrganismos pode ocorrer a biometilação dos oxiânions, levando à formação dos compostos organometálicos, como ácidos metilarsênio ($\text{H}_2\text{AsO}_3\text{CH}_3$) e dimetilarsênio ($(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2\text{H}$), o que ocorre com frequência em ambientes lacustres (Borba et al., 2009).

Outra importante consideração é a toxicidade do arsênio, de acordo com sua especiação. Via de regra, compostos inorgânicos de arsênio são mais tóxicos que compostos orgânicos. Angerer et al. (1993) e Barra et al.

(2000) citaram que compostos inorgânicos são 100 vezes mais tóxicos do que as formas metiladas MMA e DMA. Já com relação às formas inorgânicas, o arsênio trivalente (arsenito) é 60 vezes mais tóxico do que a forma oxidada pentavalente (arsenato), sendo que ambas as formas têm, comprovadamente, efeitos carcinogênicos.

Diante do exposto, fica explícito que o conhecimento da dinâmica do arsênio no meio, seja solo, água ou sedimento, é essencial na implementação de estratégias de remediação.

4. Otimização de experimentos: Delineamento Composto Central

Otimização refere-se a melhorar o desempenho de um sistema, um processo ou um produto, a fim de obter o máximo benefício (Bezerra et al., 2008). O termo otimização tem sido comumente usado em experimentos, com destaque aos experimentos de laboratório, com intuito de se revelar condições em que a aplicação de um processo produz a melhor resposta possível.

Tradicionalmente, a otimização visa monitorar a influência de um fator de cada vez em uma resposta experimental. Deste modo, enquanto apenas uma variável é alterada, as outras são mantidas em um nível constante. Essa técnica de otimização é denominada análise univariada, a qual é relativamente simples e de fácil interpretação. No entanto, ela não inclui os efeitos interativos entre as variáveis estudadas. Como consequência, esta técnica não retrata os efeitos completos de uma variável na resposta. Outra desvantagem da otimização de um fator é o aumento do número de experimentos necessário para realizar a pesquisa, o que leva a um aumento de tempo, custos, uso e geração de reagentes e materiais (Lundstedt et al., 1998).

Para contornar tal problema, outra maneira de otimizar um método é por meio da otimização multivariada, em que todos os fatores são variados

simultaneamente, e as condições ótimas de trabalho são encontradas por meio de recursos matemáticos e estatísticos. Essa otimização multivariada permite identificar se existe alguma interação entre os fatores estudados, além de ser mais efetiva e econômica, pois o número de experimentos é reduzido. A desvantagem dessa otimização está na maior dificuldade de interpretação dos dados gerados. Todavia, o uso de programas computacionais torna tal tarefa exequível, pois estes possuem recursos que facilitam a interpretação desses dados (Ferreira et al., 2007a; Ferreira et al., 2007b).

Os planejamentos experimentais podem ser de primeira ordem, que apresentam modelos lineares, ou de segunda ordem, que apresentam modelos quadráticos. Os planejamentos de segunda ordem são mais completos, pois determinam a função estabelecida entre a resposta analítica e as variáveis independentes significantes do processo, possibilitando obter uma otimização dos resultados (Tarley et al., 2009).

Entre as técnicas de análise multivariada mais relevantes utilizadas na otimização, está a metodologia de superfície de resposta (MSR ou RSM, do inglês *Response Surface Methodology*).

4.1. Metodologia de superfície de resposta

A metodologia de superfície de resposta (MSR) é uma técnica de otimização desenvolvida pelo inglês Box e colaboradores na década de 1950 (Bruns et al., 2006) e consiste em um grupo de técnicas matemático-estatísticas utilizadas para análise e modelagem de problemas, em que uma resposta particular é função de diversas variáveis e o principal objetivo é otimizar esta resposta (Bezerra et al., 2008).

Pode-se dividir a análise de MSR em etapas, as quais são: (i) a seleção de variáveis independentes que mais influenciam o sistema por meio de revisão bibliográfica, pré-testes e delimitação da região

experimental, de acordo com o objetivo do estudo e da experiência do pesquisador; (ii) a escolha do delineamento experimental e realização dos experimentos de acordo com a matriz experimental selecionada; (iii) o tratamento matemático-estatístico dos dados obtidos no experimento por meio do ajuste de uma função polinomial; (iv) a validação e adequação do modelo; (v) a verificação da necessidade e possibilidade de realizar um deslocamento em direção a região ótima e (vi) a obtenção dos valores ótimos para cada variável estudada (Bezerra et al., 2008).

Na MSR, o número de fatores não é uma restrição, nem o número de respostas, podendo ser aplicada a qualquer número de fatores, assim como pode modelar várias respostas ao mesmo tempo. Essa é uma característica importante, porque, muitas vezes, um produto ou processo tem de satisfazer mais de um critério, como, por exemplo, apresentar o máximo de rendimento com o mínimo de impurezas, ou ter custo mínimo mantendo os parâmetros de qualidade dentro das especificações, dentre outros.

As superfícies representam uma boa maneira de ilustrar graficamente a relação entre diferentes variáveis experimentais e as respostas, oferecendo valiosas informações sob o comportamento das variáveis na região estudada.

4.2. Planejamento composto central

O planejamento composto central (PCC) ou delineamento composto central (DCC) foi apresentado por Box e Wilson (1951) como uma evolução dos planejamentos 3^3 , que necessitavam de muitos experimentos para um pequeno número de fatores, mesmo para planejamentos fracionários. O número de experimentos a ser realizado neste tipo de planejamento é dado pela Equação 1.

$$N = 2^k + 2k + C_0 \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que:

N: Número de experimentos

k: Número de fatores

C_0 : Número de pontos centrais

Em geral, um planejamento composto central para k fatores, devidamente codificados como (x_1, \dots, x_k) , é formado de três partes (Ferreira et al., 2007a):

1. Uma parte denominada fatorial (ou cúbica), contendo um total de F (2^k) pontos de coordenadas $x_i = -1$ ou $x_i = +1$, para todos os $i = 1, \dots, k$;
2. Uma parte axial (ou em estrela), formada por $n_a = 2k$ pontos com todas as coordenadas nulas, exceto uma, que é igual a um certo valor α (ou $-\alpha$);
3. Um total de n_0 ensaios realizados no ponto central, em que $x_1 = \dots x_k = 0$.

Para realizar-se um planejamento composto central, é necessário definir como será cada uma dessas três partes. É preciso definir quantos e quais serão os pontos fatoriais, qual o valor de α (representa a distância entre o nível máximo codificado de um fator e seu ponto central) e quantas repetições serão feitas no ponto central. As repetições no ponto central têm duas finalidades: fornecer uma medida do erro puro e estabilizar a variância da resposta prevista. Para estabilizar a variância, uma regra prática é fazer de 3 a 5 ensaios repetidos, se α estiver próximo de $k^{1/2}$, e somente um ou dois a mais, se α estiver perto de 1. Para obter uma estimativa do erro, quanto mais repetições, melhor.

Os planejamentos compostos centrais podem ser executados usando um número reduzido de ensaios. Além disso, apresentam vantagens como rotabilidade e ortogonalidade.

O conceito de rotabilidade foi proposto por Box e Hunter (1957) como critério para escolher o valor de α . Um planejamento é chamado de rodável se a variância de suas estimativas, $V(y)$, só depender da distância em relação ao ponto central, isto é, se a precisão da resposta prevista for a mesma em todos os pontos situados numa dada (hiper) esfera com centro no próprio centro do planejamento. A rotabilidade permite que se extraia o maior número de informações possíveis, e é importante para que o modelo de segunda ordem possa fornecer previsões, através da região de interesse, que tenham variância razoavelmente consistente e estável nos pontos de interesse das variáveis independentes.

Já a ortogonalidade garantirá que o efeito e a interação das estimativas de interesse sejam independentes uns dos outros, ou seja, quanto mais ortogonal for o delineamento maior a quantidade de informações independentes poderão ser obtidas com os resultados sobre os efeitos.

Os valores de α podem ser obtidos por meio das equações apresentadas a seguir. Todavia, torna-se importante ressaltar que estas expressões servem como guias para o estabelecimento um valor α , mas sua escolha deve ser analisada de modo conveniente e viável.

- Para delineamento ortogonal (Equação 2):

$$\alpha = \left(Q \times \frac{F}{4} \right)^{\frac{1}{4}} \quad \text{onde } Q = \left(\sqrt{F+T} - \sqrt{F} \right)^2 \quad (\text{Eq. 2})$$

- Para delineamento rotacional (Equação 3):

$$\alpha = F^{\frac{1}{4}} \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que,

F = número de pontos necessários a concepção do fatorial ($F = 2^k$);

T = número de pontos adicionais ($T = 2k + n_0$);

n_0 = número de pontos centrais;

n_a = número de pontos axiais ($n_a = 2k$);

k = número de fatores do delineamento.

Na Tabela 3 estão dispostos valores de α para um planejamento composto central ortogonal e rotacional com diferentes números de fatores (k), quando o número de réplicas do ponto central é igual a 1.

Tabela 3. Valores de α para planejamento PCC ortogonal ou rotativo (fatorial completo) com um único ponto central

k	α	
	Ortogonal	Rotativo
2	1,000	1,414
3	1,216	1,682
4	1,414	2,000
5	1,596	2,378
6	1,761	2,828
7	1,910	3,364
8	2,045	4,000

Outra vantagem deste tipo de planejamento é que, por eles serem formados de três partes distintas, é possível construí-los de forma sequencial, conforme a necessidade do experimento. Tal característica é bastante conveniente quando se trata de assuntos extremamente novos, em que são escassos os dados na literatura (Ferreira et al., 2007a).

Diante do exposto, no contexto da fitorremediação, em que há muito o que se pesquisar, tal ferramenta torna-se de extrema relevância e contribui para obtenção de resultados confiáveis, com um menor número de ensaios.

5. REFERÊNCIAS

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals-- concepts and applications. *Chemosphere*, v. 91, n. 7, p. 869-881, 2013.

ANGERER, J.; SCHALLER, K.; FLEISCHER, M.; SEILER, H. Analyses of hazardous substances in biological materials. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, v. 346, n. 6-9, p. 828-829, 1993.

BANASOVA, V.; HORAK, O.; NADUBINSKA, M.; CIAMPOROVA, M.; LICHTSCHEIDL, I. Heavy metal content in *Thlaspi caerulescens* J. et C. Presl growing on metalliferous and non-metalliferous soils in Central Slovakia. *International Journal of Environment and Pollution*, v. 33, n. 2-3, p. 133-145, 2008.

BARRA, C. M.; SANTELLI, R. E.; ABRÃO, J. J.; GUARDIA, M. G. Especificação de Arsênio - uma revisão. *Química Nova*, v. 23, p. 58-70, 2000.

BELL, T. H.; JOLY, S.; PITRE, F. E.; YERGEAU, E. Increasing phytoremediation efficiency and reliability using novel omics approaches. *Trends Biotechnol*, v. 32, n. 5, p. 271-280, 2014.

BERTI, W. R.; CUNNINGHAM, S. D. Phytostabilization of metals. In: RASKIN, I. e ENSLEY, B. D. (Eds.). *Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean-up the environment*. New York: Wiley, 2000. p. 71-88.

BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, v. 76, n. 5, p. 965-977, 2008.

BHATTACHARYA, S.; GUPTA, K.; DEBNATH, S.; GHOSH, U. C.; CHATTOPADHYAY, D.; MUKHOPADHYAY, A. Arsenic bioaccumulation in rice and edible plants and subsequent transmission through food chain in

Bengal basin: a review of the perspectives for environmental health. *Toxicological & Environmental Chemistry*, v. 94, n. 3, p. 429-441, 2012.

BLAYLOCK, M. J.; HUANG, J. W. Phytoextraction of metals. In: RASKIN, I. e ENSLEY, B. D. (Eds.). *Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean-up the environment* ed. New York: Wiley, 2000. p. 53-70.

BORBA, R. P.; COSCIONE, A. R.; FIGUEIREDO, B. R.; ZAMBELLO, F. Estudo da especiação de arsênio inorgânico e determinação de arsênio total no monitoramento ambiental da qualidade de águas subterrâneas. *Química Nova*, v. 32, p. 970-975, 2009.

BORBA, R. P.; FIGUEIREDO, B. R.; CAVALCANTI, J. A. Arsênio na água subterrânea em Ouro Preto e Mariana, Quadrilátero Ferrífero (MG). *Revista Escola de Minas*, v. 57, p. 45-51, 2004.

BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S. Multi-Factor Experimental-Designs for Exploring Response Surfaces. *Annals of Mathematical Statistics*, v. 28, n. 1, p. 195-241, 1957.

BOX, G. E. P.; WILSON, K. B. On the Experimental Attainment of Optimum Conditions. *Journal of the Royal Statistical Society Series B-Statistical Methodology*, v. 13, n. 1, p. 1-45, 1951.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA n. 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Ministério do Meio Ambiente. Brasília. 2005

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA n. 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de

17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Ministério do Meio Ambiente. Brasília. 2011a

BRASIL. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília. 2011b

CALHEIROS, C. S. C.; RANGEL, A. O. S. S.; CASTRO, P. M. L. The effects of tannery wastewater on the development of different plant species and chromium accumulation in *Phragmites australis*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 55, n. 3, p. 404-414, 2008.

CAMESELLE, C.; CHIRAKKARA, R. A.; REDDY, K. R. Electrokinetic-enhanced phytoremediation of soils: status and opportunities. Chemosphere, v. 93, n. 4, p. 626-636, 2013.

CENTER, T. D.; HILL, M. P.; CORDO, H.; JULIEN, M. H. Water hyacinth. In: VAN DRIESCHE, R., ET AL. (Ed.). Biological Control of Invasive Plants in the Eastern United States. ed.: USDA Forest Service Publication FHTET, 2002. p. 41-64.

CHARLIER, H. A., JR.; ALBERTSON, C.; THORNOCK, C.; WARNER, L.; HURST, T.; ELLIS, R. Comparison of the effects of arsenic (V), cadmium (II), and mercury (II) single metal and mixed metal exposure in radish, *Raphanus sativus*, fescue grass, *Festuca ovina*, and duckweed, *Lemna minor*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology v. 75, n. 3, p. 474-481, 2005.

DANH, L. T.; TRUONG, P.; MAMMUCARI, R.; TRAN, T.; FOSTER, N. Vetiver Grass, *Vetiveria zizanioides*: A choice plant for phytoremediation of heavy metals and organic wastes. International Journal of Phytoremediation, v. 11, n. 8, p. 664-691, 2009.

DONG, R. B.; FORMENTIN, E.; LOSSES, C.; CARIMI, F.; BENEDETTI, P.; TERZI, M.; LO SCHIAVO, F. Molecular cloning and characterization of a phytochelatin synthase gene, PvPCS1, from *Pteris vittata* L. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, v. 32, n. 11-12, p. 527-533, 2005.

DORAN, P. M. Application of plant tissue cultures in phytoremediation research: incentives and limitations. Biotechnol Bioeng, v. 103, n. 1, p. 60-76, 2009.

DUMAN, F.; OZTURK, F.; AYDIN, Z. Biological responses of duckweed (*Lemna minor* L.) exposed to the inorganic arsenic species As(III) and As(V): effects of concentration and duration of exposure. Ecotoxicology, v. 19, n. 5, p. 983-993, 2010.

DUSHENKOV, S.; KAPULNIK, Y. Phytoremediation of metals. In: RASKIN, I. e ENSLE, B. D. (Eds.). Phytoremediation of toxic metals – Using plants to clean-up the environment ed. New York: Wiley, 2000. p. 89-106.

EL AAFI, N.; BRHADA, F.; DARY, M.; MALTOUF, A. F.; PAJUELO, E. Rhizostabilization of Metals in Soils Using *Lupinus Luteus* Inoculated with the Metal Resistant Rhizobacterium *Serratia* Sp. Msmc541. International Journal of Phytoremediation, v. 14, n. 3, p. 261-274, 2012.

FERREIRA, F. A. G. Toxicidade e remoção de arsênio pela cianobactéria *Microcystis novacekii*. 2013. 76 p. Dissertacao (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo horizonte - MG, 2013.

FERREIRA, S. L.; BRUNS, R. E.; DA SILVA, E. G.; DOS SANTOS, W. N.; QUINTELLA, C. M.; DAVID, J. M.; DE ANDRADE, J. B.; BREITKREITZ, M. C.; JARDIM, I. C.; NETO, B. B. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. J Chromatogr A, v. 1158, n. 1-2, p. 2-14, 2007a.

FERREIRA, S. L.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDAO, G. C.; DA SILVA, E. G.; PORTUGAL, L. A.; DOS REIS, P. S.; SOUZA, A. S.; DOS SANTOS, W. N. Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Anal Chim Acta*, v. 597, n. 2, p. 179-186, 2007b.

FRANÇA, G. M. D. O.; FILHO, J. F. D. M.; PEREIRA, C. M.; FARIA, G. A.; MELO, F. V. S. T. D.; SANTOS, J. G. D. Valor nutricional de *Lemna valdiviana* Phil (Araceae) submetida a diferentes concentrações de fertilização com excremento de aves. *Biotemas*, v. 22, n. 3, p. 19-26, 2009.

FU, Y.; CHEN, M.; BI, X.; HE, Y.; REN, L.; XIANG, W.; QIAO, S.; YAN, S.; LI, Z.; MA, Z. Occurrence of arsenic in brown rice and its relationship to soil properties from Hainan Island, China. *Environ Pollut*, v. 159, n. 7, p. 1757-1762, 2011.

FUMAGALLI, P.; COMOLLI, R.; FERRE, C.; GHIANI, A.; GENTILI, R.; CITTERIO, S. The rotation of white lupin (*Lupinus albus* L.) with metal-accumulating plant crops: A strategy to increase the benefits of soil phytoremediation. *J Environ Manage*, v. 145C, p. 35-42, 2014.

GARDEA-TORRESDEY, J. L.; DE LA ROSA, G.; PERALTA-VIDEA, J. R. Use of phytofiltration technologies in the removal of heavy metals: A review. *Pure and Applied Chemistry*, v. 76, n. 4, p. 801-813, 2004.

GLICK, B. R. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology Advances*, v. 28, n. 3, p. 367-374, 2010.

GOMES, M. A.; HAUSER-DAVIS, R. A.; DE SOUZA, A. N.; VITORIA, A. P. Metal phytoremediation: General strategies, genetically modified plants and applications in metal nanoparticle contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 134P1, p. 133-147, 2016.

GRAEFF, A.; VIANNA, A. G.; TONETTA, D.; PRUNER, E. N. Avaliação do potencial nutritivo da Macrófita aquática *Lemna minor*, por meio da análise da composição química e por sua utilização em ração para carpa comum (*Cyprinus carpio* L.) na fase de recria. *Evidência*, v. 7, n. 1, p. 37-50, 2007.

GREENFIELD, B. K.; SIEMERING, G. S.; ANDREWS, J. C.; RAJAN, M.; ANDREWS, S. P.; SPENCER, D. F. Mechanical shredding of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*): Effects on water quality in the Sacramento-San Joaquin River Delta, California. *Estuaries and Coasts*, v. 30, n. 4, p. 627-640, 2007.

HADAD, H. R.; MAINE, M. A.; MUFARREGE, M. M.; DEL SASTRE, M. V.; DI LUCA, G. A. Bioaccumulation kinetics and toxic effects of Cr, Ni and Zn on *Eichhornia crassipes*. *Journal of Hazardous Materials*, v. 190, n. 1-3, p. 1016-1022, 2011.

HASAN, M. R.; CHAKRABARTI, R. Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aquaculture - a review. Rome, Italy.: FAO, 2009. 123 p.

HU, P. J.; QIU, R. L.; SENTHILKUMAR, P.; JIANG, D.; CHEN, Z. W.; TANG, Y. T.; LIU, F. J. Tolerance, accumulation and distribution of zinc and cadmium in hyperaccumulator *Potentilla griffithii*. *Environmental and Experimental Botany*, v. 66, n. 2, p. 317-325, 2009.

ISRAR, M.; SAHI, S. V.; JAIN, J. Cadmium accumulation and antioxidative responses in the *Sesbania Drummondii callus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 50, n. 1, p. 121-127, 2006.

JAFARI, N. Ecological and socio-economic utilization of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* Mart Solms). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, v. 14, n. 2, p. 43-49, 2010.

JAIN, C. K.; ALI, I. Arsenic: Occurrence, toxicity and speciation techniques. *Water Research*, v. 34, n. 17, p. 4304-4312, 2000.

JIN, X. F.; LIU, D.; ISLAM, E.; MAHMOOD, Q.; YANG, X. E.; HE, Z. L.; STOFFELLA, P. J. Effects of Zinc on root morphology and antioxidant adaptations of Cadmium-treated *Sedum alfredii* H. *Journal of Plant Nutrition*, v. 32, n. 10, p. 1642-1656, 2009.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; WANI, P. A.; OVES, M. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environmental Chemistry Letters*, v. 7, n. 1, p. 1-19, 2009.

KHATAEE, A. R.; MOVAFEGHI, A.; TORBATI, S.; SALEHI LISAR, S. Y.; ZAREI, M. Phytoremediation potential of duckweed (*Lemna minor* L.) in degradation of C.I. Acid Blue 92: artificial neural network modeling. *Ecotoxicology environmental safety*, v. 80, p. 291-298, 2012.

LI, S. X.; ZHENG, F. Y.; YANG, H.; NI, J. C. Thorough removal of inorganic and organic mercury from aqueous solutions by adsorption on *Lemna minor* powder. *Journal of Hazardous Materials*, v. 186, n. 1, p. 423-429, 2011.

LIN, Y.-L.; LI, B.-K. Removal of pharmaceuticals and personal care products by *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 58, p. 318-323, 2016.

LUNDSTEDT, T.; SEIFERT, E.; ABRAMO, L.; THELIN, B.; NYSTROM, A.; PETERSEN, J.; BERGMAN, R. Experimental design and optimization. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, v. 42, n. 1-2, p. 3-40, 1998.

MA, Y.; PRASAD, M. N. V.; RAJKUMAR, M.; FREITAS, H. Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances*, v. 29, n. 2, p. 248-258, 2011.

MAHARJAN, M.; WATANABE, C.; AHMAD, S. A.; OHTSUKA, R. Arsenic contamination in drinking water and skin manifestations in lowland Nepal: the first community-based survey. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 73, n. 2, p. 477-479, 2005.

MAITY, J. P.; NATH, B.; KAR, S.; CHEN, C. Y.; BANERJEE, S.; JEAN, J. S.; LIU, M. Y.; CENTENO, J. A.; BHATTACHARYA, P.; CHANG, C. L.; SANTRA, S. C. Arsenic-induced health crisis in peri-urban Moyna and Ardebok villages, West Bengal, India: an exposure assessment study. *Environmental Geochemistry and Health*, v. 34, n. 5, p. 563-574, 2012.

MANDAL, B. K.; SUZUKI, K. T. Arsenic round the world: a review. *Talanta*, v. 58, n. 1, p. 201-235, 2002.

MARTINS, D.; CARBONARI, C. A.; TERRA, M. A.; MARCHI, S. R. Ação de adjuvantes na absorção e translocação de glyphosate em plantas de aguapé (*Eichhornia crassipes*). *Planta Daninha*, v. 27, p. 155-163, 2009.

MIJOVILOVICH, A.; LEITENMAIER, B.; MEYER-KLAUCKE, W.; KRONECK, P. M. H.; GOTZ, B.; KUPPER, H. Complexation and Toxicity of Copper in Higher Plants. II. Different Mechanisms for Copper versus Cadmium Detoxification in the Copper-Sensitive Cadmium/Zinc Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* (Ganges Ecotype). *Plant Physiology*, v. 151, n. 2, p. 715-731, 2009.

MISHIMA, D.; KUNIKI, M.; SEI, K.; SODA, S.; IKE, M.; FUJITA, M. Ethanol production from candidate energy crops: Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). *Bioresource Technology*, v. 99, n. 7, p. 2495-2500, 2008.

MONDAL, P.; MAJUMDER, C. B.; MOHANTY, B. Laboratory based approaches for arsenic remediation from contaminated water: recent developments. *Journal hazardous materials*, v. 137, n. 1, p. 464-479, 2006.

MUKHERJEE, A.; SENGUPTA, M. K.; HOSSAIN, M. A.; AHAMED, S.; DAS, B.; NAYAK, B.; LODH, D.; RAHMAN, M. M.; CHAKRABORTI, D. Arsenic contamination in groundwater: A global perspective with emphasis on the Asian scenario. *Journal of Health Population and Nutrition*, v. 24, n. 2, p. 142-163, 2006.

NASCIMENTO, C. W. A. D.; XING, B. Phytoextraction: a review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Scientia Agricola*, v. 63, p. 299-311, 2006.

NEDJIMI, B.; DAOUD, Y. Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. *schweinfurthii* and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. *Flora*, v. 204, n. 4, p. 316-324, 2009.

OLMOS-MARQUEZ, M. A.; ALARCON-HERRERA, M. T.; MARTIN-DOMINGUEZ, I. R. Performance of *Eleocharis macrostachya* and its importance for arsenic retention in constructed wetlands. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 19, n. 3, p. 763-771, 2012.

PADMAVATHIAMMA, P. K.; LI, L. Y. Phytoremediation Technology: Hyper-accumulation Metals in Plants. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 184, n. 1-4, p. 105-126, 2007.

PALMIERI, H. E. L. Distribuição, especiação e transferência de Hg e As para a biota em áreas do sudeste do quadrilátero ferrífero, MG. 2006. 193 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto-MG, 2006.

PHAN, K.; STHIANNOPKAO, S.; KIM, K. W.; WONG, M. H.; SAO, V.; HASHIM, J. H.; MOHAMED YASIN, M. S.; ALJUNID, S. M. Health risk assessment of inorganic arsenic intake of Cambodia residents through groundwater drinking pathway. *Water Research*, v. 44, n. 19, p. 5777-5788, 2010.

PILON-SMITS, E. A.; FREEMAN, J. L. Environmental cleanup using plants: biotechnological advances and ecological considerations. *Frontiers in Ecology and the Environment*, v. 4, p. 203-210, 2006.

POLLARD, A. J.; STEWART, H. L.; ROBERSON, C. B. Manganese Hyperaccumulation in *Phytolacca americana* L. from the Southeastern United States. *Northeastern Naturalist*, v. 16, p. 155-162, 2009.

QIN, H.; ZHANG, Z.; LIU, M.; LIU, H.; WANG, Y.; WEN, X.; ZHANG, Y.; YAN, S. Site test of phytoremediation of an open pond contaminated with domestic sewage using water hyacinth and water lettuce. *Ecological Engineering*, v. 95, p. 753-762, 2016.

RAHMAN, M. A.; HASEGAWA, H. Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere*, v. 83, n. 5, p. 633-646, 2011.

RAJKUMAR, M.; SANDHYA, S.; PRASAD, M. N.; FREITAS, H. Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnol Adv*, v. 30, n. 6, p. 1562-1574, 2012.

RAVENSCROFT, P.; BRAMMER, H.; RICHARDS, K. Health Effects of Arsenic in Drinking Water and Food. In. *Arsenic Pollutioned.*: Wiley-Blackwell, 2009. p. 157-212.

SALEH, H. M. Water hyacinth for phytoremediation of radioactive waste simulate contaminated with cesium and cobalt radionuclides. *Nuclear Engineering and Design*, v. 242, p. 425-432, 2012.

SARASWAT, S.; RAI, J. P. N. Phytoextraction potential of six plant species grown in multimetal contaminated soil. *Chemistry and Ecology*, v. 25, n. 1, p. 1-11, 2009.

SARMA, H. Metal hyperaccumulation in plants: A review focusing on phytoremediation technology. *Journal of Environmental Science and Technology* v. 4, n. 2, p. 118-138, 2011.

SASMAZ, M.; ARSLAN TOPAL, E. I.; OBEK, E.; SASMAZ, A. The potential of *Lemna gibba* L. and *Lemna minor* L. to remove Cu, Pb, Zn, and As in gallery water in a mining area in Keban, Turkey. *Journal of Environmental Management*, v. 163, p. 246-253, 2015.

SHARMA, D. C.; SHARMA, C.; TRIPATHI, R. D. Phytotoxic lesions of chromium in maize. *Chemosphere*, v. 51, n. 1, p. 63-68, 2003.

SINGH, R.; SINGH, S.; PARIHAR, P.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 112, p. 247-270, 2015.

SMEDLEY, P. L.; KINNIBURGH, D. G. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, v. 17, n. 5, p. 517-568, 2002.

SOLTAN, M. E.; RASHED, M. N. Laboratory study on the survival of water hyacinth under several conditions of heavy metal concentrations. *Advances in Environmental Research*, v. 7, n. 2, p. 321-334, 2003.

SOUZA, M. P.; PILON-SMITS, E. A. H.; TERRY, N. The physiology and biochemistry of selenium volatilization by plants. In: RASKIN, I. e ENSLEY, B. D. (Eds.). *Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean-up the environment*. New York: Wiley, 2000. p. 171-190.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII*. Instituto Plantarum-Brasil: Nova Odessa, 2005. 291 p.

SUN, R. L.; JIN, C. X.; ZHOU, Q. X. Characteristics of cadmium accumulation and tolerance in *Rorippa globosa* (Turcz.) Thell., a species with some characteristics of cadmium hyperaccumulation. *Plant Growth Regulation*, v. 61, n. 1, p. 67-74, 2010.

TARLEY, C. R. T.; SILVEIRA, G.; DOS SANTOS, W. N. L.; MATOS, G. D.; DA SILVA, E. G. P.; BEZERRA, M. A.; MIRÓ, M.; FERREIRA, S. L. C. Chemometric tools in electroanalytical chemistry: Methods for optimization based on factorial design and response surface methodology. *Microchemical Journal*, v. 92, n. 1, p. 58-67, 2009.

TEIXEIRA, S. R.; SANTOS, G. T. A.; SOUZA, A. E.; ALESSIO, P.; SOUZA, S. A.; SOUZA, N. R. The effect of incorporation of a Brazilian water treatment plant sludge on the properties of ceramic materials. *Applied Clay Science*, v. 53, n. 4, p. 561-565, 2011.

TITAH, H. S.; ABDULLAH, S. R. S.; MUSHRIFAH, I.; ANUAR, N.; BASRI, H.; MUKHLISIN, M. Effect of applying rhizobacteria and fertilizer on the growth of *Ludwigia octovalvis* for arsenic uptake and accumulation in phytoremediation. *Ecological Engineering*, v. 58, p. 303-313, 2013.

TORDOFF, G. M.; BAKER, A. J. M.; WILLIS, A. J. Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. *Chemosphere*, v. 41, n. 1-2, p. 219-228, 2000.

USEPA. Introduction to Phytoremediation. Washington DC. EPA/600/R-99/107 2000.

VAMERALI, T.; BANDIERA, M.; MOSCA, G. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemistry Letters*, v. 8, n. 1, p. 1-17, 2010.

VAN AKEN, B. Transgenic plants for enhanced phytoremediation of toxic explosives. *Curr Opin Biotechnol*, v. 20, n. 2, p. 231-236, 2009.

VITHANAGE, M.; DABROWSKA, B. B.; MUKHERJEE, A. B.; SANDHI, A.; BHATTACHARYA, P. Arsenic uptake by plants and possible phytoremediation applications: a brief overview. *Environmental Chemistry Letters*, v. 10, n. 3, p. 217-224, 2011.

VOGEL-MIKUS, K.; ARCON, I.; KODRE, A. Complexation of cadmium in seeds and vegetative tissues of the cadmium hyperaccumulator *Thlaspi praecox* as studied by X-ray absorption spectroscopy. *Plant and Soil*, v. 331, n. 1-2, p. 439-451, 2010.

WEI, L.; LUO, C. L.; LI, X. D.; SHEN, Z. G. Copper accumulation and tolerance in *Chrysanthemum coronarium* L. and *Sorghum sudanense* L. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 55, n. 2, p. 238-246, 2008.

WHO. Guidelines for Drinking-Water Quality. World Health Organisation, Geneva., v. 4, p. 315-318, 2011.

WUANA, R. A.; OKIEIMEN, F. E. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *ISRN Ecology*, v. 2011, p. 20, 2011.

YAMAMURA, S.; AMACHI, S. Microbiology of inorganic arsenic: From metabolism to bioremediation. *Journal of bioscience and bioengineering*, p. 1-9, 2014.

YANG, Q.; TU, S.; WANG, G.; LIAO, X.; YAN, X. Effectiveness of Applying Arsenate Reducing Bacteria to Enhance Arsenic Removal from Polluted Soils by *Pteris Vittata* L. *International Journal of Phytoremediation*, v. 14, n. 1, p. 89-99, 2012.

ZAYED, A.; PILON-SMITS, E.; DESOUZA, M.; LIN, Z. Q.; TERRY, N. Remediation of selenium-polluted soils and waters by phytovolatilization. *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*, p. 61-83, 2000.

ZENG, X. W.; MA, L. Q.; QIU, R. L.; TANG, Y. T. Responses of non-protein thiols to Cd exposure in Cd hyperaccumulator *Arabis paniculata* Franch. *Environmental and Experimental Botany*, v. 66, n. 2, p. 242-248, 2009.

ZHANG, W. H.; CAI, Y.; TU, C.; MA, L. Q. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *Science of the Total Environment*, v. 300, n. 1-3, p. 167-177, 2002.

ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P.; MEHARG, A. A. Arsenic as a food chain contaminant: mechanisms of plant uptake and metabolism and mitigation strategies. *Annu Rev Plant Biol*, v. 61, p. 535-559, 2010.

CAPÍTULO II: ARTIGO TÉCNICO-CIENTÍFICO

Otimização da fitorremediação de arsênio utilizando a espécie vegetal *Eichhornia crassipes* (Aguapé)

RESUMO

Elevadas concentrações de arsênio, principalmente na água, têm sido alvo de preocupação em todo o mundo. Neste contexto, a fitorremediação tem sido uma técnica frequentemente utilizada para remoção do metal de águas contaminadas. Sabe-se que as condições do meio influenciam diretamente na espécie de arsênio predominante, As(III) ou As(V), e também influenciam o comportamento da planta com relação a sua capacidade de fitorremediar, tornando o conhecimento do processo necessário. O presente estudo objetivou avaliar as variáveis pH, concentração de fosfato (P-PO₄) e concentração de nitrato (N-NO₃) no processo de absorção de arsênio pela espécie *Eichhornia crassipes* (Aguapé), utilizando a metodologia de superfície resposta para análise dos dados, com intuito de se otimizar o processo. O delineamento escolhido para o desenvolvimento deste trabalho foi o de Delineamento Composto Central Rotacional, com 3 variáveis, incluindo 6 pontos axiais e 6 repetições no ponto central, totalizando 20 ensaios. As plantas foram expostas a concentração constante de arsênio no ensaio de otimização de 0,5 mg L⁻¹ (NaAsO₂) e níveis variados de pH, P-PO₄ e N-NO₃ em um período de 10 d. Ao final do experimento, foram computados a massa de arsênio removida do meio aquoso, o arsênio acumulado nas raízes e folhas das plantas, a espécie de arsênio presente, taxa de crescimento relativo das plantas (TCR), índice de tolerância (IT), fator de bioacumulação (FB) e fator de translocação (FT). Os resultados indicaram níveis ótimos para absorção de arsênio pela espécie vegetal *Eichhornia crassipes* em pH igual a 7,5; ausência de fosfato e nível mínimo de nitrato de 0,0887 mmol L⁻¹. O modelo matemático proposto se ajustou de forma satisfatória aos dados obtidos bem como nos ensaios de validação. Para concentração testada, a *E. crassipes* foi capaz de acumular 498,4 mg kg⁻¹ de As (base seca) no seu tecido vegetal (folhas e raízes) e reduzir 83% da concentração inicial presente no meio aquoso onde foi cultivada. A

concentração de fósforo em solução aumentou linearmente o teor de fósforo nas plantas e influenciou negativamente a absorção de arsênio. A concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de As não afetou significativamente a TCR e IT. Em média, 94% do As(III) solubilizado inicialmente na água foi convertido, até o final do período de experimentação, em As(V). O aguapé se mostrou relevante na fitorremediação de arsênio de água, quando cultivado em condições ótimas para sua remoção.

Palavras chave: Metal pesado, fitoextração, aguapé, arsenato, arsenito.

Optimization of arsenic phytoremediation using the plant species *Eichhornia crassipes* (water hyacinth)

ABSTRACT

High concentrations of arsenic, especially in water, have been a concern worldwide. In this context, phytoremediation has been a technique frequently used to remove the metal from contaminated water. It is known that environmental conditions directly influence the predominant arsenic species, As(III) or As(V), and also influence the behavior of the plant in relation to its phytoremediation capacity, making knowledge of the process necessary. The objective of this study was to evaluate pH, phosphate concentration (P-PO₄) and nitrate concentration (N-NO₃) in the process of arsenic absorption by *Eichhornia crassipes* (water hyacinth) using the surface response methodology with the aim of optimizing the process. The design chosen for the development of this work was the rotational central composite design, with 3 variables, including 6 axial points and 6 repetitions at the central point, totaling 20 trials. The plants were exposed to a constant concentration of arsenic in the optimization test of 0.5 mg L⁻¹ (NaAsO₂) and varied levels of pH, P-PO₄ and N-NO₃ over a period of 10 d. At the end of the experimente the arsenic mass removed from the aqueous medium, the arsenic accumulated in the roots and leaves of the plants, the arsenic species present, the relative growth rate (RGR), the tolerance index (TI) bioaccumulation (BF) and translocation (TF) factors were determined. The results indicated optimal levels for the absorption of arsenic by the plant specie *Eichhornia crassipes* at pH equal to 7.5; absence of phosphate and a minimum nitrate level of 0.0887 mmol L⁻¹. The proposed mathematical model was satisfactorily adjusted to the data obtained as well as to the validation tests. At the concentration tested, *E. crassipes* was able to accumulate 498.4 mg kg⁻¹ As (dry basis) in its plant tissue (leaves and roots) and reduce 83% of the initial concentration present in the aqueous medium in which it was cultivated. The concentration of phosphorus in solution linearly increased the phosphorus content in the plants and negatively influenced the absorption of

arsenic. The concentration of 0.5 mg L^{-1} of As did not significantly affect the RGR and TI. On average, 94% of As(III) initially solubilized in water was converted by the end of the experimental period into As(V). The water hyacinth was successful in the phytoremediation of arsenic when cultivated under optimum conditions for its removal.

Keywords: Heavy metal, phytoextraction, water hyacinth, arsenate, arsenite.

.

1. INTRODUÇÃO

O arsênio é um metalóide de grande interesse em ser estudado no contexto ambiental e da saúde pública, dada sua periculosidade. É reconhecido por ser um dos maiores perigos ambientais do mundo, ameaçando vidas de várias centenas de milhões de pessoas (Ravenscroft et al., 2009). Em diversas regiões, existem processos biogeoquímicos que resultam em uma liberação natural de arsênio no meio, tais como solos e águas subterrâneas.

Por outro lado, atividades antrópicas não controladas, nas quais pode-se citar a mineração, queima de combustíveis fósseis, metalurgia, tratamento de madeira, uso pesticidas e produtos agropecuários à base de arsênio contribuem expressivamente na contaminação do meio ambiente. Assim, elevadas concentrações de arsênio, principalmente na água, têm sido alvo de preocupação tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento (Mosaferi et al., 2008).

Diversos estudos demonstram que a exposição a níveis elevados de arsênio tem implicado em problemas adversos relacionados com a saúde, como alterações na pigmentação da pele, diabetes, doenças pulmonares e câncer de rim e bexiga (Dastgiri et al., 2010; Luther et al., 2012; Singh et al., 2015). Devido à sua toxicidade, a Organização Mundial de Saúde estabelece um valor de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ como o nível máximo para As total na água para consumo. O Brasil segue esta mesma recomendação (Brasil, 2011; Who, 2011).

O arsênio inorgânico é encontrado na natureza como arsenito (As(III)) e arsenato (As(V)). O arsenito é mais tóxico e móvel quando comparado ao arsenato, sendo que a maioria das tecnologias de remoção apresentam maior eficiência quando o elemento químico é apresentado no estado pentavalente (Mosaferi et al., 2008). O arsênio na forma orgânica é, geralmente, menos tóxico e encontrado em menores proporções que o As inorgânico (Zhao et al., 2010).

O tratamento de águas contaminadas com As pode ser realizado por técnicas como a coagulação, adsorção, troca iônica, filtração por membranas e processos biológicos, como a fitorremediação. Dentre as alternativas citadas, a fitorremediação destaca-se como alternativa de alta viabilidade, a qual utiliza plantas com potencial de absorver e criar condições de imobilizar o contaminante de interesse (Khataee et al., 2012; Leão et al., 2014; Qin et al., 2016). A técnica alia vantagens como baixo custo de implementação e operação, pequeno ou nulo gasto energético, possibilidade de aproveitamento da biomassa, não produz produto secundário tóxico, harmonia paisagística bem como aplicação em grandes volumes de água.

Os mecanismos de absorção de As pelas plantas ainda não são totalmente desvendados. Sabe-se que existe um número de aquaporinas, proteínas intrínsecas (*nodulin26-like*), que são capazes de promover absorção de arsenito pelas raízes, enquanto o arsenato é absorvido por transportadores de fosfato (Rahman e Hasegawa, 2011).

As condições do meio influenciam diretamente na espécie de arsênio predominante, As(III) ou As(V), e também influenciam o comportamento da planta com relação a sua capacidade de fitorremediar, tornando o conhecimento do processo complexo (Andrade et al., 2016). Os fatores ainda são pouco explorados na literatura e não há um consenso das condições aquosas que maximizam o processo de fitorremediação de arsênio para a maioria das espécies vegetais. A literatura aponta que os teores de fósforo (Bertolero et al., 1987; Mkandawire e Dudel, 2005; Duman et al., 2010) e nitrato (Farnese et al., 2014) podem influenciar a absorção do metal pelas plantas.

A espécie vegetal *Eichhornia crassipes* (Mart.) solms é uma macrófita flutuante de vida livre, considerada invasora por sua alta propagação, principalmente em meios eutróficos (Jafari, 2010). No contexto da fitorremediação, o aguapé passou a ser utilizado recentemente, mas tem demonstrado resultados promissores. Diversos estudos sobre a descontaminação de águas revelaram que o aguapé pode, de maneira eficiente, acumular metais pesados (Duman et al., 2010; Hadad et al., 2011;

Saleh, 2012; Gomes et al., 2016), contaminantes orgânicos (Lin e Li, 2016) e nutrientes (Qin et al., 2016).

Diante do exposto, nesta pesquisa, objetivou-se avaliar as variáveis pH, concentrações de fosfato e nitrato no processo de absorção de arsênio pela espécie *Eichhornia crassipes* (Aguapé), utilizando a metodologia de superfície resposta para análise dos dados, com intuito da proposição de ações que possam proporcionar sua otimização.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção e aclimação das plantas

Plantas aquáticas da espécie *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (aguapé) foram coletadas no horto botânico da Universidade Federal de Viçosa, higienizadas e aclimatadas por dois meses, em recipientes de polietileno (0,30 x 0,30 x 0,22 m), contendo 2 L de solução nutritiva Clark (1975) (Apêndice II) e pH 6,5 (Leão et al., 2014). As plantas foram mantidas em sala de crescimento de plantas, sob temperatura e luminosidade controladas (25 ± 2 °C) e fotoperíodo de 16 horas, sendo a solução nutritiva trocada a cada sete dias.

2.2. Delineamento e condições experimentais

O delineamento escolhido para o desenvolvimento deste trabalho foi o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), o qual possui um bom desempenho na otimização de experimentos (Bezerra et al., 2008). Utilizou-se, como variável dependente, a massa de arsênio removida por unidade de massa da planta seca ($As_{\text{removido}}/M_{\text{planta}}$), em mg g^{-1} . Tal resposta foi considerada pertinente, uma vez que, apesar da seleção de tamanhos semelhantes, observou-se expressiva variação de massa entre as plantas.

As variáveis independentes avaliadas, selecionadas após uma extensa revisão bibliográfica, as quais foram: potencial hidrogeniônico (pH), concentração de fósforo na forma de fosfato (P- PO_4) e nitrogênio na forma de nitrato (N- NO_3) (Meharg e Hartley-Whitaker, 2002; Wang et al., 2002; Zhang et al., 2009; Sasmaz et al., 2015; Qin et al., 2016).

O DCCR foi composto, portanto, de 3 variáveis (2^3), incluindo 6 pontos axiais e 6 repetições no ponto central, totalizando 20 ensaios. Na

Tabela 1 estão dispostos os valores utilizados no planejamento. Os níveis foram definidos com base em valores típicos empregados em soluções nutrientes utilizando macrófitas aquáticas (Farnese et al., 2014; Leão et al., 2014; Andrade et al., 2016).

O valor de α foi calculado em função do número de variáveis independentes ($n = 3$) por meio da Equação 1. Os ensaios experimentais estão dispostas no Apêndice 1.

$$\alpha = (2^n)^{1/4} \quad (\text{Eq. 1})$$

Tabela 1. Valores utilizados no DCC

Variáveis	Códigos				
	$\alpha = -1,68$	-1	0	+1	$a = +1,68$
pH	3,94	5	6,5	8	9,02
P-PO ₄ (mmol L ⁻¹)	0	0,028	0,069	0,11	0,1379
N-NO ₃ (mmol L ⁻¹)	0,0887	2,85	6,9	10,95	13,71

As plantas foram expostas a concentração constante de arsênio no ensaio de otimização de 0,5 mg L⁻¹, na forma de arsenito de sódio (NaAsO₂), em recipientes de polietileno, com 2 L de solução final. Para fornecimento de macro e micronutrientes, utilizou-se a solução nutriente Clark (1975), exceto pelas concentrações de N-NO₃ e P-PO₄, os quais foram ajustadas de acordo com o que está apresentado na Tabela 1, utilizando os sais de NaNO₃ e NaH₂PO₄, respectivamente.

O período de exposição foi de 10 dias. Ao longo deste período, foram monitorados diariamente os parâmetros pH, potencial de oxirredução (Eh) e condutividade elétrica da água em todos os 20 ensaios. Ao final do período de exposição, foi computada a evapotranspiração pela diferença inicial e

final do volume da solução bem como realizada a validação do modelo matemático obtido.

Após a obtenção do modelo matemático que relaciona a absorção de As do meio com as variáveis pH, P-PO₄ e N-NO₃, fez-se a validação do mesmo por meio de dois ensaios independentes, em que foram estabelecidas as mesmas condições do ensaio de otimização e níveis aleatórios de pH, P-PO₄ e N-NO₃. Ao final de 10 dias, avaliou-se a remoção de arsênio e comparou-se com o modelo ajustado

2.3. Determinação do arsênio total e fósforo total e especiação (As(III) e As(V))

O arsênio e o fósforo total foram determinados na água, raízes e folhas das plantas após 10 dias de exposição. Para as partes vegetais, separaram-se raízes e folhas para quantificação. Fez-se a digestão ácida com 10 mL de uma mistura contendo uma parte de ácido nítrico e três partes de ácido perclórico, sob temperatura de 100 °C, para que não houvesse volatilização de As. Os elementos químicos foram analisados no Espectrômetro de Emissão de Plasma ICP-EOS, Perkin Elmer Modelo Optima 8300 DV, no Departamento de Solos da UFV.

Para quantificação das formas As(III) e As(V) na água, ao final do período de exposição, as amostras foram filtradas em membranas de 0,45 µm e armazenadas em baixa temperatura (< 4 °C). A especiação foi realizada usando um espectrômetro de fluorescência atômica com geração de hidretos (HG-AFS), a PS Analytical modelo 10.055 Excalibur, acoplado a uma coluna de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As condições cromatográficas e parâmetros instrumentais para HPLC-HG-AFS estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2. Condições experimentais para especiação de arsênio

HPLC	
Coluna	Hamilton PRP-X100 (250 mm x 4,1 mm i.d., Diâmetro de partículas da coluna: 10 µm)
Fase Móvel	15 mmol L ⁻¹ de fosfato de potássio (KH ₂ PO ₄ , K ₂ HPO ₄) ajustado para pH 6.
Loop de amostra	200 µL
Vazão	1,4 mL min ⁻¹
HG	
NaBH ₄ /NaOH*	1,8% (m/v) NaBH ₄ em 0,1 mol L ⁻¹ NaOH; 2 mL min ⁻¹
Solução Ácida*	12,5% (v/v) HCl; 2 mL min ⁻¹
NaBH ₄ /NaOH**	0,9% (m/v) NaBH ₄ em 0,1 mol L ⁻¹ NaOH; 4 mL min ⁻¹
Solução Ácida**	25% (v/v) HCl; 9 mL min ⁻¹
Vazão de amostra	9 mL min ⁻¹
AFS	
Detector	Excalibur (PS Analytical, modelo 10.055)
Lâmpada	Arsênio (193,7 nm)
Corrente primária	27,5 mA
Corrente de impulso	35,0 mA
Gás de arraste	Argônio, 400 mL min ⁻¹
Gás de secagem	Argônio, 1 L min ⁻¹

*Parâmetro para o sistema HPLC-HG-AFS.

** Parâmetro para o sistema HG-AFS.

2.4. Avaliação do desempenho da planta, fator de bioacumulação e translocação

Para avaliação do desempenho do aguapé após o período experimental, calculou-se a taxa de crescimento relativo (TCR) e o índice de tolerância (IT). Para obtenção da TCR, ao final dos ensaios, as plantas foram abundantemente lavadas com água deionizada e colocadas em estufa de ventilação forçada a 65 °C até obtenção da massa seca constante. A massa seca inicial foi obtida a partir de estimativa do conteúdo de água das plantas, nas mesmas condições utilizadas no ensaio experimental, fazendo a relação entre a massa fresca e seca.

A TCR foi calculada utilizando-se a equação (Eq. 2) proposta por Fisher (1921), usando a massa seca das plantas:

$$TCR = \frac{\ln(m_1) - \ln(m_0)}{t_1 - t_0} \times 1000 \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que:

TCR: representa a taxa de crescimento relativo ($\text{mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$);

$\ln(m_1)$: logaritmo natural da massa seca final (g);

$\ln(m_0)$: logaritmo natural da massa seca inicial (g);

t_0 : tempo inicial (d);

t_1 : tempo final (d).

O índice de tolerância (IT) ao As foi obtido utilizando-se a equação proposta por Wilkins (1978) (Eq. 3):

$$IT (\%) = \frac{TCR}{TCR^*} \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que,

TCR: taxa de crescimento da planta na solução com As;

TCR*: taxa de crescimento da planta na solução controle, sem contaminação por As.

Para avaliação do potencial da planta em acumular arsênio, foram utilizados como indicadores o fator de translocação (FT) e o fator de bioacumulação (FB). O FT demonstra a eficiência da planta em transportar um elemento da raiz para a parte aérea. Já o FB avalia a eficiência da planta em acumular o elemento, levando em consideração a concentração deste no meio. O FB e FT foram estimados de acordo com as Equações 4 e 5, respectivamente (Ma et al., 2001; Srivastava et al., 2005):

$$FB = \frac{\text{Concentração As na planta (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentração As na solução (mg L}^{-1}\text{)}} \quad (\text{Eq. 4})$$

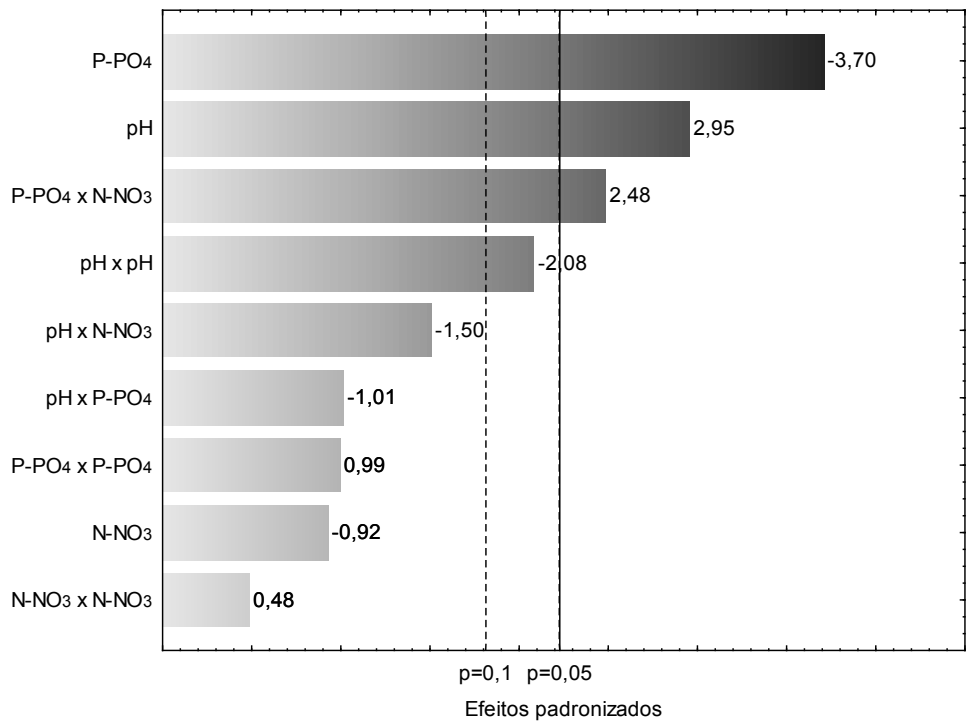
$$FT = \frac{\text{Concentração As na parte aérea (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentração As na raiz (mg kg}^{-1}\text{)}} \quad (\text{Eq. 5})$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

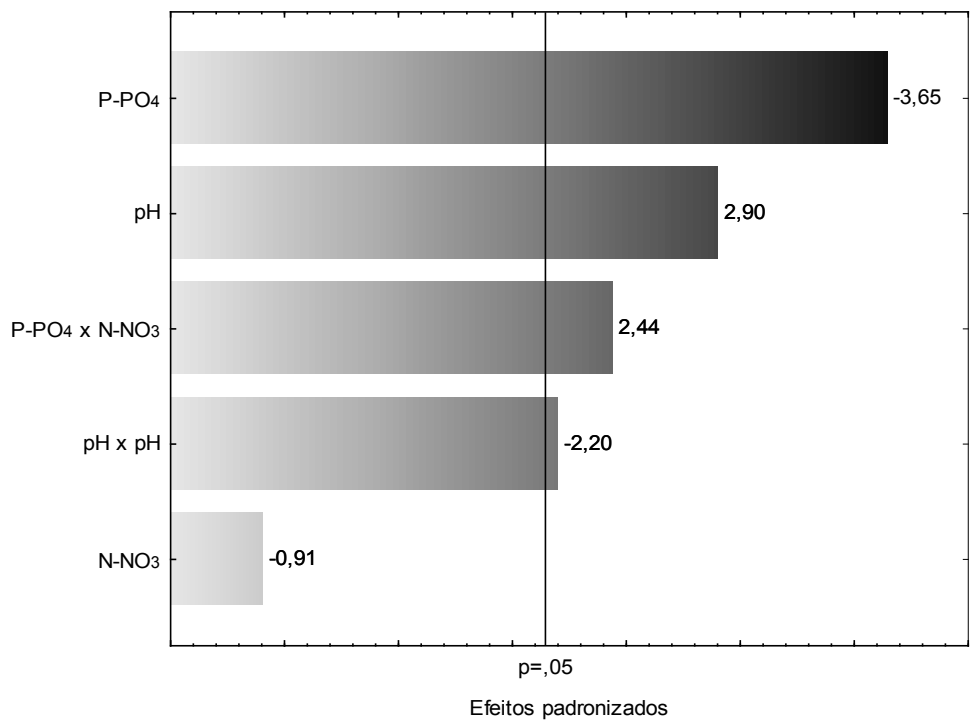
3.1. Otimização da absorção arsênio pelo aguapé

A exposição do aguapé ao arsênio implicou na absorção e acúmulo do metaloide em proporções diferentes de acordo com os níveis de pH (X_1) e concentrações de fósforo na forma de fosfato P- PO_4 (X_2) e nitrogênio sob a forma de nitrato N- NO_3 (X_3). Pode-se observar no gráfico de Pareto (Figura 1a), a representatividade de cada variável no modelo de regressão proposto, para níveis de significância de 5 e 10%, sendo a variável resposta massa de arsênio removida por unidade de massa da planta seca ($As_{\text{removido}}/M_{\text{planta}}$).

Optou-se por utilizar o nível de significância de 5% e eliminar as variáveis não significativas em um modelo hierárquico. Assim, as variáveis que passaram a compor o modelo foram (Figura 1b): pH, P- PO_4 , N- NO_3 devido a hierarquia do modelo, e os efeitos pH x pH e P- PO_4 x N- NO_3 . Pode-se observar que a concentração de nitrato, individualmente, no presente estudo não interferiu na absorção de arsênio pela espécie vegetal.



(a)



(b)

Figura1. Gráfico de Pareto correspondente (a) todas as variáveis e (b) as variáveis utilizadas no modelo de regressão em nível de 5% de significância.

Na Figura 2 está disposta a relação entre os valores experimentais e valores preditos. Observa-se que dada a complexidade do processo, o modelo proposto descreve satisfatoriamente a dinâmica do processo de fitorremediação de arsênio pela espécie *Eichhornia crassipes*.

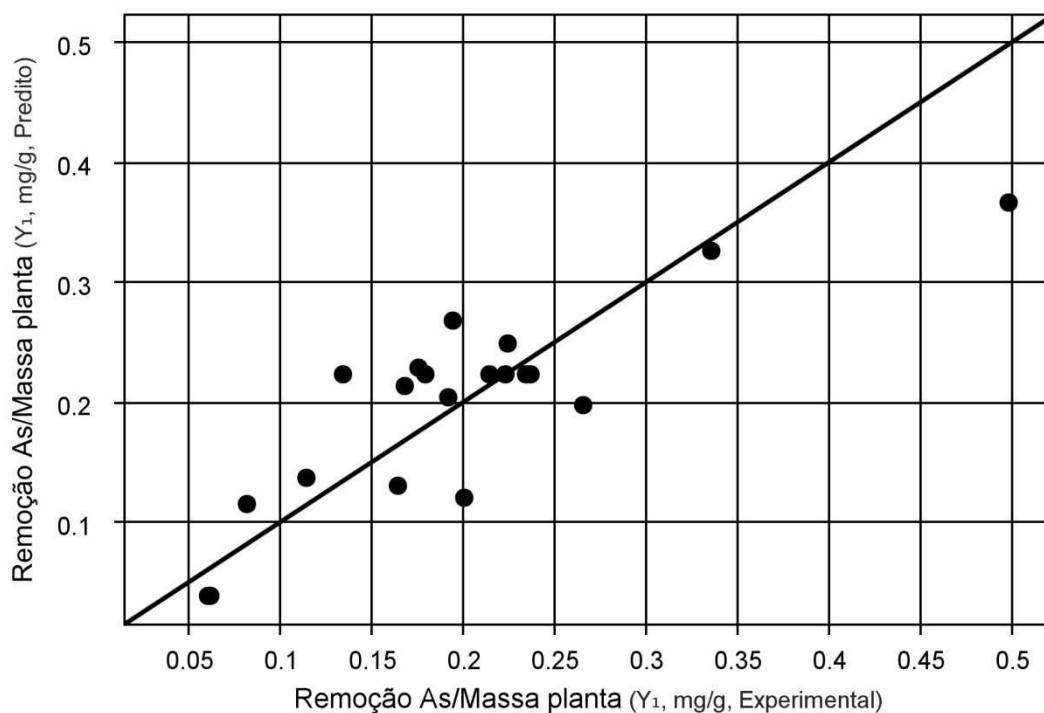


Figura 2. Correlação entre os dados experimentais e o modelo matemático proposto.

Na Tabela 3 visualiza-se a análise de variância (ANOVA) do modelo proposto (Eq. 6) Os coeficientes de determinação R^2 , $R^2_{ajustado}$ e $R^2_{predito}$ foram 70,63%, 60,14% e 30,86%, respectivamente. Pode-se observar que a falta de ajuste foi não significativa em nível de 5%, fato desejável na obtenção de um modelo de regressão (Equação 6).

Tabela 3. Análise de Variância (ANOVA) do modelo de regressão para remoção de arsênio pelo aguapé

Fonte de Variação	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F Calculado	P valor
Modelo	5	0,129	0,026	6,73	0,002*
Linear	3	0,087	0,029	7,54	0,003*
pH	1	0,032	0,032	8,46	0,011*
P-PO ₄	1	0,051	0,051	13,32	0,003*
N-NO ₃	1	0,003	0,003	0,83	0,377
Quadrado	1	0,019	0,019	4,87	0,045*
pH*pH	1	0,019	0,019	4,87	0,045*
Interação com 2 Fatores	1	0,023	0,023	5,98	0,028*
P-PO ₄ *N-NO ₃	1	0,023	0,023	5,98	0,028*
Resíduo	14	0,054	0,004		
Falta de ajuste	9	0,046	0,005	3,23	0,105
Erro puro	5	0,008	0,002		
Total	19	0,183			

GL: Graus de Liberdade

* Valores significativos em nível de 5% de significância.

O modelo matemático que relaciona massa de arsênio removida por unidade de massa da planta seca ($A_{sremovido}/M_{planta}$, em $mg\ g^{-1}$) e os níveis de pH, P-PO₄ e N-NO₃ está descrito a seguir (Eq. 6):

$$A_{sremovido}/M_{planta} = -0,368 + 0,2362(pH) - 3,718(P) - 0,026(N) - 0,01568(pH \times pH) + 0,322(P \times N) \quad (\text{Eq. 6})$$

Em que,

pH: potencial hidrogeniônico;

P: Concentração de fósforo na forma de fosfato (P-PO₄), em $mmol\ L^{-1}$;

N: Concentração de nitrogênio na forma de nitrato (N-NO₃), em $mmol\ L^{-1}$.

Após realização dos ensaios de validação, comparou-se com o modelo ajustado, conforme disposto na Tabela 4. Observou-se boa predição do modelo quando comparado aos resultados experimentais.

Tabela 4. Resultado dos ensaios de validação do modelo de regressão

Variável	Validação 1	Validação 2
pH	4,4	7,53
P-PO ₄ (mmol L ⁻¹)	0,1379	0
N-NO ₃ (mmol L ⁻¹)	13,7113	0,0887
As_{removido}/M_{planta} (mg g⁻¹)		
Modelo de regressão	0,1079	0,5193
Experimento	0,1113	0,4793
Relação Modelo/Experimento	0,97	1,08

As superfícies de resposta obtidas por meio dos gráficos de contorno estão dispostas nas Figuras 3, 4 e 5. Ao se analisar o gráfico que relaciona as concentrações de nitrogênio-nitrato e fósforo-fosfato (Figura 3), pode-se observar que a maior remoção de arsênio pelo aguapé ocorre nos níveis mínimos de ambas variáveis. Com relação ao fósforo, tal tendência era esperada, uma vez que o arsênio, quando na forma pentavalente, é absorvido via transportadores de fosfato (Zhao et al., 2009; Leão et al., 2014). Assim, há uma competição da absorção de arsênio e fósforo pela planta.

Os dados demonstraram que a maior absorção de arsênio ocorre quando não há fósforo disponível na solução, ou seja, concentração 0 mmol L⁻¹ de P-PO₄. Resultados semelhantes foram encontrados por Liu et al. (2004) que, ao verificarem a absorção de arsênio por um cultivar de arroz (*Oryza sativa*) em uma solução com 0,5 mg L⁻¹ de As, concluíram que o processo foi favorecido nas condições em que não havia fosfato. Wang et al. (2002), ao estudarem o comportamento, no solo, da espécie

hiperacumuladora de arsênio, *Pteris vittata*, constatou que o aumento da concentração de fosfato reduz, significativamente, a absorção de arsenato.

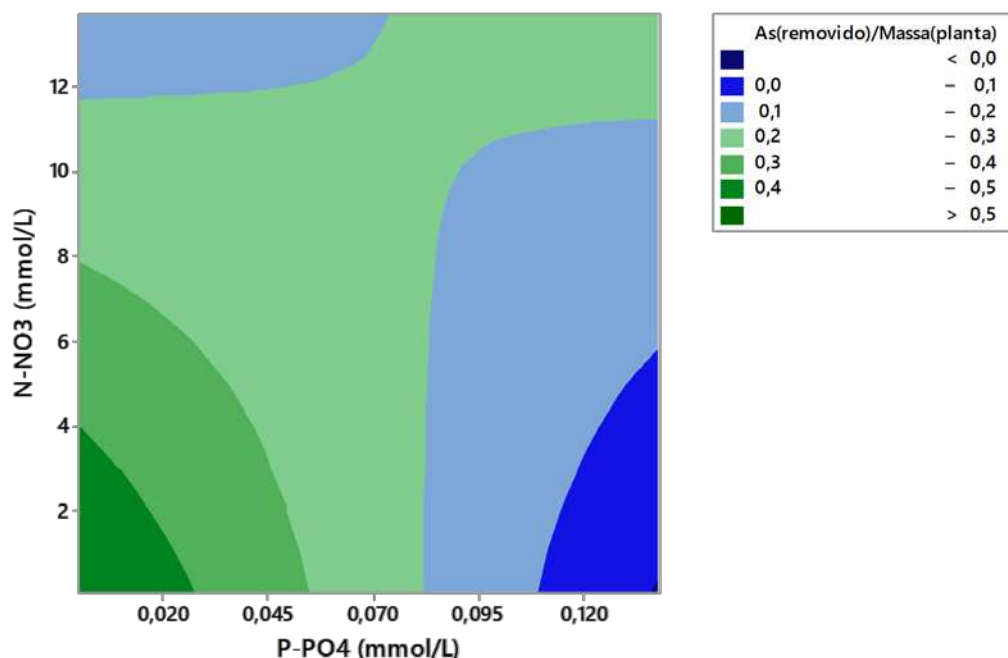


Figura 3. Gráfico de Contorno relacionando as concentrações de N-NO₃ e P-PO₄ e a variável resposta massa de As removido por unidade de massa seca da planta (mg g⁻¹) com pH fixo de 6,5.

O nitrato, individualmente, não resultou em alteração da absorção de As pela *E. crassipes*. Todavia, quando combinado com a concentração de fósforo, o modelo indica que quanto menor a concentração de N-NO₃, maior a remoção de As pela espécie vegetal. Esperava-se influência do nitrato no estado de oxidação do As disponível no meio, uma vez que o NO₃ influencia o potencial de oxirredução. Todavia, como será abordado a seguir, após o período de ensaio, 10 dias, a maior parte do metal encontrava-se no estado oxidado (As(V)) e não houve grandes variações no potencial redox do meio. Assim, o ótimo para a fitorremediação de As pelo aguapé, nas condições estudadas, ocorreu sob nível mínimo de nitrato no meio, a qual foi de 0,0887 mmol L⁻¹ de N-NO₃.

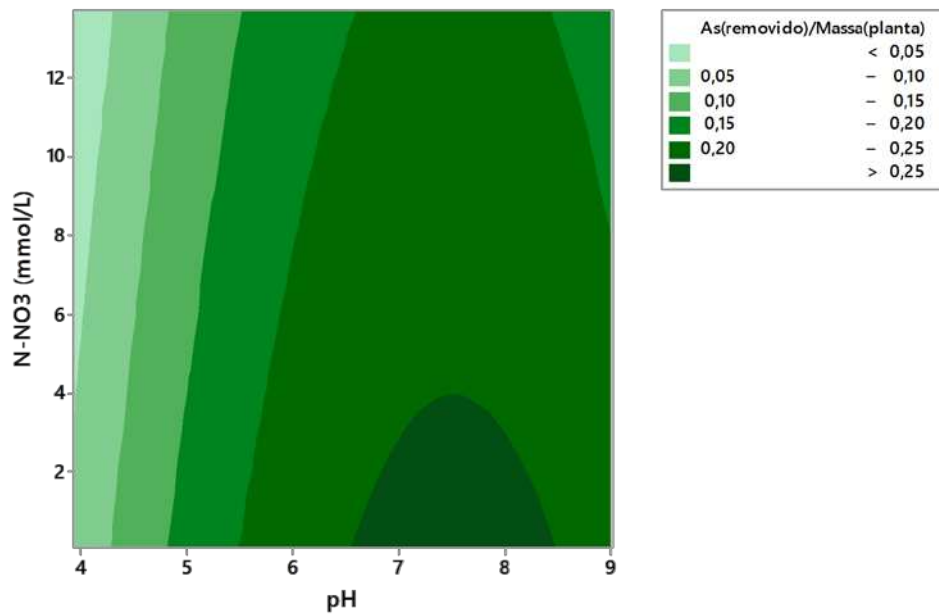


Figura 4. Gráfico de Contorno relacionando a concentração de N-NO₃ e o pH, sendo a variável resposta massa de As removido por unidade de massa seca da planta (mg g⁻¹) para concentração fixa de 0,069 mmol L⁻¹ de P-PO₄.

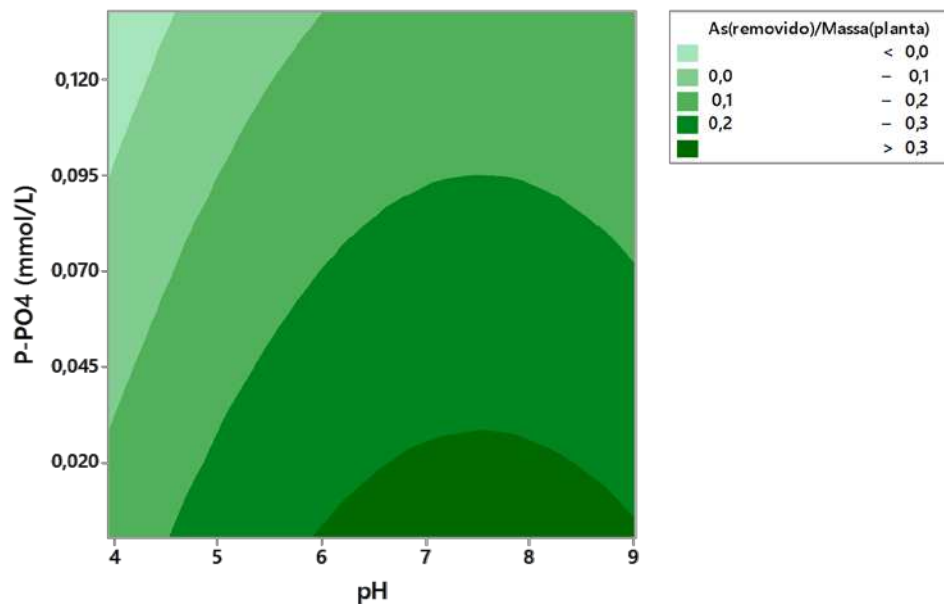


Figura 5. Gráfico de Contorno relacionando a concentração de P-PO₄ e o pH, sendo a variável resposta massa de As removido por unidade de massa seca da planta (mg g⁻¹) para concentração fixa de 6,9 mmol L⁻¹ de N-NO₃.

Com relação ao pH, no presente estudo mostrou-se que a absorção máxima de arsênio ocorreu no pH 7,53. Todavia, como pode ser observado nos gráficos de contorno (Figuras 4 e 5) e pelas funções de desejabilidade (Figura 6), a absorção não é expressivamente afetada nos valores de pH entre 6,4 e 8,6.

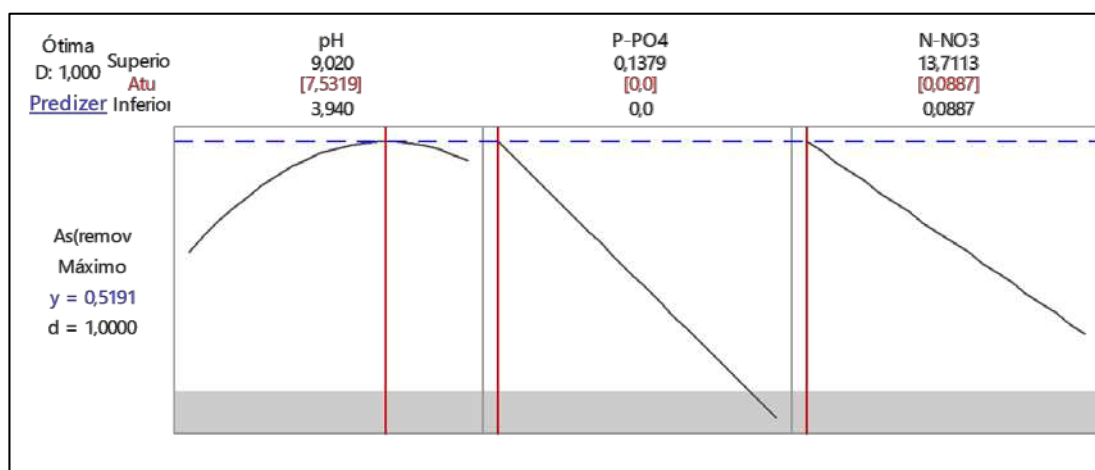


Figura 6. Funções de desejabilidade da otimização da remoção de As pela *E. crassipes*.

A máxima absorção de arsênio alcançada nas condições experimentais aqui testadas foi de 0,4984 mg g⁻¹ da *E. crassipes*. Em termos de eficiência, alcançou-se 83% de redução da concentração inicial de arsênio do meio aquoso. Observações semelhantes foram evidenciadas por Snyder (2006), no qual essa espécie removeu 97% do As contido em solução na concentração de 0,3 mg L⁻¹. Mishra et al. (2008) também verificaram que o aguapé foi capaz de remover até 80% do arsênio da água, em uma exposição de 0,05 mg L⁻¹, demonstrando maior absorção, quando comparada as espécies *Lemna minor* e *Spirodela polyrrhiza*. Alvarado et al. (2008) compararam as espécies *Lemna minor* e *Eichhornia crassipes* e o aguapé revelou-se mais eficiente, removendo 1,8 mg kg⁻¹ (base úmida) em uma exposição de 0,15 mg L⁻¹. A. Em estudo realizado por (Misbahuddin e

Fariduddin, 2002), *E. crassipes* removeu 100% do As contido em solução 0,4 mg L⁻¹.

3.2. Absorção de fósforo

A concentração de fósforo no meio aquoso foi avaliada ao final do experimento em todos os 20 ensaios. A análise estatística destes dados indicou que a absorção de fósforo pelo aguapé não é influenciada pelo nível de pH e concentração de nitrato, e apenas pela própria concentração de fósforo do meio, em nível de 5% de significância, como pode ser observado na gráfico de Pareto (Figura 7). Os resultados mostraram que a concentração de fósforo na água se relaciona com a absorção de fósforo de maneira linear. Tal fato justifica a menor absorção de As pelas plantas em níveis elevados de P-PO₄, uma vez que são absorvidos via mesmo mecanismo na planta.

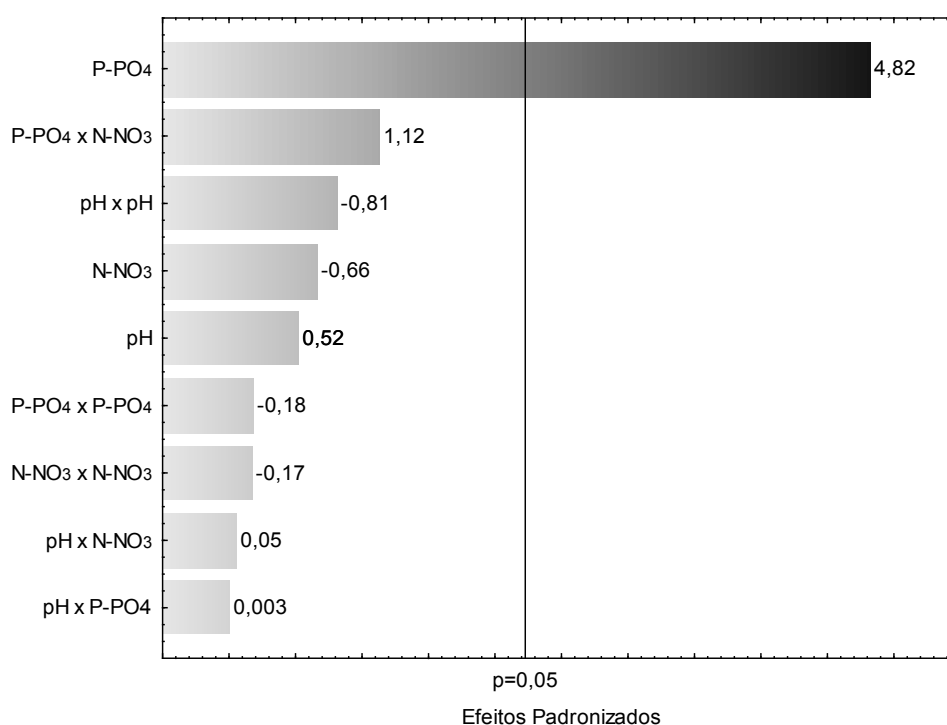


Figura 7. Gráfico de Pareto correspondente a absorção de fósforo pela *E. crassipes*.

A equação de regressão em unidades não codificadas que relaciona a massa de fósforo removida por unidade de massa seca de *E. crassipes* (mg g⁻¹) com a concentração de P-PO₄ (mmol L⁻¹) na água está disposta a seguir. Tal dado tem utilidade em corpos hídricos eutrofizados ou tratamento terciário de efluentes em que se queira priorizar a remoção de fósforo do meio.

$$P\text{-PO}_4(\text{removido})/\text{Massa}(\text{planta}) = 0,358 + 22,96(P\text{-PO}_4) \quad (\text{Eq. 7})$$

Sugere-se utilizar a equação como indicadora de tendência da remoção de fósforo, uma vez que o coeficiente de determinação não foi satisfatório, como pode-se verificar na Tabela 5.

Tabela 5. Análise de Variância (ANOVA) do modelo de regressão para remoção de fósforo pelo aguapé

Fonte de Variação	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F Calculado	P valor	R ²
Modelo	1	12,096	12,0957	33	<0,001*	64,7%
Linear	1	12,096	12,0957	33	<0,001*	
P-PO ₄	1	12,096	12,0957	33	<0,001*	
Resíduo	18	6,598	0,3666			
Falta de ajuste	13	5,107	0,3928	1,32	0,405	
Erro puro	5	1,491	0,2982			
Total	19	18,694				

GL: Graus de Liberdade

* Valores significativos em nível de 5% de significância.

3.3. Desempenho do aguapé

Em nível de 5% de significância, nenhuma das condições do meio, pH, P-PO₄ e N-NO₃ influenciaram a taxa de crescimento relativo (TCR), o

índice de tolerância (IT) e o fator de translocação (FT) (Tabela 6). Este resultado demonstra que a absorção de arsênio, na concentração testada (0,5 mg L⁻¹ de As), não influenciou o desempenho da planta bem como na translocação para parte aérea.

Em média, observou-se um fator de translocação de 0,2. Verificou-se, nas condições testadas que o arsênio apresentou baixa mobilidade nas plantas e, conseqüentemente, reduzida translocação das raízes para a parte aérea. Tal fato é amplamente reportado na literatura com relação ao As, exceto para espécies hiperacumuladoras, em que o FT é maior que um (Misbahuddin e Fariduddin, 2002; Mishra et al., 2008; Zhao et al., 2009; Zhao et al., 2010). Plantas com baixo FT (< 0,1) são chamadas de excludoras, em função da restrita translocação de As das raízes para a parte aérea (Zhao et al., 2009).

Tabela 6. Índices de desempenho do aguapé

Ensaio	pH	P-PO ₄ (mmol L ⁻¹)	N-NO ₃ (mmol L ⁻¹)	TCR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	IT (%)	FB	FT
1	5	0,028	2,85	22,2	94,1	466	0,2
2	5	0,028	10,95	15,3	65,1	395	0,1
3	5	0,11	2,85	20,7	87,9	145	0,1
4	5	0,11	10,95	24,5	104,0	196	1,3
5	8	0,028	2,85	35,1	148,7	1192	0,2
6	8	0,028	10,95	13,7	58,1	420	0,0
7	8	0,11	2,85	10,8	45,8	272	0,0
8	8	0,11	10,95	23,4	99,3	402	0,1
9	3,94	0,069	6,9	24,5	103,8	148	0,1
10	9,02	0,069	6,9	20,4	86,5	458	0,3
11	6,5	0	6,9	22,3	94,6	801	0,0
12	6,5	0,1379	6,9	1,2	5,0	480	0,4
13	6,5	0,069	0,0887	37,6	159,5	537	0,3
14	6,5	0,069	13,7113	5,2	22,0	634	0,2
15	6,5	0,069	6,9	35,1	149,0	560	0,0
16	6,5	0,069	6,9	25,7	109,0	513	0,1
17	6,5	0,069	6,9	8,2	34,8	534	0,1
18	6,5	0,069	6,9	23,5	99,5	322	0,1
19	6,5	0,069	6,9	7,3	30,9	565	0,3
20	6,5	0,069	6,9	7,4	31,6	430	0,1

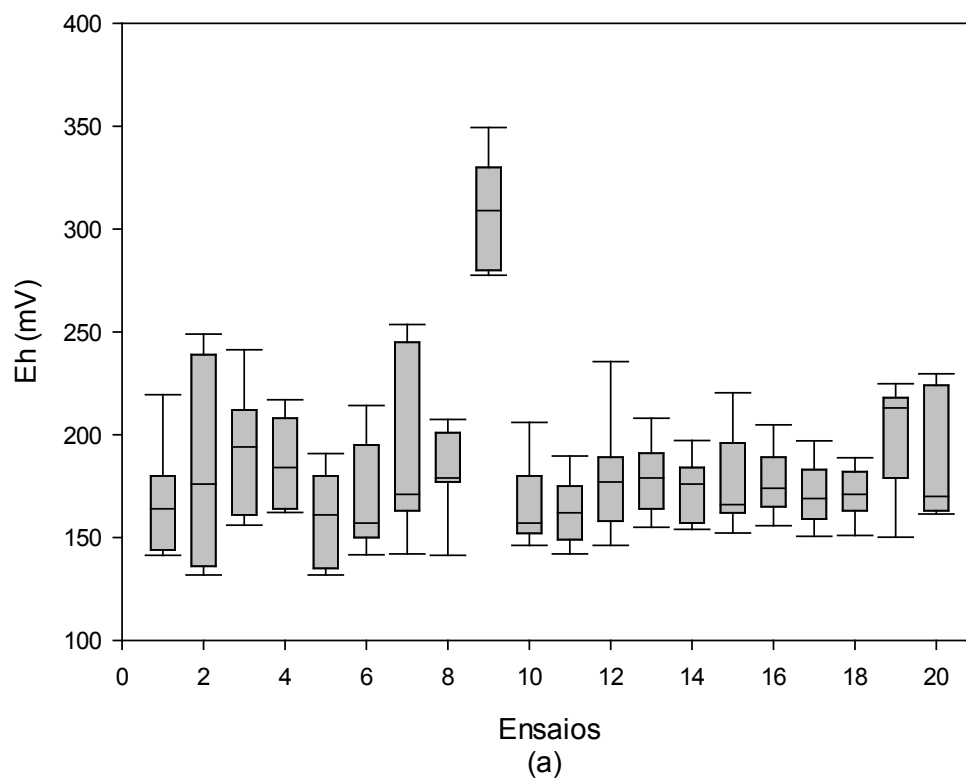
O fator de bioacumulação (FB) variou de 1192 a 145, tendo uma média de 470, sendo os maiores valores encontrados nos níveis ótimos de pH (7,53), P-PO₄ (0 mmol L⁻¹) e N-NO₃ (0,0887 mmol L⁻¹), podendo, sob essas condições, se alcançar um FB máximo de 1240 de acordo com o modelo ajustado. Altos valores de FB em macrófitas implicam em espécies com potencial para bioindicação e fitorremediação de ambientes aquáticos contaminados por As. Valores de FB maiores que 1000 e FT maiores que 1 indicam que a espécie vegetal é hiperacumuladora (Baker et al., 1994; Liu et al., 2004; Kramer, 2010). No entanto, não se pode descartar a utilização de uma espécie para fitorremediar um local apenas com base nestes fatores. Deve-se levar em conta outros fatores, em que destaca-se a taxa de crescimento e produtividade de biomassa (Wang et al., 2002).

3.4. Especiação do Arsênio

Após o período de 10 dias, as amostras da solução foram avaliadas com relação as concentrações do As(V) e As(III). Constatou-se que a maior parte do As, em média 94%, encontrava-se na forma pentavalente, como pode ser verificado na Tabela 7. Esse resultado é condizente com reportado na literatura em relação à forma encontrada de arsênio, uma vez que a forma mais estável do As é no estado oxidado. A concentração de nitrato e o pH do meio não influenciaram o especiação do arsênio ao final desses 10 dias. O monitoramento do potencial de oxirredução bem como o pH nos 20 ensaios durante os 10 dias podem ser visualizados nos gráficos Box plot, na Figura 8. Nota-se que o pH foi alterado ao longo do período de ensaio, tendendo à neutralidade, exceto nos ensaios 9 e 10, pontos α da variável pH.

Tabela 7. Proporção de As(III) e As(V), de acordo com os ensaios realizados

Ensaio	pH	P-PO ₄ (mmol L ⁻¹)	N-NO ₃ (mmol L ⁻¹)	% As(V)	% As(III)
1	5	0,028	2,85	90,79	9,21
2	5	0,028	10,95	97,39	2,61
3	5	0,11	2,85	94,98	5,02
4	5	0,11	10,95	96,33	3,67
5	8	0,028	2,85	97,00	3,00
6	8	0,028	10,95	96,75	3,25
7	8	0,11	2,85	95,61	4,39
8	8	0,11	10,95	96,08	3,92
9	3,94	0,069	6,9	93,37	6,63
10	9,02	0,069	6,9	89,68	10,32
11	6,5	0	6,9	88,31	11,69
12	6,5	0,1379	6,9	93,00	7,00
13	6,5	0,069	0,0887	93,62	6,38
14	6,5	0,069	13,7113	86,20	13,80
15	6,5	0,069	6,9	91,53	8,47
16	6,5	0,069	6,9	92,08	7,92
17	6,5	0,069	6,9	92,37	7,63
18	6,5	0,069	6,9	98,19	1,81
19	6,5	0,069	6,9	93,05	6,95
20	6,5	0,069	6,9	96,14	3,86



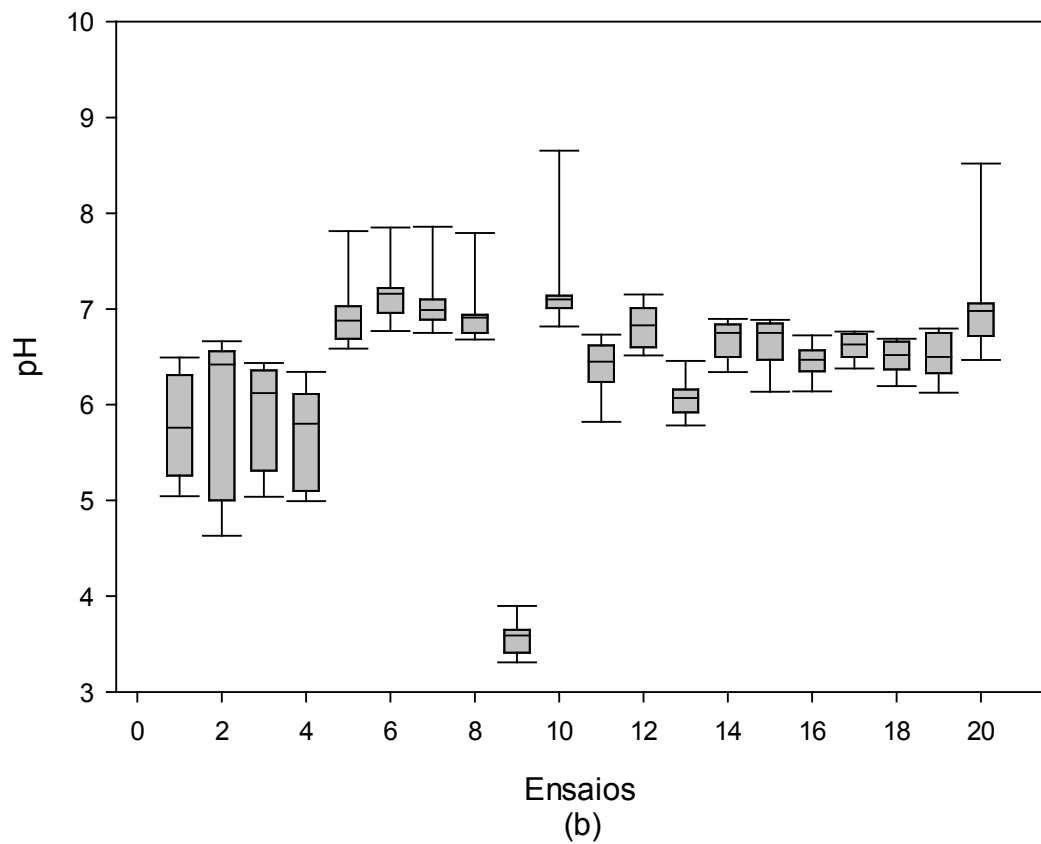


Figura 8. Monitoramento do Potencial de oxirredução (Eh) (a) e pH (b) durante os 10 dias de cultivo.

Nateewattana et al. (2010) monitoraram a concentração de arsênio em plantas aquáticas, água e sedimentos em lagoas de tratamento de efluentes na usina Mae Moh Lignite, na Tailândia. Estes autores verificaram que a absorção de As pela *E. crassipes* foi favorecida por condições redutoras, ou seja, baixo potencial redox.

4. CONCLUSÕES

- Os níveis ótimos para absorção de arsênio pela espécie vegetal *Eichhornia crassipes* foram alcançados em pH 7,5; ausência de fosfato e nível mínimo de nitrato ($0,0887 \text{ mmol L}^{-1}$);
- O modelo matemático proposto se ajustou de forma satisfatória aos dados obtidos bem como nos ensaios de validação;
- A *E. crassipes* foi capaz de acumular $498,4 \text{ mg kg}^{-1}$ de As (base seca) do meio aquoso e reduzir 83% da concentração inicial, que era de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$;
- A absorção de fósforo pela planta aumentou linearmente com a concentração de fósforo na solução e proporcionou decréscimo na absorção de arsênio pela planta;
- A concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de As na solução de cultivo não afetou significativamente o desempenho do aguapé, avaliado por meio da taxa de crescimento relativa e índice de tolerância.
- Em média, 94% do As(III) aplicado inicialmente foi convertido em As(V).

5. REFERÊNCIAS

ALVARADO, S.; GUEDEZ, M.; LUE-MERU, M. P.; NELSON, G.; ALVARO, A.; JESUS, A. C.; GYULA, Z. Arsenic removal from waters by bioremediation with the aquatic plants Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Lesser Duckweed (*Lemna minor*). *Bioresource technology*, v. 99, n. 17, p. 8436-8440, 2008.

ANDRADE, H. M.; OLIVEIRA, J. A.; FARNESE, F. S.; RIBEIRO, C.; SILVA, A. A.; CAMPOS, F. V.; NETO, J. L. Arsenic toxicity: cell signalling and the attenuating effect of nitric oxide in *Eichhornia crassipes*. *Biologia Plantarum*, v. 60, n. 1, p. 173-180, 2016.

BAKER, A. J. M.; REEVES, R. D.; HAJAR, A. S. M. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (Brassicaceae). *New Phytologist*, v. 127, n. 1, p. 61-68, 1994.

BERTOLERO, F.; POZZI, G.; SABBIONI, E.; SAFFIOTTI, U. Cellular uptake and metabolic reduction of pentavalent to trivalent arsenic as determinants of cytotoxicity and morphological transformation. *Carcinogenesis* v. 8, n. 6, p. 803–808, 1987.

BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, v. 76, n. 5, p. 965-977, 2008.

BRASIL. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília. 2011

CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 23, p. 458-460, 1975.

DASTGIRI, S.; MOSAFERI, M.; FIZI, M. A. H.; OLFATI, N.; ZOLALI, S.; POULADI, N.; AZARFAM, P. Arsenic Exposure, Dermatological Lesions, Hypertension, and Chromosomal Abnormalities among People in a Rural Community of Northwest Iran. *Journal of Health, Population, and Nutrition*, v. 28, n. 1, p. 14-22, 2010.

DUMAN, F.; OZTURK, F.; AYDIN, Z. Biological responses of duckweed (*Lemna minor* L.) exposed to the inorganic arsenic species As(III) and As(V): effects of concentration and duration of exposure. *Ecotoxicology*, v. 19, n. 5, p. 983-993, 2010.

FARNESE, F. S.; OLIVEIRA, J. A.; GUSMAN, G. S.; LEO, G. A.; SILVEIRA, N. M.; SILVA, P. M.; RIBEIRO, C.; CAMBRAIA, J. Effects of adding nitroprusside on arsenic stressed response of *Pistia stratiotes* L. under hydroponic conditions. *international Journal of Phytoremediation*, v. 16, n. 2, p. 123-137, 2014.

FISHER, R. A. Some remarks on the methods formulated in a recent article on 'The quantitative analysis of plant growth'. *Annals of Applied Biology*, v. 7, n. 4, p. 367-372, 1921.

GOMES, M. A.; HAUSER-DAVIS, R. A.; DE SOUZA, A. N.; VITORIA, A. P. Metal phytoremediation: General strategies, genetically modified plants and applications in metal nanoparticle contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 134P1, p. 133-147, 2016.

HADAD, H. R.; MAINE, M. A.; MUFARREGE, M. M.; DEL SASTRE, M. V.; DI LUCA, G. A. Bioaccumulation kinetics and toxic effects of Cr, Ni and Zn on *Eichhornia crassipes*. *Journal of Hazardous Materials*, v. 190, n. 1-3, p. 1016-1022, 2011.

JAFARI, N. Ecological and socio-economic utilization of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* Mart Solms). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, v. 14, n. 2, p. 43-49, 2010.

KHATAEE, A. R.; MOVAFEGHI, A.; TORBATI, S.; SALEHI LISAR, S. Y.; ZAREI, M. Phytoremediation potential of duckweed (*Lemna minor* L.) in degradation of C.I. Acid Blue 92: artificial neural network modeling. *Ecotoxicology environmental safety*, v. 80, p. 291-298, 2012.

KRAMER, U. Metal hyperaccumulation in plants. *Annu Rev Plant Biol*, v. 61, p. 517-534, 2010.

LEÃO, G. A.; DE OLIVEIRA, J. A.; FELIPE, R. T. A.; FARNESE, F. S.; GUSMAN, G. S. Anthocyanins, thiols, and antioxidant scavenging enzymes are involved in *Lemna gibba* tolerance to arsenic. *Journal of Plant Interactions*, v. 9, n. 1, p. 143-151, 2014.

LIN, Y.-L.; LI, B.-K. Removal of pharmaceuticals and personal care products by *Eichhornia crassipe* and *Pistia stratiotes*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 58, p. 318-323, 2016.

LIU, W. J.; ZHU, Y. G.; SMITH, F. A.; SMITH, S. E. Do phosphorus nutrition and iron plaque alter arsenate (As) uptake by rice seedlings in hydroponic culture? *New Phytologist*, v. 162, n. 2, p. 481-488, 2004.

LUTHER, S.; BORGFELD, N.; KIM, J.; PARSONS, J. G. Removal of arsenic from aqueous solution: A study of the effects of pH and interfering ions using iron oxide nanomaterials. *Microchemical Journal*, v. 101, p. 30-36, 2012.

MA, L. Q.; KOMAR, K. M.; TU, C.; ZHANG, W.; CAI, Y.; KENNELLEY, E. D. A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature*, v. 409, n. 6820, p. 579-579, 2001.

MEHARG, A. A.; HARTLEY-WHITAKER, J. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist*, v. 154, n. 1, p. 29-43, 2002.

MISBAHUDDIN, M.; FARIDUDDIN, A. Water Hyacinth Removes Arsenic from Arsenic-Contaminated Drinking Water. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, v. 57, n. 6, p. 516-518, 2002.

MISHRA, V. K.; UPADHYAY, A. R.; PATHAK, V.; TRIPATHI, B. D. Phytoremediation of Mercury and Arsenic from Tropical Opencast Coalmine Effluent Through Naturally Occurring Aquatic Macrophytes. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 192, n. 1, p. 303-314, 2008.

MKANDAWIRE, M.; DUDEL, E. G. Accumulation of arsenic in *Lemna gibba* L. (duckweed) in tailing waters of two abandoned uranium mining sites in Saxony, Germany. *Science of The Total Environment*, v. 336, n. 1-3, p. 81-89, 2005.

MOSAFERI, M.; TAGHIPOUR, H.; HASSANI, A. M.; BORGHEI, M.; KAMALI, Z.; GHADIRZADEH, A. Study of arsenic presence in drinking water sources: a case study. *Iran J Health Environ*, v. 1, 2008.

NATEEWATTANA, J.; TRICHAIYAPORN, S.; SAOUY, M.; NATEEWATTANA, J.; THAVORNYUTIKARN, P.; PENGCHAI, P.; CHOONLUCHANON, S. Monitoring of arsenic in aquatic plants, water, and sediment of wastewater treatment ponds at the Mae Moh Lignite power plant, Thailand. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 165, n. 1, p. 585-594, 2010.

QIN, H.; ZHANG, Z.; LIU, M.; LIU, H.; WANG, Y.; WEN, X.; ZHANG, Y.; YAN, S. Site test of phytoremediation of an open pond contaminated with domestic sewage using water hyacinth and water lettuce. *Ecological Engineering*, v. 95, p. 753-762, 2016.

RAHMAN, M. A.; HASEGAWA, H. Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere*, v. 83, n. 5, p. 633-646, 2011.

RAVENSCROFT, P.; BRAMMER, H.; RICHARDS, K. Health Effects of Arsenic in Drinking Water and Food. In. Arsenic Pollutioned.: Wiley-Blackwell, 2009. p. 157-212.

SALEH, H. M. Water hyacinth for phytoremediation of radioactive waste simulate contaminated with cesium and cobalt radionuclides. Nuclear Engineering and Design, v. 242, p. 425-432, 2012.

SASMAZ, M.; ARSLAN TOPAL, E. I.; OBEK, E.; SASMAZ, A. The potential of *Lemna gibba* L. and *Lemna minor* L. to remove Cu, Pb, Zn, and As in gallery water in a mining area in Keban, Turkey. Journal of Environmental Management, v. 163, p. 246-253, 2015.

SINGH, R.; SINGH, S.; PARIHAR, P.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 112, p. 247-270, 2015.

SNYDER, K. V. Removal of arsenic from drinking water by water hyacinths (*Eichhornia crassipes*). Journal of U.S. SJWP, v. 1, p. 41-58, 2006.

SRIVASTAVA, M.; MA, L. Q.; SINGH, N.; SINGH, S. Antioxidant responses of hyper-accumulator and sensitive fern species to arsenic. Journal of Experimental Botany, v. 56, n. 415, p. 1335-1342, 2005.

WANG, J.; ZHAO, F. J.; MEHARG, A. A.; RAAB, A.; FELDMANN, J.; MCGRATH, S. P. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata*. Uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation. Plant Physiol, v. 130, n. 3, p. 1552-1561, 2002.

WHO. Guidelines for Drinking-Water Quality. World Health Organisation, Geneva., v. 4, p. 315-318, 2011.

WILKINS, D. A. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. New Phytologist, v. 80, n. 3, p. 623-633, 1978.

ZHANG, X.; ZHAO, F.-J.; HUANG, Q.; WILLIAMS, P. N.; SUN, G.-X.; ZHU, Y.-G. Arsenic uptake and speciation in the rootless duckweed *Wolffia globosa*. *New Phytologist*, v. 182, n. 2, p. 421-428, 2009.

ZHAO, F. J.; MA, J. F.; MEHARG, A. A.; MCGRATH, S. P. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytol*, v. 181, n. 4, p. 777-794, 2009.

ZHAO, F. J.; MCGRATH, S. P.; MEHARG, A. A. Arsenic as a food chain contaminant: mechanisms of plant uptake and metabolism and mitigation strategies. *Annu Rev Plant Biol*, v. 61, p. 535-559, 2010.

CAPÍTULO III: ARTIGO TÉCNICO-CIENTÍFICO

Otimização da fitorremediação de arsênio utilizando a espécie vegetal *Lemna valdiviana*

RESUMO

A fitorremediação é uma técnica na qual se utilizam plantas para tratamento de meios contaminados e que tem apresentado crescente interesse de aplicação devido às suas vantagens, como a sustentabilidade na aplicação, bom custo-benefício, facilidade operacional e aplicação em áreas extensas. Assim, nesta pesquisa objetivou-se monitorar a influência dos parâmetros pH, concentração de fosfato e concentração de nitrato no processo de absorção de arsênio pela espécie *Lemna valdiviana*, utilizando-se a metodologia da superfície resposta para análise dos dados com intuito de subsidiar ações que possam maximizar o processo de fitorremediação. Utilizou-se o Delineamento Composto Central Rotacional, com 3 variáveis, incluindo 6 pontos axiais e 6 repetições no ponto central, totalizando 20 ensaios. As plantas foram expostas a concentração constante de arsênio no ensaio de otimização de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ (NaAsO_2) e níveis variados de pH, P-PO_4 e N-NO_3 em um período de 7 d. Ao final do experimento, foram computados as massas de arsênio removida do meio aquoso e de arsênio acumulado nas plantas, a espécie de arsênio presente, taxa de crescimento relativo das plantas (TCR), índice de tolerância (IT) e fator de bioacumulação (FB). A *Lemna valdiviana* absorveu maior quantidade de As quando cultivada sob condições de pH entre 6,3 e 7,0; concentração disponível de fósforo (P-PO_4) de $0,0488 \text{ mmol L}^{-1}$ e nitrogênio na forma de nitrato de $7,9 \text{ mmol L}^{-1}$. Nestas condições, a espécie foi capaz de acumular 1190 mg kg^{-1} de As (base seca) do meio aquoso e reduzir 82% da sua concentração inicial. Portanto, a *Lemna valdiviana* demonstrou ser uma macrófita hiperacumuladora de arsênio, com elevado potencial de fitorremediação de meios contaminados com esse metaloide.

Palavras chave: Metal pesado, fitoextração, arsenato, arsenito, lentilha d'água.

Optimization of arsenic phytoremediation using the plant species

Lemna valdiviana

ABSTRACT

Phytoremediation is a technique that uses plants to treat contaminated media, that has shown an increasing interest in application due to its advantages, such as sustainability, favorable cost-benefit relationship, simple operation and application in large areas. Thus, the objective of this research was to monitor the influence of pH, phosphate concentration and nitrate concentration on the arsenic absorption process by *Lemna valdiviana* species using the surface response methodology in order to subsidize actions that may maximize the phytoremediation process. A Rotational Central Composite Design was used with 3 variables and 6 axial points and 6 repetitions at the central point, totaling 20 trials. The plants were exposed to a fixed concentration of arsenic in the optimization test of 0.5 mg L^{-1} (NaAsO_2) and varied levels of pH, P- PO_4 and N- NO_3 in a period of 7 d. At the end of the experiment, the mass of arsenic removed from the aqueous medium, arsenic accumulated in plants, arsenic species, relative plant growth rate (RGR), tolerance index (TI) and bioaccumulation factor (BF) were determined. *Lemna valdiviana* absorbed more As at pH between 6.3 and 7.0; concentrations of available phosphorus (P- PO_4) of $0.0488 \text{ mmol L}^{-1}$ and nitrate of 7.9 mmol L^{-1} N. Under these conditions, the species was able to accumulate 1190 mg kg^{-1} As (dry basis) and reduce 82% of the initial concentration. Therefore, *Lemna valdiviana* has been shown to be an arsenic hyperaccumulating macrophyte with high phytoremediation potential of contaminated media with this metalloid.

Keywords: Heavy metal, phytoextraction, arsenate, arsenite, duckweed.

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por água devido aumento populacional tem se deparado com a deterioração da qualidade das águas superficiais e subterrâneas. Em muitos locais do mundo têm sido detectados elementos químicos e substâncias perigosas nestes meios, incluindo metais pesados e compostos orgânicos perigosos. O rápido crescimento industrial e o elevado progresso tecnológico são as principais fontes de contaminação. A poluição por metais pesados em ambientes aquáticos é, atualmente, um problema global. Sua elevada toxicidade está relacionada à persistência na natureza, não ser biodegradável e apresentar potencial de bioacumulação em animais e plantas (Sasmaz et al., 2015).

O arsênio é um elemento químico tóxico presente em águas e solos, o que o tornou grande ameaça para seres humanos e demais organismos. A concentração de arsênio na água pode se elevar devido a várias razões, como dissolução mineral, uso de pesticidas à base de As, lançamento de efluentes industriais, drenagem de minas e energia geotérmica. O arsênio pode existir em quatro diferentes estados de oxidação: (-III), (0), (III) e (V), no entanto, o arsenito (As(III)) e arsenato (As(V)) são as formas mais encontradas em solos e águas naturais (Can et al., 2014)

A contaminação por arsênio na água potável é um grave problema de saúde pública em muitos países ao redor do mundo (Dastgiri et al., 2010; Phan et al., 2010; Freitas-Silva et al., 2016). Sua exposição causa cânceres de pele, fígado, pulmão, rim e bexiga, além de outros problemas como doenças na epiderme, dores de cabeça e problemas neurológicos (Morales et al., 2000). Devido à natureza carcinogênica dos compostos de arsênio, esforços têm sido direcionados para redução de sua concentração na água a níveis o mais próximo possível de zero. Pela Organização Mundial da Saúde, o valor da diretriz para o arsênio na água potável é $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Who, 2011).

Vários métodos têm sido investigados para remoção de arsênio, incluindo troca iônica, coagulação e precipitação com sais de ferro e

alumínio, adsorção, eletrocoagulação, filtração por membranas, nanofiltração, eletrólise, osmose reversa, biorremediação e fitorremediação (Far et al., 2012; Cameselle et al., 2013; Bell et al., 2014; Can et al., 2014; Sasmaz et al., 2015).

A fitorremediação é a utilização de plantas para remover contaminantes do ambiente. Existe um crescente interesse na aplicação deste método devido suas inúmeras vantagens, como a sustentabilidade na aplicação, bom custo-benefício, facilidade operacional e aplicação em áreas extensas. Portanto, a técnica de fitorremediação apresenta elevado potencial na remoção de arsênio do meio aquoso e já tem sido aplicada com sucesso para o metal (Farnese et al., 2014; Leão et al., 2014; Sasmaz et al., 2015; Andrade et al., 2016)

As plantas utilizadas na fitorremediação apresentam grande variabilidade em suas respostas ao As e algumas espécies são capazes de acumular altos níveis de metaloide em seus tecidos (Meharg e Hartley-Whitaker 2002, Li et al., 2006). Um grupo de macrófitas que têm se destacado neste contexto são as *Lemna* sp. São plantas capazes de absorver grandes quantidades de metais tóxicos e que têm alta produção de biomassa, características essenciais ao uso de plantas para extração de poluentes (Dirilgen, 2011).

Li et al. (2011) considera que as lemnas são as macrófitas de maior potencial de utilização na fitorremediação para remoção de pesticidas e metais, dentre todas. Como vantagens adicionais da utilização da *Lemna* sp. pode-se citar seu baixo custo, alta capacidade de absorção do elemento químico, em suas diferentes espécies iônicas, possibilitar a minimização no uso de produtos químicos, redução no volume de lodo gerado e facilitar seu transporte (Khataee et al., 2012).

Estudos realizados por Alvarado et al. (2008), Duman et al. (2010), Khataee et al. (2012) e Sasmaz et al. (2015) reportaram a absorção de arsênio e relataram alguns mecanismos fisiológicos no processo de

fitorremediação utilizando a *Lemna* sp. Todavia, ainda são incipientes os estudos que verificaram as condições do meio que maximizam tal processo.

Assim, nesta pesquisa, objetivou-se monitorar a influência dos parâmetros pH, concentração de fosfato e concentração de nitrato no processo de absorção de arsênio pela espécie *Lemna valdiviana* utilizando-se a metodologia da superfície resposta, com intuito de maximizar o processo de fitorremediação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção e aclimação das plantas

As macrófitas da espécie *Lemna vadiviana* (lemná) foram coletadas no horto botânico da Universidade Federal de Viçosa, higienizadas e aclimatadas por dois meses, em recipientes de polietileno (0,30 x 0,30 x 0,22 m), contendo 2 L de solução nutritiva Clark (1975), pH 6,5 (Leão et al., 2014). As plantas foram mantidas em sala de crescimento de plantas, sob temperatura (25 ± 2 °C) e luminosidade controladas e fotoperíodo de 16 horas, sendo a solução nutritiva trocada a cada sete dias.

2.2. Delineamento e condições experimentais

O delineamento escolhido para o desenvolvimento deste trabalho foi o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), o qual possui um bom desempenho na otimização de experimentos. Utilizou-se como variável dependente a massa de arsênio removida por unidade de massa da planta seca ($As_{\text{removido}}/M_{\text{planta}}$), em mg g^{-1} . Tal escolha foi considerada pertinente uma vez que, apesar da seleção de tamanhos semelhantes, observou-se expressiva variação de massa entre as plantas.

As variáveis independentes avaliadas foram selecionadas de acordo uma extensa revisão bibliográfica, as quais foram: potencial hidrogeniônico (pH), concentração de fósforo na forma de fosfato (P- PO_4) e nitrogênio na forma de nitrato (N- NO_3).

O DCCR foi composto, portanto, de 3 variáveis (2^3), incluindo 6 pontos axiais e 6 repetições no ponto central, totalizando 20 ensaios. Na Tabela 1 estão dispostos os valores utilizados no planejamento. Os níveis foram definidos com base em valores típicos empregados em soluções nutritivas para macrófitas aquáticas (Farnese et al., 2014; Leão et al., 2014; Andrade et al., 2016).

O valor de α , parte axial do delineamento e representada por pontos extremos, foi calculado em função do número de variáveis independentes ($n = 3$) por meio da Equação 1. Os dados foram analisados utilizando os programas Minitab 17 e Protimiza. As corridas estão dispostas no Apêndice 1.

$$\alpha = (2^n)^{1/4} \quad (\text{Eq. 1})$$

Tabela 1. Valores utilizados no DCC

Variáveis	Códigos				
	$\alpha = -1,68$	-1	0	+1	$\alpha = +1,68$
pH	3,94	5	6,5	8	9,02
P-PO ₄ (mmol L ⁻¹)	0	0,028	0,069	0,11	0,1379
N-NO ₃ (mmol L ⁻¹)	0,0887	2,85	6,9	10,95	13,71

Aproximadamente 1 g de massa úmida da *L. valdiviana* foi exposta à concentração de 0,5 mg L⁻¹ de arsênio (preparada com arsenito de sódio - NaAsO₂), em 0,5 L acondicionada em recipientes de polietileno para condução do ensaio de otimização. Utilizou-se a solução nutriente Clark (1975) para fornecimento de macro e micronutrientes, à exceção de N-NO₃ e P-PO₄, cujas concentrações foram ajustadas de acordo com a Tabela 1, utilizando os sais de NaNO₃ e NaH₂PO₄, respectivamente. O período de exposição foi de 7 dias.

Após a obtenção do modelo matemático que relaciona a absorção de As pela *L. valdiviana* e as variáveis pH, P-PO₄ e N-NO₃, fez-se a validação do mesmo por meio de dois ensaios independentes, em que foram definidos níveis aleatórios de pH, P-PO₄ e N-NO₃, dentro dos limites estudados. Ao final de 7 dias de cultivo, avaliou-se a remoção de arsênio, que foi comparada com o valor estimado utilizando-se o modelo ajustado.

Ao longo deste período de experimentação, foram monitorados, diariamente, os parâmetros pH e potencial de oxirredução (Eh) e condutividade elétrica da água, em todos os 20 ensaios. Ao final do período de exposição, foi computada a evapotranspiração pela diferença inicial e final do volume da solução, bem como realizada a validação do modelo matemático obtido.

2.3. Determinação do arsênio total e fósforo total e especiação (As(III) e As(V))

As concentrações de arsênio e fósforo total foram quantificadas na água e nas plantas após 7 dias de cultivo. Avaliou-se as plantas por inteiro devido as suas dimensões. Para as plantas, fez-se a digestão ácida com 10 mL de uma mistura contendo uma parte de ácido nítrico e três partes de ácido perclórico, sob temperatura de 100 °C, para que não houvesse volatilização de As. Os elementos foram analisados no Espectrômetro de Emissão de Plasma ICP-EOS, Perkin Elmer Modelo Optima 8300 DV no Departamento de Solos da UFV.

Para quantificação das espécies As(III) e As(V) na água, ao final do período de exposição, as amostras foram filtradas em membranas de 0,45 µm e armazenadas em baixa temperatura (< 4 °C). A especiação foi realizada utilizando-se um espectrômetro de fluorescência atômica com geração de hidretos (HG-AFS), PS Analytical modelo 10.055 Excalibur, acoplado a uma coluna de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As condições cromatográficas e os parâmetros instrumentais para HPLC-HG-AFS estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Condições experimentais para especiação de arsênio

HPLC	
Coluna	Hamilton PRP-X100 (250 mm x 4,1 mm i.d., Diâmetro de partículas da coluna: 10 µm)
Fase Móvel	15 mmol L ⁻¹ de fosfato de potássio (KH ₂ PO ₄ , K ₂ HPO ₄) ajustado para pH 6.
Loop de amostra	200 µL
Vazão	1,4 mL min ⁻¹
HG	
NaBH ₄ /NaOH*	1,8% (m/v) NaBH ₄ em 0,1 mol L ⁻¹ NaOH; 2 mL min ⁻¹
Solução Ácida*	12,5% (v/v) HCl; 2 mL min ⁻¹
NaBH ₄ /NaOH**	0,9% (m/v) NaBH ₄ em 0,1 mol L ⁻¹ NaOH; 4 mL min ⁻¹
Solução Ácida**	25% (v/v) HCl; 9 mL min ⁻¹
Vazão de amostra	9 mL min ⁻¹
AFS	
Detector	Excalibur (PS Analytical, modelo 10.055)
Lâmpada	Arsênio (193.7 nm)
Corrente primária	27,5 mA
Corrente de impulso	35,0 mA
Gás de arraste	Argônio, 400 mL min ⁻¹
Gás de secagem	Argônio, 1L min ⁻¹

*Parâmetro para o sistema HPLC-HG-AFS.

** Parâmetro para o sistema HG-AFS.

2.4. Avaliação do desempenho da planta e fator de bioacumulação

Para avaliação do desempenho da Lemna, após o período experimental, calculou-se a taxa de crescimento relativo (TCR) e o índice de tolerância (IT). Para obtenção da TCR, ao final dos ensaios, as plantas foram abundantemente com lavadas com água deionizada e colocadas em estufa de ventilação forçada a 65 °C, até obtenção da massa seca constante. A massa seca inicial foi obtida a partir de estimativa do conteúdo de água nas plantas, nas mesmas condições utilizadas no ensaio experimental, efetuando-se o relacionamento entre a massa fresca e seca. A massa úmida inicial foi de 1 g, para todos os ensaios.

A TCR foi calculada utilizando-se a equação (Eq. 2), proposta por Fisher (1921), utilizando-se os valores de massa seca das plantas:

$$TCR = \frac{\ln(m_1) - \ln(m_0)}{t_1 - t_0} \times 1000 \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que:

TCR: representa a taxa de crescimento relativo ($\text{mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$);

$\ln(m_1)$: logaritmo natural da massa seca final (g);

$\ln(m_0)$: logaritmo natural da massa seca inicial (g);

t_0 : tempo inicial (d);

t_1 : tempo final (d).

O índice de tolerância (IT) ao As foi obtido utilizando-se a equação proposta por Wilkins (1978) (Eq. 3):

$$IT (\%) = \frac{TCR}{TCR^*} \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que,

TCR: taxa de crescimento da planta na solução com As;

TCR*: taxa de crescimento da planta na solução controle, sem contaminação por As.

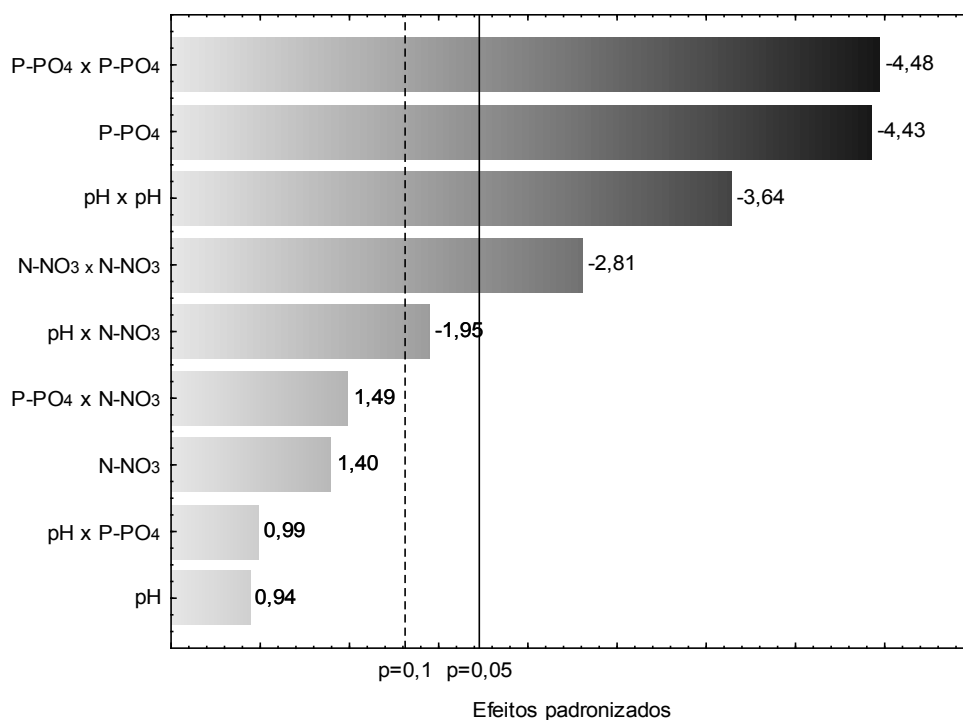
Para avaliação do potencial da planta em acumular arsênio, foi utilizado como indicador o fator de bioacumulação (FB). Este fator possibilita a avaliação da eficiência da planta em acumular o elemento químico, levando-se em consideração a concentração deste no meio. O FB foi estimado de acordo com a Equação 4 (Ma et al., 2001; Srivastava et al., 2005):

$$FB = \frac{\text{Concentração As na planta (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentração As na solução (mg L}^{-1}\text{)}} \quad (\text{Eq. 4})$$

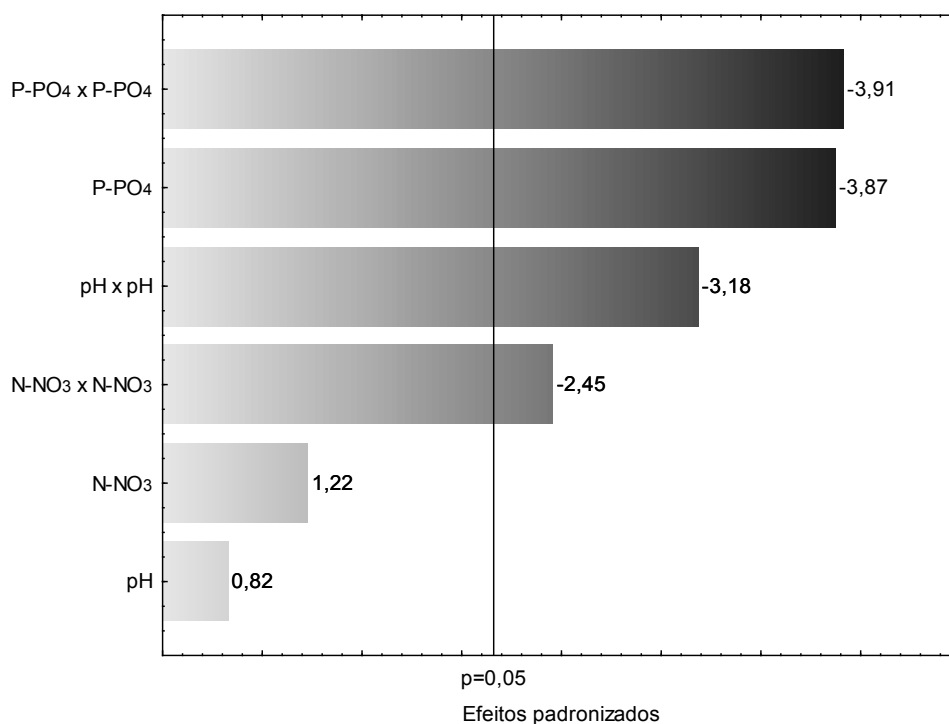
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Otimização da absorção de arsênio pela *Lemna*

Com os ensaios realizados, observou-se que a exposição da *lemna* ao arsênio proporcionou absorção e acúmulo da substância em níveis consideráveis. A absorção teve relação com os níveis de pH, concentrações de fósforo na forma de fosfato P-PO₄ e de nitrogênio sob a forma de nitrato N-NO₃ a um nível de 5% de significância. Pode-se observar no gráfico de Pareto (Figura 1) a representatividade de cada variável no modelo de regressão proposto, sendo a variável resposta massa de arsênio removida por unidade de massa da planta seca ($As_{\text{removido}}/M_{\text{planta}}$). Optou-se por eliminar as variáveis não significativas em um modelo hierárquico. Assim, as variáveis que passaram a compor o modelo foram (Figura 1b): pH, P-PO₄, N-NO₃ devido a hierarquia do modelo, e os efeitos pH x pH e P-PO₄ x P-PO₄ e N-NO₃ x N-NO₃.



(a)



(b)

Figura 1. Gráfico de Pareto para (a) todas as variáveis e (b) apenas para as variáveis utilizadas no modelo.

Na Figura 2 encontra-se apresentado o gráfico que relaciona os valores experimentais e valores preditos pelo modelo de regressão. O modelo apresentou coeficiente de determinação (R^2) de 77,07%, coeficiente ajustado de 66,48% e predito de 38,27%. O modelo proposto descreve satisfatoriamente a dinâmica do processo de fitorremediação de arsênio pela espécie *Lemna valdiviana*.

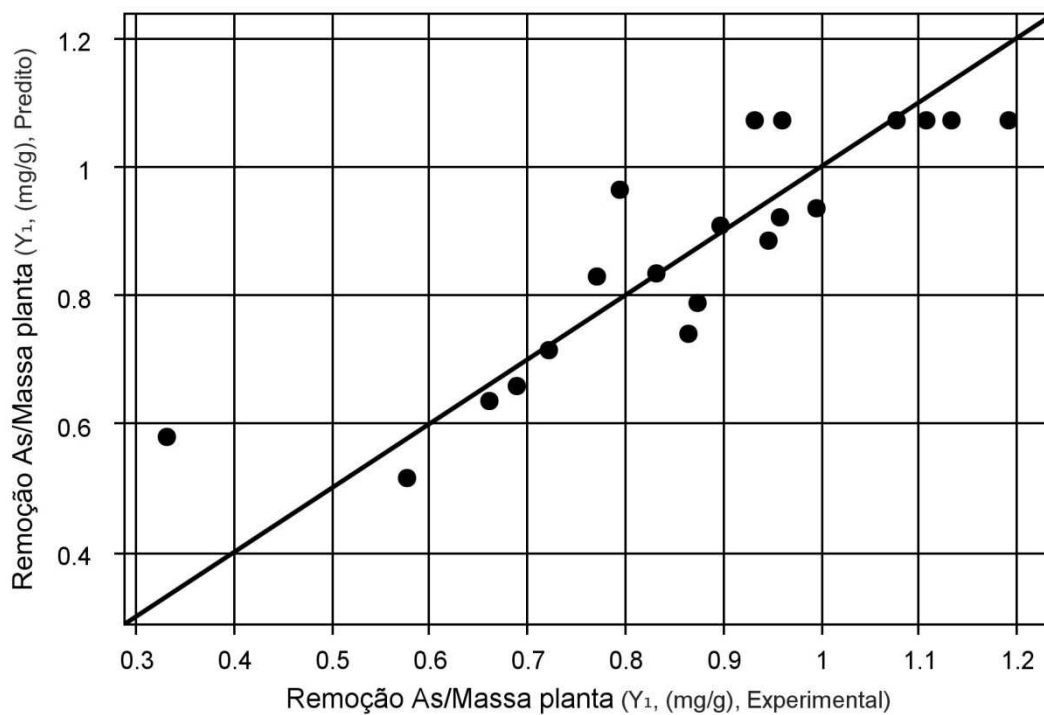


Figura 2. Relação entre dados experimentais e dados preditos pelo modelo de regressão.

A análise de variância (Tabela 3) compila os dados do modelo de regressão para absorção de arsênio pela Lemna. Pode-se observar que a falta de ajuste foi não significativa em nível de 5%, fato desejável na obtenção de um modelo de regressão.

Tabela 3. Análise de variância do modelo de regressão da absorção de As pela *Lemna valdiviana*

Fonte de Variação	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F Calculado	P valor
Modelo	6	0,620	0,103	7,280	0,001*
Linear	3	0,245	0,082	5,750	0,010*
pH	1	0,010	0,010	0,680	0,424
P-PO ₄	1	0,213	0,213	14,990	0,002*
N-NO ₃	1	0,022	0,022	1,580	0,231
Quadrado	3	0,376	0,125	8,820	0,002*
pH*pH	1	0,144	0,144	10,130	0,007*
P-PO ₄ * P-PO ₄	1	0,217	0,217	15,300	0,002*
N-NO ₃ * N-NO ₃	1	0,086	0,086	6,030	0,029*
Resíduo	13	0,185	0,014		
Falta de ajuste	8	0,133	0,017	1,610	0,310
Erro puro	5	0,052	0,010	*	*
Total	19	0,805			

GL: Graus de Liberdade

* Valores significativos em nível de 5% de significância.

Assim, de acordo com a análise estatística proposta pelo delineamento do composto central, a equação que relaciona a absorção de arsênio com os níveis de pH, fósforo (P-PO₄) e nitrogênio (N-NO₃) está disposta na Equação 5. Esse resultado condiz com as expectativas do projeto, uma vez que as variáveis foram selecionadas justamente por apresentar grande influência nas condições do meio.

$$As_{removido}/M_{planta} = -1,330 + 0,589(pH) + 7,05(P) + 0,0746(N) - 0,0439(pH \times pH) - 73,1(P \times P) - 0,0047(N \times N) \quad (\text{Eq. 5})$$

Em que,

$As_{removido}/M_{planta}$: Massa de arsênio removido (mg) por massa de planta seca (g)

pH: potencial hidrogeniônico;

P: concentração de fósforo na forma de fosfato, em mmol L⁻¹;

N: concentração de nitrogênio na forma de nitrato, em mmol L⁻¹.

Após a obtenção do modelo, fez-se a validação do mesmo por meio de dois ensaios independentes, em que foram definidos níveis aleatórios de pH, P-PO₄ e N-NO₃, dentro dos limites estudados. Ao final de 7 dias de cultivo, avaliou-se a remoção de arsênio, que foi comparada com o valor estimado utilizando-se o modelo ajustado, conforme disposto na Tabela 4. Observou-se boa predição do modelo quando comparado aos resultados experimentais, resultado avaliado como satisfatório se for considerada a complexidade do processo descrito.

Tabela 4. Resultado dos ensaios de validação do modelo de regressão

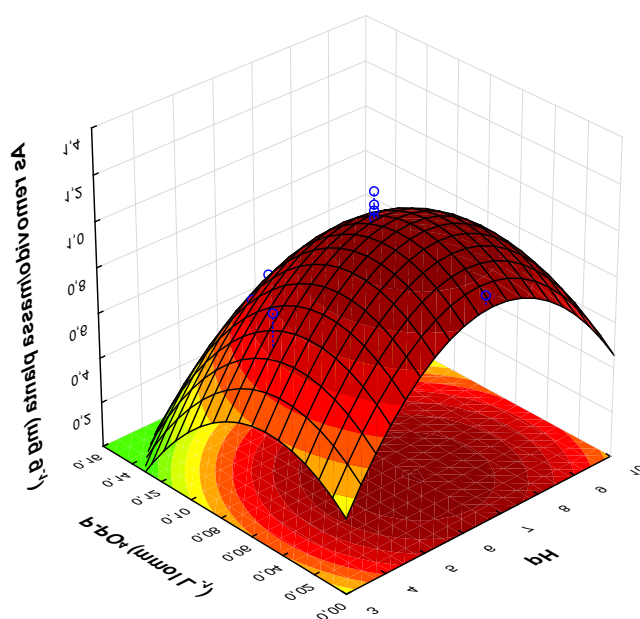
Variável	Validação 1	Validação 2
pH	4,14	7,53
P-PO ₄ (mmol L ⁻¹)	0	0,0487
N-NO ₃ (mmol L ⁻¹)	0,0887	0,0887
As_{removido}/M_{planta} (mg g⁻¹)		
Modelo de regressão	0,3611	1,1077
Experimento	0,5136	1,0789
Relação Modelo/Experimento	0,70	1,03

Observou-se que o nível ótimo de absorção de arsênio ocorreu sob condições de pH 6,7, concentração de P-PO₄ de 0,0488 mmol L⁻¹ e concentração de N-NO₃ de 7,93 mmol L⁻¹ (Figura 3). A espécie vegetal alcançou níveis de absorção de arsênio de até 1,19 mg de arsênio por grama de matéria seca (toda planta) nas condições experimentais ótimas, demonstrando ser uma excelente espécie bioacumuladora de As.

A *Lemna valdiviana* proporcionou 82% de redução da concentração inicial de As da água, considerando a massa removida. Estes resultados são semelhantes aos resultados encontrados por Sasmaz et al. (2015) que, ao avaliar as espécies *Lemna gibba* e *Lemna minor*, identificaram que, após 8 d

de cultivo, acumularam em torno de 0,83 e 0,45 mg g⁻¹ de As. Estes autores ainda demonstraram que as lemnas apresentaram maior teor de arsênio que dos metais Pb, Zn e Cu.

Mkandawire e Dudel (2005) avaliaram a espécie *Lemna gibba* em ambientes alagados ao redor de uma mina de urânio e constataram que a mesma possui elevado potencial de acumular arsênio, sendo encontrados valores de até 1,54 mg g⁻¹, o qual variou com a concentração do meio. Goswami et al. (2014) cultivaram a *Lemna minor* sob diferentes concentrações de As na solução nutritiva e relataram que a máxima concentração em que não se observou toxicidade às plantas foi a de 0,5 mg L⁻¹ de As. Os mesmos autores obtiveram eficiência máxima de 70% na remoção de As. Outros autores também verificaram que as Lemnas são excelente espécies bioacumuladoras de As (Alvarado et al., 2008; Duman et al., 2010; Leão et al., 2014)



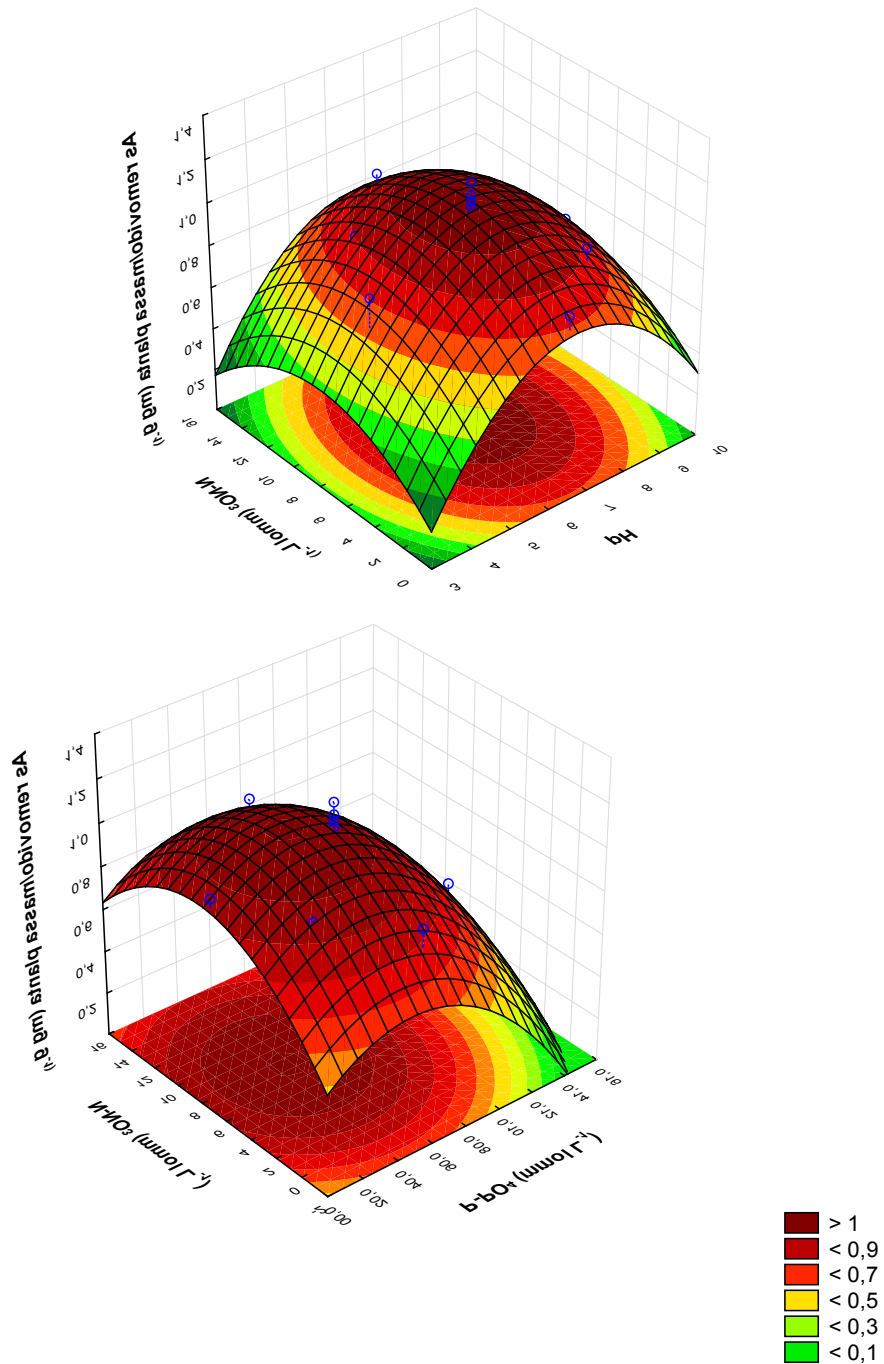


Figura 3. Superfície resposta da absorção de As pela *L. valdiviana* em relação ao pH, P-PO₄ e N-NO₃, sendo os valores fixos de 6,5, 0,069 e 6,9 para pH, P-PO₄ e N-NO₃ respectivamente.

A faixa de pH tolerável pela *Lemna* sp. varia de 4 a 9 (Khataee et al., 2012). Entretanto, estudos apontam que o crescimento ótimo da planta é obtido no intervalo de pH de 6 a 7,5 (Mkandawire e Dudel, 2005; Khataee et

al., 2012). Resultados análogos foram encontrados na presente pesquisa, na qual o pH ótimo para remoção de As da solução nutritiva foi de 6,7. É possível observar, na Figura 4, que pequenas variações no pH podem afetar expressivamente a absorção de As pela *Lemna*. Assim, de acordo com os resultados obtidos, sugere-se utilizar a *Lemna valdiviana* para fitorremediar arsênio nos níveis de pH entre 6,3 e 7,0.

O arsenato é a forma dominante de arsênio sob condições aeróbias, bem como foi a forma encontrada em proeminência nos ensaios realizados (Tabela 6). Neste estado de oxidação, tem-se um consenso na literatura que o As(V) é um análogo do fosfato e, portanto, competem pelos mesmos transportadores de absorção na membrana plasmática (Rahman e Hasegawa, 2011).

Os resultados demonstraram que o nível ótimo de absorção de As foi na concentração de P-PO₄ de 0,0488 mmol L⁻¹ (1,51 mg L⁻¹) (Figura 4). Tal resultado pode ser explicado pela alta produtividade da *Lemna*, uma vez que o nível de As inicial era de 0,5 mg L⁻¹. Observou-se que a espécie quadruplicou sua massa neste intervalo de 7 dias e, assim, acredita-se que a absorção de fosfato foi impulsionada pelo crescimento da espécie. A literatura aponta que a presença de altas concentrações de fósforo suprime a absorção de As, conforme foi evidenciado neste experimento. Mkandawire e Dudel (2005) afirmaram que a espécie *L. gibba* aumentou a absorção de As com o aumento na concentração de As (V), mas diminuiu com o aumento na de fósforo no meio. Para *Lemna valdiviana* não foram encontrados estudos com tal abordagem.

O nível de nitrogênio na forma de nitrato que possibilitou a otimização da absorção de As foi 7,9 mmol L⁻¹. Todavia, não foi encontrada correlação entre este resultado e a concentração de As(III), conforme hipótese inicial. A maior parte do arsênio, após o período de 7 d de cultivo, encontrava-se na forma de arsenato. Uma concentração intermediária do referido nutriente pode ter proporcionado efeito sinérgico na absorção de arsênio, o que entende-se que esteja ligado a mecanismos fisiológicos complexos e não explicáveis, nesta tese. Chen et al. (2008) avaliaram a influência do nitrato e

do amônio em cultivares de arroz. Estes autores concluíram que elevadas concentrações de nitrato reduzem a absorção de As e P pelas plantas. Tal fato se dá de forma indireta, pois o nitrato oxida o ferro (Fe^{3+}) que fica em sua forma precipitada, podendo co-precipitar com o arsênio, diminuindo a biodisponibilidade do mesmo. Adicionalmente, Fe^{2+} , forma dissolvida do elemento, exerce papel fundamental na absorção de As, pela formação das placas de ferro na zona das raízes, as quais favorecem a rizofiltração (Chen et al., 2008).

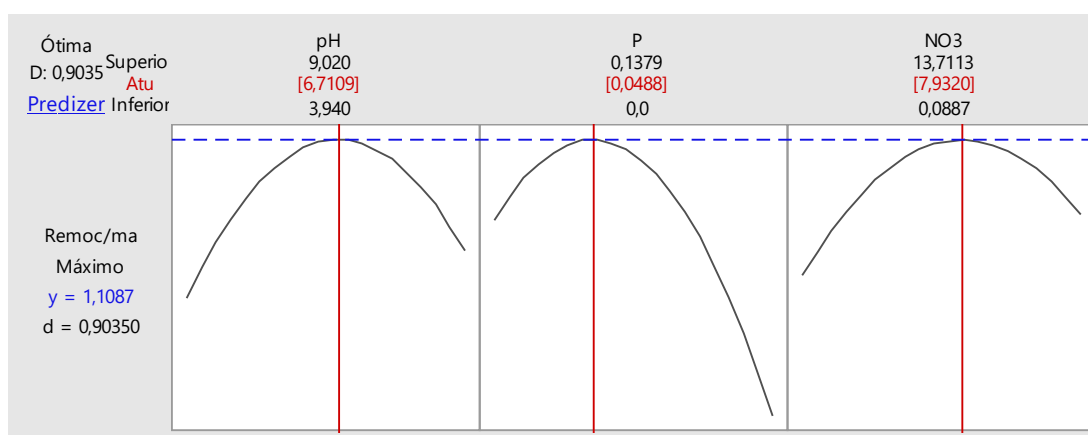


Figura 4. Gráfico de desejabilidade da otimização da remoção de As pela *L. valdiviana*.

3.2. Desempenho da planta

Em nível de 5% de significância, nenhuma das condições do meio, pH ou concentração de P-PO_4 e N-NO_3 , influenciaram a taxa de crescimento relativo (TCR), o índice de tolerância (IT) das plantas ao As. Este resultado demonstra que a absorção de arsênio, na concentração avaliada ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de As), não influenciou no desempenho da planta. Fato que pode ser comprovado pelos altos valores do IT. Na Tabela 5 pode-se visualizar os valores de TCR, IT e fator de bioacumulação. Observa-se que o fator de bioacumulação foi maior que 1000. Altos valores de FB em macrófitas implicam em espécies com potencial para bioindicação e fitorremediação de ambientes aquáticos contaminados por As. De acordo com algumas

literaturas, valores de FB maiores que 1000 indicam que a espécie vegetal é hiperacumuladora (Baker et al., 1994; Liu et al., 2004; Kramer, 2010). Outro fator de extrema relevância é o elevado TCR da espécie, indicando que a mesma tem um crescimento rápido e foi capaz de quadruplicar sua massa no período experimental.

Tabela 5. Índices de desempenho da planta

Ensaio	pH	P-PO ₄ (mmol L ⁻¹)	N-NO ₃ (mmol L ⁻¹)	TCR (mg g ⁻¹ d ⁻¹)	IT (%)	FB
1	5	0,028	2,85	213,8	128,2	1604,0
2	5	0,028	10,95	202,8	121,6	1545,7
3	5	0,11	2,85	198,9	119,2	1669,0
4	5	0,11	10,95	216,7	129,9	1149,1
5	8	0,028	2,85	249,2	149,4	1430,0
6	8	0,028	10,95	210,9	126,4	1113,1
7	8	0,11	2,85	225,3	135,1	1522,2
8	8	0,11	10,95	228,2	136,8	919,2
9	3,94	0,069	6,9	158,7	95,2	2048,3
10	9,02	0,069	6,9	204,6	122,7	1521,7
11	6,5	0	6,9	153,5	92,0	1642,1
12	6,5	0,1379	6,9	223,3	133,9	1397,0
13	6,5	0,069	0,0887	154,5	92,6	1937,6
14	6,5	0,069	13,7113	196,3	117,7	1424,6
15	6,5	0,069	6,9	177,7	106,5	1630,1
16	6,5	0,069	6,9	216,8	130,0	1287,4
17	6,5	0,069	6,9	211,4	126,7	1554,5
18	6,5	0,069	6,9	214,4	128,5	1519,4
19	6,5	0,069	6,9	196,6	117,9	1748,7
20	6,5	0,069	6,9	181,8	109,0	1670,0

3.3. Absorção de fósforo

O efeito da concentração de fósforo no meio aquoso de cultivo da planta foi avaliado ao final do experimento, em todos os 20 ensaios conduzidos. A análise estatística desses dados indicou que a absorção de fósforo pelo aguapé não foi influenciada pelo nível de pH e pela concentração de nitrato na solução nutritiva, mas apenas pela concentração de fósforo do meio, em nível de 5% de significância, conforme pode ser

observado na gráfico de Pareto (Figura 5). Os resultados mostraram que a concentração de fósforo na água se relaciona com a absorção de fósforo pela Lemna de maneira linear. Tal fato justifica a menor absorção de As pelas plantas em níveis elevados de P-PO₄ na solução nutritiva, uma vez que são absorvidos pelo mesmo mecanismo pelas plantas.

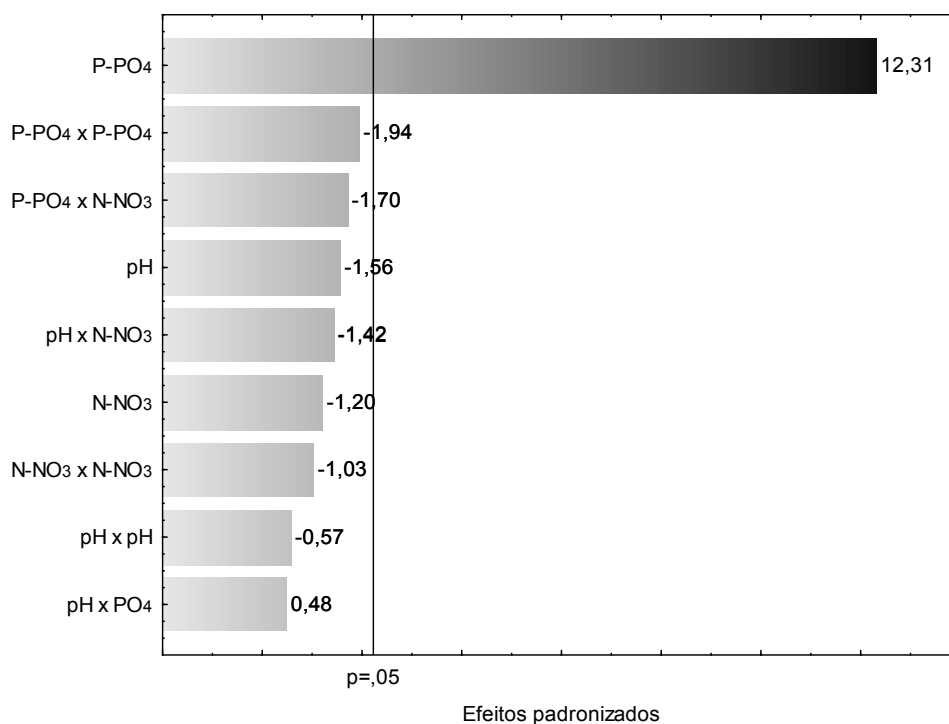


Figura 5. Gráfico de Pareto dos fatores intervenientes na absorção de fósforo pela planta.

Obteve-se o modelo matemático que relaciona o teor de fósforo na planta com a concentração de fósforo no meio. A Equação se ajustou satisfatoriamente aos dados (Figura 6), tendo um coeficiente de determinação de 86,5%. A equação de regressão em unidades não codificadas, que relaciona a massa de fósforo removida por unidade de massa seca de *L. valdiviana* (mg g⁻¹) com a concentração de P-PO₄ (mmol L⁻¹) na solução nutritiva, está disposta a seguir (Eq. 6). Tal informação é útil na análise e estimativa da produção de biomassa vegetal aquática em corpos

hídricos eutrofizados ou no tratamento terciário de efluentes, em que se queira priorizar a remoção de fósforo do meio.

$$P\text{-PO}_4(\text{removido})/\text{Massa}(\text{planta}) = 1,088 + 101,67 (P\text{-PO}_4) \quad (\text{Eq. 6})$$

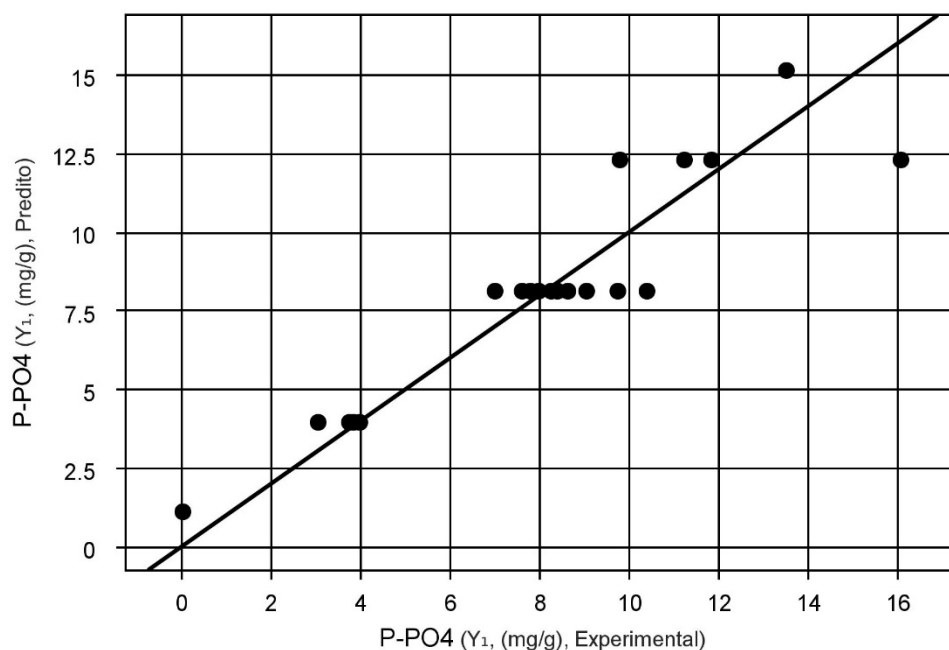


Figura 6. Relação entre dados experimentais e preditos com relação a absorção de fósforo pela *Lemna valdiviana*.

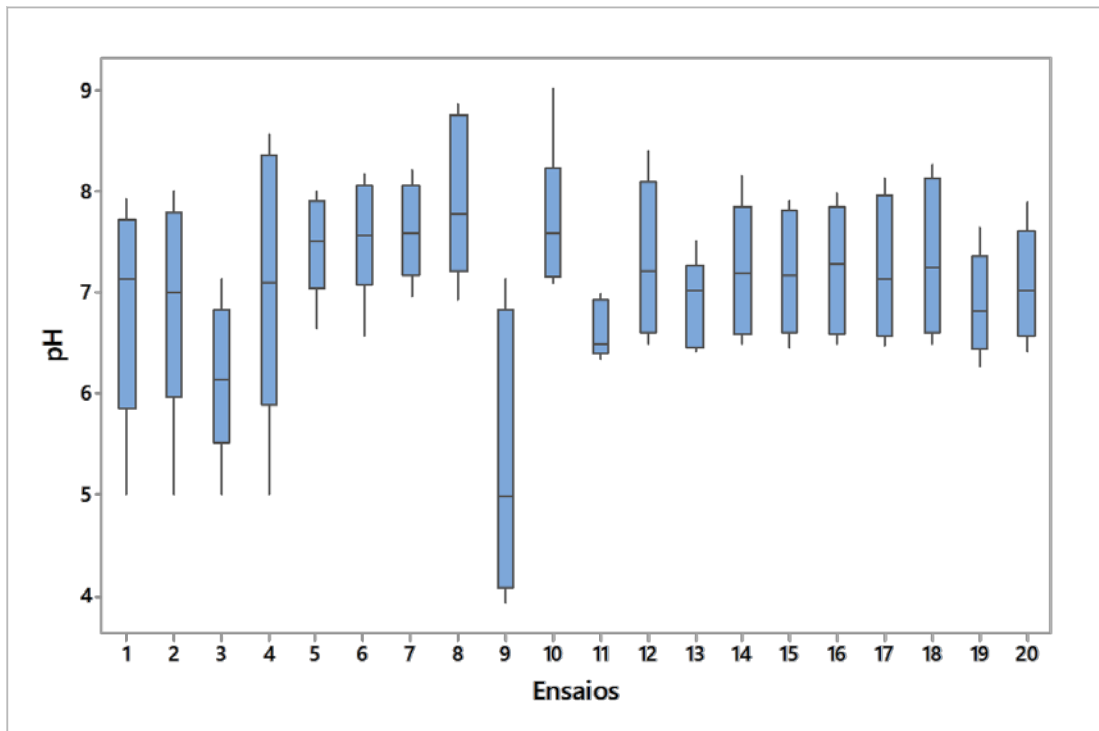
3.4. Especificação de arsênio

Após o período de 7 dias de cultivo, as amostras da solução foram avaliadas com relação à concentração de As(V) e As(III). Constatou-se que a maior parte do As encontrava-se na forma pentavalente, como pode ser verificado na Tabela 6. Tal resultado corrobora a dinâmica de arsênio no meio, uma vez que a forma mais estável do As é no estado oxidado. A concentração de nitrato e o pH do meio não influenciaram o especiação do arsênio ao final de 7 dias de cultivo. O monitoramento do potencial de oxirredução, bem como o pH nos 20 ensaios conduzidos durante os 7 dias,

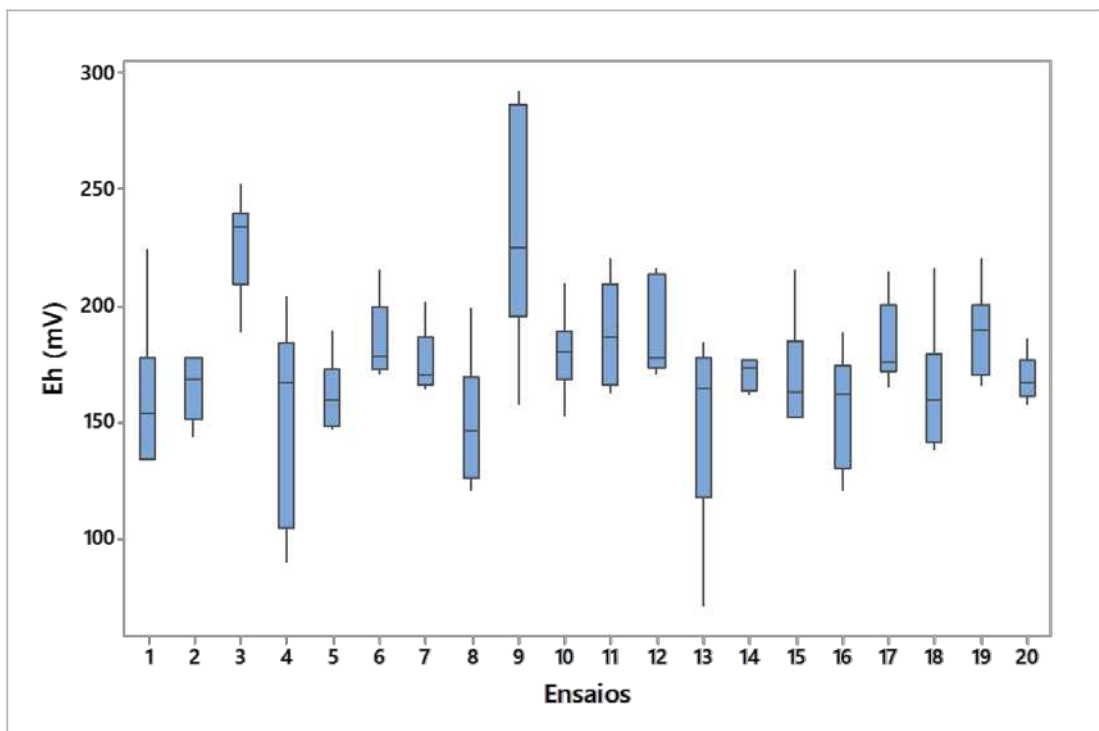
podem ser visualizados nos gráficos Box plot apresentados na Figura 7. Nota-se que o pH inicial foi alterado ao longo do período de ensaio, tendendo à neutralidade. Observou-se que os extremos do Eh foram obtidos nos ensaios 9 e 13, sendo que o primeiro corresponde ao ponto axial da variável pH, igual a 3,94, e o ensaio 13 ao nível mínimo de N-NO₃.

Tabela 6. Proporção entre as espécies de arsênio ao final dos ensaios

Ensaio	pH	P-PO ₄ (mmol L ⁻¹)	N-NO ₃ (mmol L ⁻¹)	% As(V)	% As(III)
1	5	0,028	2,85	85,4	14,6
2	5	0,028	10,95	50,7	49,3
3	5	0,11	2,85	90,5	9,5
4	5	0,11	10,95	100,0	0,0
5	8	0,028	2,85	77,9	22,1
6	8	0,028	10,95	88,8	11,2
7	8	0,11	2,85	93,0	7,0
8	8	0,11	10,95	82,1	17,9
9	3,94	0,069	6,9	91,5	8,5
10	9,02	0,069	6,9	90,2	9,8
11	6,5	0	6,9	26,0	74,0
12	6,5	0,1379	6,9	93,8	6,2
13	6,5	0,069	0,0887	89,5	10,5
14	6,5	0,069	13,7113	94,4	5,6
15	6,5	0,069	6,9	93,6	6,4
16	6,5	0,069	6,9	89,0	11,0
17	6,5	0,069	6,9	95,2	4,8
18	6,5	0,069	6,9	94,4	5,6
19	6,5	0,069	6,9	94,5	5,5
20	6,5	0,069	6,9	83,6	16,4



(a)



(b)

Figura 7. Monitoramento do pH (a) e Potencial de oxirredução (Eh) (b) durante os 7 d de cultivo na solução nutritiva.

4. CONCLUSÕES

- A espécie *Lemna valdiviana* demonstrou ser uma macrófita hiperacumuladora de arsênio, apresentando elevado potencial de utilização na fitorremediação de águas contaminadas;
- Os níveis ótimos verificados para absorção de As, utilizando a *L. valdiviana*, é pH entre 6,3 e 7,0; concentração de 0,0488 mmol L⁻¹ de P-PO₄ e de 7,9 mmol L⁻¹ de N-NO₃;
- O modelo matemático obtido se ajustou de forma satisfatória aos dados obtidos bem como nos ensaios de validação;
- A *Lemna valdiviana* foi capaz de acumular 1190 mg kg⁻¹ de As (base seca) do meio aquoso e reduzir 82% da concentração inicial, que era de 0,5 mg L⁻¹;
- Observou-se aumento linear da absorção de fósforo pela planta com a concentração de fósforo na solução nutritiva e proporcionou o decréscimo na absorção de arsênio pela planta;
- A taxa de crescimento relativo e índice de tolerância demonstraram que a espécie vegetal avaliada apresenta elevado crescimento e a concentração de 0,5 mg L⁻¹ não influenciou em seu desenvolvimento.
- Em média, 85% do As(III) contido inicialmente foi convertido em As(V), após 7 d de cultivo na solução nutritiva, não sendo influenciado pelo pH e concentração de nitrato na mesma.

5. REFERÊNCIAS

ALVARADO, S.; GUEDEZ, M.; LUE-MERU, M. P.; NELSON, G.; ALVARO, A.; JESUS, A. C.; GYULA, Z. Arsenic removal from waters by bioremediation with the aquatic plants Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Lesser Duckweed (*Lemna minor*). *Bioresource technology*, v. 99, n. 17, p. 8436-8440, 2008.

ANDRADE, H. M.; OLIVEIRA, J. A.; FARNESE, F. S.; RIBEIRO, C.; SILVA, A. A.; CAMPOS, F. V.; NETO, J. L. Arsenic toxicity: cell signalling and the attenuating effect of nitric oxide in *Eichhornia crassipes*. *Biologia Plantarum*, v. 60, n. 1, p. 173-180, 2016.

BAKER, A. J. M.; REEVES, R. D.; HAJAR, A. S. M. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (Brassicaceae). *New Phytologist*, v. 127, n. 1, p. 61-68, 1994.

BELL, T. H.; JOLY, S.; PITRE, F. E.; YERGEAU, E. Increasing phytoremediation efficiency and reliability using novel omics approaches. *Trends Biotechnol*, v. 32, n. 5, p. 271-280, 2014.

CAMESELLE, C.; CHIRAKKARA, R. A.; REDDY, K. R. Electrokinetic-enhanced phytoremediation of soils: status and opportunities. *Chemosphere*, v. 93, n. 4, p. 626-636, 2013.

CAN, B. Z.; BONCUKCUOGLU, R.; YILMAZ, A. E.; FIL, B. A. Effect of some operational parameters on the arsenic removal by electrocoagulation using iron electrodes. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, v. 12, p. 95-95, 2014.

CHEN, X.-P.; ZHU, Y.-G.; HONG, M.-N.; KAPPLER, A.; XU, Y.-X. Effects of different forms of nitrogen fertilizers on arsenic uptake by rice plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 27, n. 4, p. 881-887, 2008.

CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 23, p. 458-460, 1975.

DASTGIRI, S.; MOSAFERI, M.; FIZI, M. A. H.; OLFATI, N.; ZOLALI, S.; POULADI, N.; AZARFAM, P. Arsenic Exposure, Dermatological Lesions, Hypertension, and Chromosomal Abnormalities among People in a Rural Community of Northwest Iran. *Journal of Health, Population, and Nutrition*, v. 28, n. 1, p. 14-22, 2010.

DIRILGEN, N. Mercury and lead: Assessing the toxic effects on growth and metal accumulation by *Lemna minor*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 74, n. 1, p. 48-54, 2011.

DUMAN, F.; OZTURK, F.; AYDIN, Z. Biological responses of duckweed (*Lemna minor* L.) exposed to the inorganic arsenic species As(III) and As(V): effects of concentration and duration of exposure. *Ecotoxicology*, v. 19, n. 5, p. 983-993, 2010.

FAR, L. B.; SOURI, B.; HEIDARI, M.; KHOSHNAVAZI, R. Evaluation of iron and manganese-coated pumice application for the removal of as(v) from aqueous solutions. *Iranian J Environ Health Sci Eng*, v. 9, n. 1, p. 21, 2012.

FARNESE, F. S.; OLIVEIRA, J. A.; GUSMAN, G. S.; LEO, G. A.; SILVEIRA, N. M.; SILVA, P. M.; RIBEIRO, C.; CAMBRAIA, J. Effects of adding nitroprusside on arsenic stressed response of *Pistia stratiotes* L. under hydroponic conditions. *international Journal of Phytoremediation*, v. 16, n. 2, p. 123-137, 2014.

FISHER, R. A. Some remarks on the methods formulated in a recent article on 'The quantitative analysis of plant growth'. *Annals of Applied Biology*, v. 7, n. 4, p. 367-372, 1921.

FREITAS-SILVA, L.; ARAÚJO, T. O.; SILVA, L. C.; OLIVEIRA, J. A.; ARAUJO, J. M. Arsenic accumulation in Brassicaceae seedlings and its

effects on growth and plant anatomy. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 124, p. 1-9, 2016.

GOSWAMI, C.; MAJUMDER, A.; MISRA, A. K.; BANDYOPADHYAY, K. Arsenic Uptake by *Lemna minor* in Hydroponic System. *International Journal of Phytoremediation*, v. 16, n. 12, p. 1221-1227, 2014.

KHATAEE, A. R.; MOVAFEGHI, A.; TORBATI, S.; SALEHI LISAR, S. Y.; ZAREI, M. Phytoremediation potential of duckweed (*Lemna minor* L.) in degradation of C.I. Acid Blue 92: artificial neural network modeling. *Ecotoxicology environmental safety*, v. 80, p. 291-298, 2012.

KRAMER, U. Metal hyperaccumulation in plants. *Annu Rev Plant Biol*, v. 61, p. 517-534, 2010.

LEÃO, G. A.; DE OLIVEIRA, J. A.; FELIPE, R. T. A.; FARNESE, F. S.; GUSMAN, G. S. Anthocyanins, thiols, and antioxidant scavenging enzymes are involved in *Lemna gibba* tolerance to arsenic. *Journal of Plant Interactions*, v. 9, n. 1, p. 143-151, 2014.

LI, S. X.; ZHENG, F. Y.; YANG, H.; NI, J. C. Thorough removal of inorganic and organic mercury from aqueous solutions by adsorption on *Lemna minor* powder. *Journal of Hazardous Materials*, v. 186, n. 1, p. 423-429, 2011.

LIU, W. J.; ZHU, Y. G.; SMITH, F. A.; SMITH, S. E. Do phosphorus nutrition and iron plaque alter arsenate (As) uptake by rice seedlings in hydroponic culture? *New Phytologist*, v. 162, n. 2, p. 481-488, 2004.

MA, L. Q.; KOMAR, K. M.; TU, C.; ZHANG, W.; CAI, Y.; KENNELLEY, E. D. A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature*, v. 409, n. 6820, p. 579-579, 2001.

MKANDAWIRE, M.; DUDEL, E. G. Accumulation of arsenic in *Lemna gibba* L. (duckweed) in tailing waters of two abandoned uranium mining sites in Saxony, Germany. *Science of The Total Environment*, v. 336, n. 1–3, p. 81-89, 2005.

MORALES, K. H.; RYAN, L.; KUO, T. L.; WU, M. M.; CHEN, C. J. Risk of internal cancers from arsenic in drinking water. *Environ Health Perspect*, v. 108, n. 7, p. 655-661, 2000.

PHAN, K.; STHIANNOPKAO, S.; KIM, K. W.; WONG, M. H.; SAO, V.; HASHIM, J. H.; MOHAMED YASIN, M. S.; ALJUNID, S. M. Health risk assessment of inorganic arsenic intake of Cambodia residents through groundwater drinking pathway. *Water Research*, v. 44, n. 19, p. 5777-5788, 2010.

RAHMAN, M. A.; HASEGAWA, H. Aquatic arsenic: phytoremediation using floating macrophytes. *Chemosphere*, v. 83, n. 5, p. 633-646, 2011.

SASMAZ, M.; ARSLAN TOPAL, E. I.; OBEK, E.; SASMAZ, A. The potential of *Lemna gibba* L. and *Lemna minor* L. to remove Cu, Pb, Zn, and As in gallery water in a mining area in Keban, Turkey. *Journal of Environmental Management*, v. 163, p. 246-253, 2015.

SRIVASTAVA, M.; MA, L. Q.; SINGH, N.; SINGH, S. Antioxidant responses of hyper-accumulator and sensitive fern species to arsenic. *Journal of Experimental Botany*, v. 56, n. 415, p. 1335-1342, 2005.

WHO. Guidelines for Drinking-Water Quality. World Health Organisation, Geneva., v. 4, p. 315-318, 2011.

WILKINS, D. A. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytologist*, v. 80, n. 3, p. 623-633, 1978.

CAPÍTULO IV: ARTIGO TÉCNICO-CIENTÍFICO

CINÉTICA DE ABSORÇÃO DE ARSÊNIO PELAS ESPÉCIES *Eichhornia crassipes* E *Lemna valdiviana* SOB CONDIÇÕES OTIMIZADAS

RESUMO

A remoção de As de águas contaminadas tem sido tratada como tecnologia necessária para minimizar seus impactos nos ecossistemas. Algumas plantas, expostas a metais pesados apresentam tolerância e acumulam os mesmos, no processo denominado fitorremediação. Neste trabalho, objetivou-se estudar a cinética de absorção de arsênio pelas espécies *Eichhornia crassipes* e *Lemna valdiviana*, em condições preestabelecidas de pH e concentrações de fosfato e nitrato na solução nutritiva. Foram objetivos, também, avaliar a cinética de conversão entre As(III) e As(V) e o efeito de diferentes concentrações de As no desenvolvimento das espécies. As plantas foram cultivadas em soluções nutritivas contendo diferentes concentrações de arsênio, as quais foram 0; 0,56; 0,89 e 1,38 mg L⁻¹, para o aguapé, e de 0; 0,13; 0,48; 0,99 e 1,4 mg L⁻¹, para a Lemna. O monitoramento da remoção de arsênio pelas espécies vegetais foi feito pela amostragem nos intervalos de tempo de 0; 4; 8; 16; 24; 48; 96; 144; 192 e 240 h, para o aguapé, e de 0; 4; 8; 16; 24; 48; 96; 144; 168 h, para a Lemna. As amostras foram submetidas às análises de arsênio total, As(III), As(V) e fósforo. A cinética de primeira ordem se ajustou a cinética de remoção de As pelas espécies vegetais, sendo observado que o coeficiente de decaimento de arsênio do meio (k) diminuiu com o aumento na concentração inicial na solução nutritiva. Para o aguapé, a absorção foi evidenciada a partir de 96 h de cultivo, tempo coincidente com maiores formações de As(V). Para Lemna, o metal só foi absorvido pela planta após decaimento nos níveis de fosfato do meio, o qual ocorreu no tempo de 48 h. Concentrações acima de 1 mg L⁻¹ implicaram em efeitos deletérios em ambas espécies vegetais e em comprometimento do processo de fitorremediação, sendo que o fator de bioacumulação decresceu a partir dessa concentração, tanto para *Eichhornia crassipes* quanto para *Lemna valdiviana*.

Palavras chave: Aguapé, lentilha d'água, arsenato, arsenito, coeficiente de decaimento.

ABSORPTION KINETICS OF ARSENIC BY *Eichhornia crassipes* AND *Lemna valdiviana* UNDER OPTIMIZED CONDITIONS

ABSTRACT

Arsenic removal of contaminated water has been treated as necessary technology to minimize its impacts on ecosystems. Some plants, exposed to heavy metals show tolerance and accumulate them, in the process phytoremediation. The objectives of this work were to study the kinetics of arsenic absorption for *Eichhornia crassipes* (water hyacinth) and *Lemna valdiviana* (lemna) under pre-established conditions of pH and concentrations of phosphate and nitrate in the nutrient solution. Also, they were objective of this work evaluate the conversion kinetics of As (III) and As (V) and the effect of different concentrations of As on the development of aquatic plants. The plants were cultivated in nutrient solutions containing different arsenic concentrations, which were 0; 0.56; 0.89 and 1.38 mg L⁻¹ for water hyacinth and 0; 0.13; 0.48; 0.99 and 1.4 mg L⁻¹ for lemna. Monitoring of arsenic removal by plant species was done by sampling at time intervals of 0; 4; 8; 16; 24; 48; 96; 144; 192 and 240 h for water hyacinth and at intervals of 0; 4; 8; 16; 24; 48; 96; 144; 168 h for lemna. The samples were analyzed for total arsenic, As (III), As (V) and phosphorus. First order kinetics described As removal by the plant species, and it was observed that the decay coefficient of arsenic from the medium (k) decreased with the increase in the initial concentration in the nutrient solution. For water hyacinth absorption was evidenced after 96 h of cultivation, coinciding with larger As (V) formation. For lemna, the metal was only absorbed after a drop in the phosphate levels of the medium, which occurred after 48 h. Concentrations of As above 1 mg L⁻¹ had deleterious effects on both plant species, that impaired the phytoremediation process and the bioaccumulation factor decreased above this concentration for both *Eichhornia crassipes* and *Lemna valdiviana*.

Keywords: Water hyacinth, duckweed, arsenate, arsenite, decay coefficient.

1. INTRODUÇÃO

O arsênio é um metaloide considerado como 20º elemento químico mais abundante na crosta terrestre (Zhang et al., 2002) e sua disseminação ambiental tem sido cada vez mais identificada. A liberação de compostos de arsênio no ambiente está associada com uma variedade de fenômenos e processos, tais como atividade vulcânica, material geológico, queima de combustíveis e atividades industriais, tais como produção de vidros, plásticos, produtos químicos e farmacêuticos, materiais semicondutores e eletrônicos, mineração e, também, com o uso de pesticidas e herbicidas à base de arsênio (Jain e Ali, 2000; Yamamura e Amachi, 2014).

A periculosidade do arsênio relaciona-se a seu efeito deletério à saúde humana (Singh et al., 2015b). A exposição crônica ao arsênio inorgânico causa vários distúrbios em diferentes sistemas biológicos, como o sistema digestivo, respiratório, cardiovascular, sistema endócrino, renal, neurológico e sistema reprodutivo que, no geral, dão origem ao câncer (Maharjan et al., 2005).

Estudos têm constatado a presença de arsênio em elevadas concentrações em águas naturais, fato que tem gerado preocupação em escala mundial. Os casos de poluição mais relevantes têm sido reportados em países como a China, Taiwan, Índia, Bangladesh, EUA, Canadá, México, Chile, Argentina, Nova Zelândia, Polônia, Hungria, Croácia, Sérvia e Romênia (Jovanovic et al., 2011). No Brasil, estudos relatam a exposição humana ao arsênio em águas superficiais, sendo que Minas Gerais é a unidade da federação mais estudada devido à atividade mineradora (Litter et al., 2012). Matschullat et al. (2000) estudaram a região conhecida como “quadrilátero ferrífero mineiro” e relataram concentrações médias de arsênio em águas superficiais de $30,5 \mu\text{g L}^{-1}$ (variando de $0,4$ a $350 \mu\text{g L}^{-1}$). Os mesmos autores observaram variações de 200 a $860 \mu\text{g kg}^{-1}$ no solos e de 22 a $3200 \mu\text{g kg}^{-1}$ em sedimentos.

Em vista de sua disseminação no ambiente, como um todo, a remoção de As de águas contaminadas tem sido tratada como tecnologia necessária para minimizar seus impactos nos ecossistemas. Embora diferentes abordagens físicas, químicas e biológicas tenham sido empregadas para esse fim, a fitorremediação destaca-se como tecnologia promissora, na qual se utilizam plantas com o intuito de proporcionar a remoção de contaminantes da água (Ali et al., 2013). Existem algumas plantas que podem acumular As em sua biomassa vegetal, tais como a *Pteris vittata* L. (Raj e Singh, 2015), *Wolffia globosa* (Zhang et al., 2009), *Spirodela polyrhiza* L. (Rahman et al., 2008), *Lemna gibba* L. (Duman et al., 2010), *Azolla caroliniana* (Zhang et al., 2008) e *Eichhornia crassipes* (Alvarado et al., 2008).

Essas plantas, quando cultivadas em meios contaminados com metais pesados, apresentam tolerância e acumulam os mesmos por meio de ajustes e alterações dos seus mecanismos fisiológicos, dependendo do tipo de poluente, concentração e condições do meio e espécies vegetal cultivada (Islam et al., 2015). No caso de As, a via principal de absorção de As(V) é através de transportador de fosfato e As(III) que utiliza as aquagliceroporinas (Meharg e Jardine, 2003).

As espécies *Eichhornia crassipes* (aguapé) e *Lemna* sp. têm se mostrados espécies promissoras neste contexto, pois possuem capacidade de acumular arsênio em quantidades expressivas. Ambas são macrófitas de rápida propagação em ambientes eutróficos, conhecidas como pragas aquáticas, fato desejável quando se almeja retirada de algum contaminante. Adicionalmente, são espécies adaptadas ao clima tropical e de fácil acesso em toda extensão do Brasil.

Diante da periculosidade do arsênio e sua disseminação ambiental, diversos estudos têm sido conduzidos com intuito de se avaliar aspectos fisiológicos da planta, no que se refere à sua potencialidade como remediadora de meios contaminados. Ainda são pouco abordados fatores que tornam tal processo viável em aplicações reais e que obtêm parâmetros de engenharia para sua aplicação.

Nos capítulos II e III desta pesquisa, avaliaram-se as condições ótimas de pH, fosfato e nitrato para absorção de As pelas espécies *Eichhornia crassipes* e *Lemna valdiviana*. Neste capítulo, objetivou-se estudar a cinética de absorção de arsênio para ambas espécies nas condições estabelecidas nos capítulos anteriores. São objetivos também avaliar a cinética de conversão de As(III) e As(V) e o efeito de diferentes concentrações de As no desenvolvimento das espécies.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção e aclimação das plantas

Plantas aquáticas da espécie *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Aguapé) e *Lemna valdiviana* foram coletadas no horto botânico da Universidade Federal de Viçosa, higienizadas e aclimatadas por dois meses, em recipientes de polietileno (0,30 x 0,30 x 0,22 m), contendo 2 L de solução nutritiva Clark (1975), pH 6,5 (Leão et al., 2014). As plantas foram mantidas em sala de crescimento de plantas, sob temperatura (25 ± 2 °C) e luminosidade controladas e fotoperíodo de 16 horas, sendo a solução nutritiva trocada a cada sete dias.

2.2. Delineamento experimental: cinética de remoção

A espécies *E. crassipes* e *L. valdiviana* foram cultivadas, em duplicatas, sob diferentes concentrações de arsênio, as quais foram 0; 0,56; 0,89 e 1,38 mg L⁻¹, para o aguapé, e 0; 0,13; 0,48; 0,99 e 1,4 mg L⁻¹, para Lemna. O arsênio foi adicionado na forma de arsenito de sódio (NaAsO₂). As condições do meio com relação aos níveis de pH, P-PO₄ e N-NO₃ foram ajustadas de acordo com as condições obtidas nos capítulos II e III, conforme disposto na Tabela 1. Os demais micronutrientes foram balanceados com solução nutritiva Clark (1975).

Tabela 1. Níveis utilizados para o ensaio de cinética de remoção de As pelas espécies vegetais

Espécie vegetal	pH	P-PO ₄ (mmol L ⁻¹)	N-NO ₃ (mmol L ⁻¹)
<i>E. crassipes</i>	7,5	0,0	0,0887
<i>L. valdiviana</i>	6,7	0,0488	7,93

O acompanhamento da remoção de arsênio pelas espécies foi feito pela coleta de amostra de água (10 mL) de todos os ensaios nos intervalos de tempo de 0; 4; 8; 16; 24; 48; 96; 144; 192 e 240 h, para o aguapé, e de 0; 4; 8; 16; 24; 48; 96; 144; 168 h, para lemna. No tecido vegetal das plantas analisou-se os teores de arsênio total, As(III), As(V) e fósforo. Para a lemna, a planta foi analisada por inteiro devido a suas características morfológicas. Para o aguapé, fez-se a quantificação nas raízes e parte aérea em separado.

As curvas representativas da cinética de remoção de arsênio foram obtidas relacionando tempo e eficiência para as diferentes concentrações nas soluções nutritivas.

Ao longo deste período foram monitorados, diariamente, os parâmetros pH e potencial de oxirredução (Eh), além da condutividade elétrica da água. Ao final do período de cultivo, foi computada a evapotranspiração, calculada com base na diferença entre o volume inicial e final de solução no recipiente, bem como realizada a validação do modelo matemático obtido.

No que se refere à *Lemna valdiviana*, 4 g de massa de planta úmida foram acondicionadas em recipientes de 2 L contendo solução nutritiva contaminada com As. Em relação ao aguapé, foram selecionadas plantas de tamanhos semelhantes, sendo as mesmas pesadas úmidas no início do experimento e também cultivadas em recipientes contendo 2 L de solução nutritiva contaminada com As.

2.3. Determinação do arsênio total e fósforo total e especiação do As (As(III) e As(V))

A concentração de arsênio e de fósforo total foram determinadas na solução nutritiva contaminada com As, nos intervalos supracitados, e nas macrófitas como um todo (folhas + raízes), para lemna, e, no aguapé, separaram-se folhas e raízes. O tecido vegetal foi submetido à digestão

ácida, constituída pela adição de 10 mL de uma mistura contendo uma parte de ácido nítrico e três partes de ácido perclórico, sob temperatura de 100 °C, até que as amostras se apresentassem clarificadas. As mais baixas temperaturas utilizadas na digestão das amostras se deveu para que não houvessem perdas de As por volatilização. Os elementos foram analisados no Espectrômetro de Emissão de Plasma ICP-EOS, no Departamento de Solos da UFV.

Para quantificação das espécies As(III) e As(V), as amostras foram filtradas em membranas de 0,45 µm e armazenadas em baixa temperatura (< 4 °C). A especiação química foi realizada utilizando-se um espectrômetro de fluorescência atômica com geração de hidretos (HG-AFS), , acoplado a uma coluna de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As condições cromatográficas e os parâmetros instrumentais do HPLC-HG-AFS estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Condições experimentais para especiação química do arsênio

HPLC	
Coluna	Hamilton PRP-X100 (250 mm x 4,1 mm i.d., Diâmetro de partículas da coluna: 10 µm)
Fase Móvel	15 mmol L ⁻¹ de fosfato de potássio (KH ₂ PO ₄ , K ₂ HPO ₄) ajustado para pH 6.
Loop de amostra	200 µL
Vazão	1,4 mL min ⁻¹
HG	
NaBH ₄ /NaOH*	1,8% (m/v) NaBH ₄ em 0,1 mol L ⁻¹ NaOH; 2 mL min ⁻¹
Solução Ácida*	12,5% (v/v) HCl; 2 mL min ⁻¹
NaBH ₄ /NaOH**	0,9% (m/v) NaBH ₄ em 0,1 mol L ⁻¹ NaOH; 4 mL min ⁻¹
Solução Ácida**	25% (v/v) HCl; 9 mL min ⁻¹
Vazão de amostra	9 mL min ⁻¹
AFS	
Detector	Excalibur (PS Analytical, modelo 10.055)
Lâmpada	Arsênio (193.7 nm)
Corrente primária	27,5 mA
Corrente de impulso	35,0 mA
Gás de arraste	Argônio, 400 mL min ⁻¹
Gás de secagem	Argônio, 1 L min ⁻¹

*Parâmetro para o sistema HPLC-HG-AFS.

** Parâmetro para o sistema HG-AFS.

2.4. Avaliação do desempenho, fator de bioacumulação e translocação na planta

Para avaliação do desempenho das plantas após o período experimental, calculou-se a taxa de crescimento relativo (TCR) e seu índice de tolerância (IT) ao As. Para obtenção da TCR, ao final dos ensaios, as plantas foram abundantemente lavadas com água deionizada e colocadas em estufa de ventilação forçada a 65 °C, até massa constante. A massa seca inicial foi obtida a partir de estimativa do conteúdo de água nas plantas, nas mesmas condições utilizadas no ensaio experimental, fazendo a relação entre a massa fresca e seca.

A TCR foi calculada utilizando-se a equação (Eq. 1) proposta por Fisher (1921), na qual a massa seca das plantas é variável independente:

$$TCR = \frac{\ln(m_1) - \ln(m_0)}{t_1 - t_0} \times 1000 \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que:

TCR: representa a taxa de crescimento relativo ($\text{mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$);

$\ln(m_1)$: logaritmo neperiano da massa seca final (g);

$\ln(m_0)$: logaritmo neperiano da massa seca inicial (g);

t_0 : tempo inicial (d);

t_1 : tempo final (d).

O índice de tolerância (IT) ao As foi obtido utilizando-se a equação proposta por Wilkins (1978) (Eq. 2):

$$IT (\%) = \frac{TCR}{TCR^*} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que,

TCR: taxa de crescimento da planta na solução contaminada com As;

TCR*: taxa de crescimento da planta na solução controle, sem contaminação por As.

Para avaliação do potencial da planta em acumular arsênio, foram utilizados como indicadores o fator de translocação (FT) e o fator de bioacumulação (FB). O FT dá indicativos da eficiência da planta em transportar um elemento da raiz para a parte aérea. Já o FB possibilita uma avaliação da eficiência da planta em acumular o elemento químico, levando-se em consideração sua concentração no meio. O FB e FT foram estimados de acordo com as Equações 3 e 4, respectivamente (Ma et al., 2001; Srivastava et al., 2005). Para a Lemna foi obtido apenas o FB.

$$FB = \frac{\text{Concentração As na planta (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentração As na solução (mg L}^{-1}\text{)}} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$FT = \frac{\text{Concentração As na parte aérea (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentração As na raiz (mg kg}^{-1}\text{)}} \quad (\text{Eq. 4})$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão apresentados e discutidos, separadamente, os resultados obtidos para *Eichhornia crassipes* e *Lemna valdiviana*.

3.1. Cinética de remoção de As pelo aguapé

Os valores de decaimento da concentração de arsênio da água utilizando aguapé como planta fitorremediadora estão dispostos na Figura 1 para as concentrações de 0,56; 0,87 e 1,39 mg L⁻¹, respectivamente. A absorção de arsênio pelo aguapé demonstrou ser dependente do tempo de cultivo da planta na solução nutritiva contaminada com As. Dois modelos se ajustaram satisfatoriamente à cinética de absorção do As pelo aguapé: linear e decaimento exponencial de primeira ordem, cujos coeficientes encontram-se apresentados na Tabela 1. Embora haja poucos estudos, a literatura aponta equações para descrever a cinética de acúmulo de arsênio via fitorremediação, tais como linear (Abedin et al., 2002), primeira ordem (Wang et al., 2013), hiperbólica ou Michaelis-Menten (Irtelli e Navari-Izzo, 2007). Não há, no entanto, um consenso em relação a qual equação descreve melhor o processo, uma vez que isso depende de vários fatores, tais como condições do meio, espécie vegetal e concentração e forma do metal.

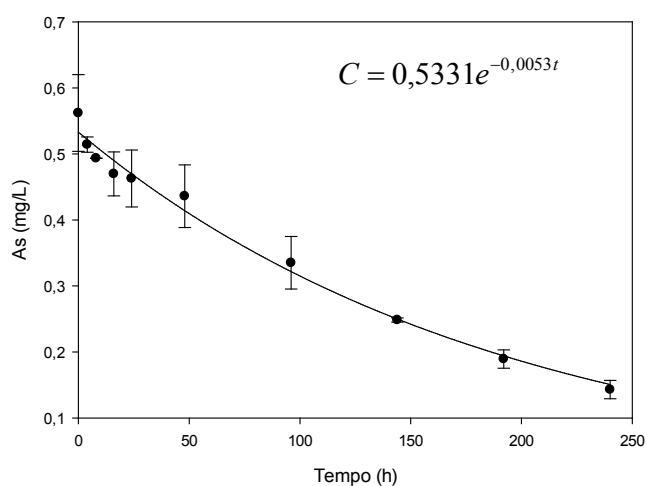
Tabela 3. Parâmetros de ajuste para o modelo linear e o de primeira ordem para cinética de remoção de As pelo aguapé

Concentração inicial As (mg L ⁻¹)	Linear $y = bx + a$			Primeira ordem $y = ae^{-bx}$		
	0,56	0,87	1,39	0,56	0,87	1,39
R²	0,9494	0,8711	0,9563	0,9609	0,8653	0,9644
R²ajust	0,9466	0,8639	0,9539	0,9508	0,8578	0,9624
SEE	0,0335	0,0404	0,0267	0,0294	0,0413	0,0241
a	0,5141*	0,8730*	1,3760*	0,5331*	0,8765*	1,3806*
b	-	-0,0012*	-0,0014*	0,0053*	0,0016*	0,0012*

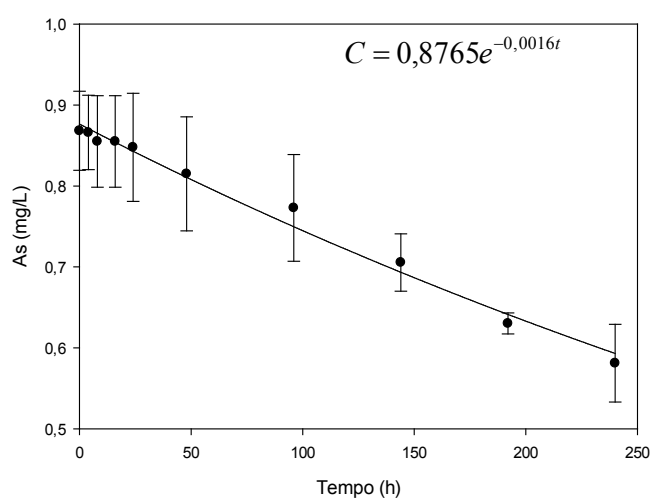
0,0017*

SEE: Estimativa do erro padrão R^2 : coeficiente de determinação R^2_{ajust} : Coeficiente de determinação ajustado; * Significativo a 1% de significância.

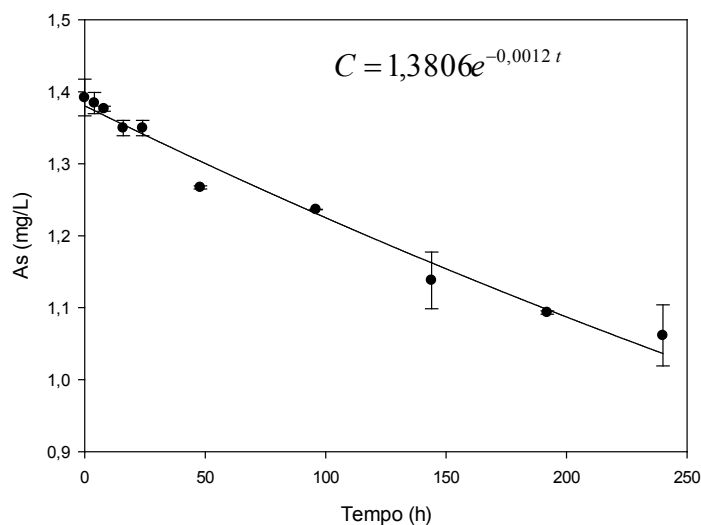
A cinética de absorção de arsênio pelo aguapé depende da concentração inicial de As no meio. Observou-se que, quanto maior a concentração de As inicial, menor a taxa de remoção do metal. Adicionalmente, com a passar do tempo, as plantas reduzem sua taxa de crescimento e a absorção do As se torna cada vez menor. Portanto, considerou-se que modelo de primeira ordem descreve melhor a cinética do processo, neste estudo.



(a)



(b)



(c)

Figura 1. Remoção de As pelo aguapé com o tempo, quando cultivado em solução nutritiva contendo concentrações de (a) 0,56 mg L⁻¹; (b) 0,87 mg L⁻¹ e (c) 1,39 mg L⁻¹ desse elemento químico.

Os modelos ajustados confirmaram a relação entre a concentração inicial estimada (modelo) e a concentração inicial real, conforme pode ser verificado na Figura 2. O coeficiente de remoção de As (k) pela planta decresceu à medida que se aumentou a concentração inicial de arsênio no meio. O k foi de 0,0053; 0,0016 e 0,0012 h⁻¹ para as concentrações de 0,56; 0,87 e 1,39 mg L⁻¹, respectivamente. Este fato demonstra que, quanto maior a concentração de arsênio inicial, menor a taxa de absorção da planta em função do tempo.

Assim, fica explícito a toxicidade do metal para a espécie vegetal à medida que se aumenta sua concentração no meio. Resultados semelhantes em relação à toxicidade de plantas pelo As foram encontrados por Abedin et al. (2002), Alvarado et al. (2008) e Singh et al. (2015a). Adicionalmente, a forma adicionada de arsênio à solução foi As(III), forma mais tóxica do metal, quando comparado ao As(V). Em estudo utilizando alface (*Lactuca sativa* L),

Gusman et al. (2013) identificaram que a absorção de arsênio pela planta aumenta com o aumento de As(V) e diminui para concentrações de As(III) acima de 0,53 mg L⁻¹, tal como observado na presente pesquisa. Estes autores apontaram possível efluxo do arsenito das raízes para rizosfera e, portanto, menor absorção final do mesmo. A sua toxicidade se deve à alta afinidade por grupos sulfidrilas de biomoléculas, implicando em efeitos deletérios em todas funções da planta (Zhao et al., 2009).

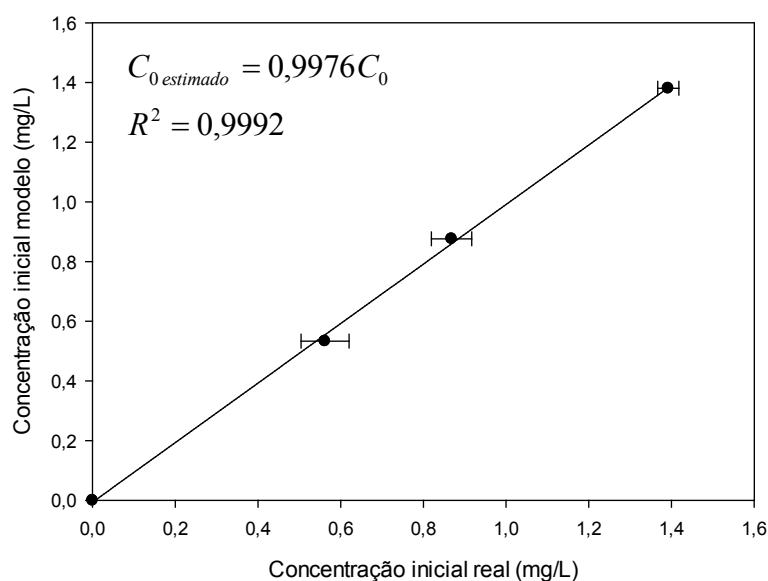
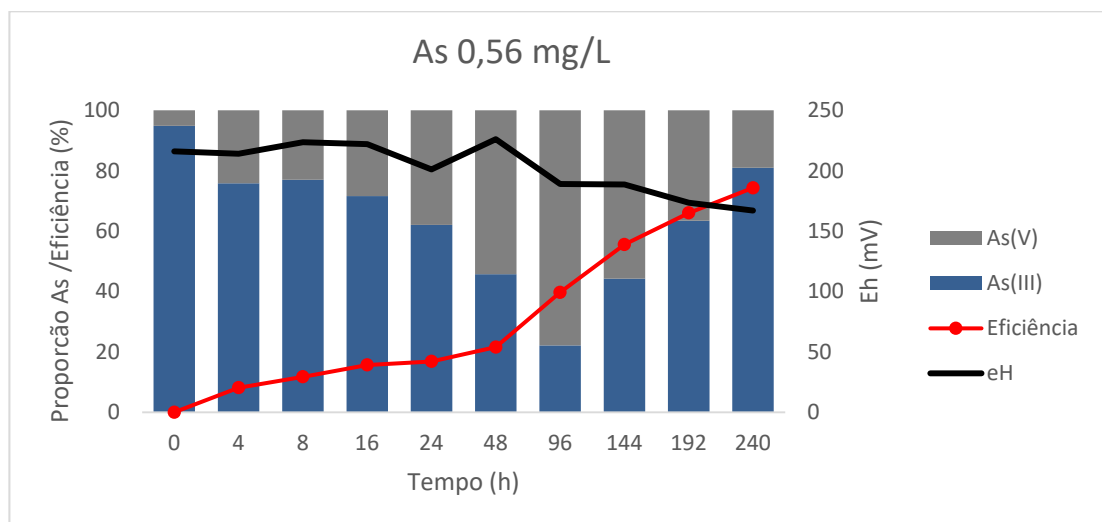


Figura 2. Relação entre a concentração inicial estimada utilizando-se a equação de regressão ajustada e a concentração inicial real de As.

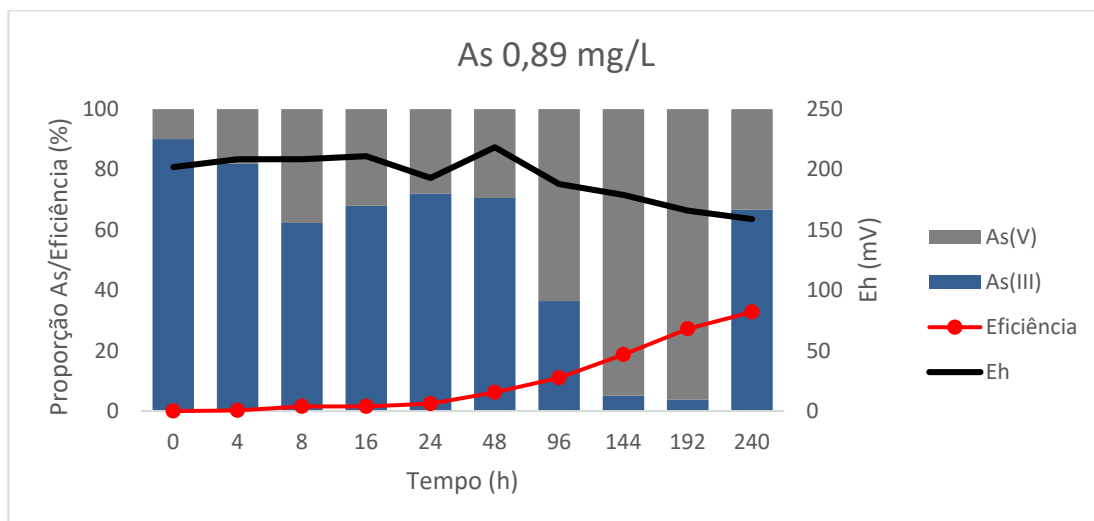
Na Figura 3 está representado a dinâmica do arsenato e arsenito nas três concentrações monitoradas. A partir do quarto dia (96 h), a maior parte do As(III) foi oxidado a As(V). Pode-se observar claramente que, pela linha de eficiência de absorção, há aumento na taxa de absorção a partir deste mesmo momento, o que indica que, quando há formação de As(V) no meio, ocorre maior absorção do metal. Explica-se este fenômeno devido aos mecanismos de absorção do arsênio. O arsenato possui estrutura semelhante à do fósforo e é absorvido pelas células radiculares via

transportadores de fosfato e, portanto, sua entrada é favorecida na planta. Em contrapartida, o arsenito também ser absorvido por meio das aquaporinas (classe de proteínas que formam poros na membrana celular das plantas), sendo identificado como substância estranha para planta, logo, mais tóxico (Wang et al., 2002; Wang et al., 2013; Leão et al., 2014).

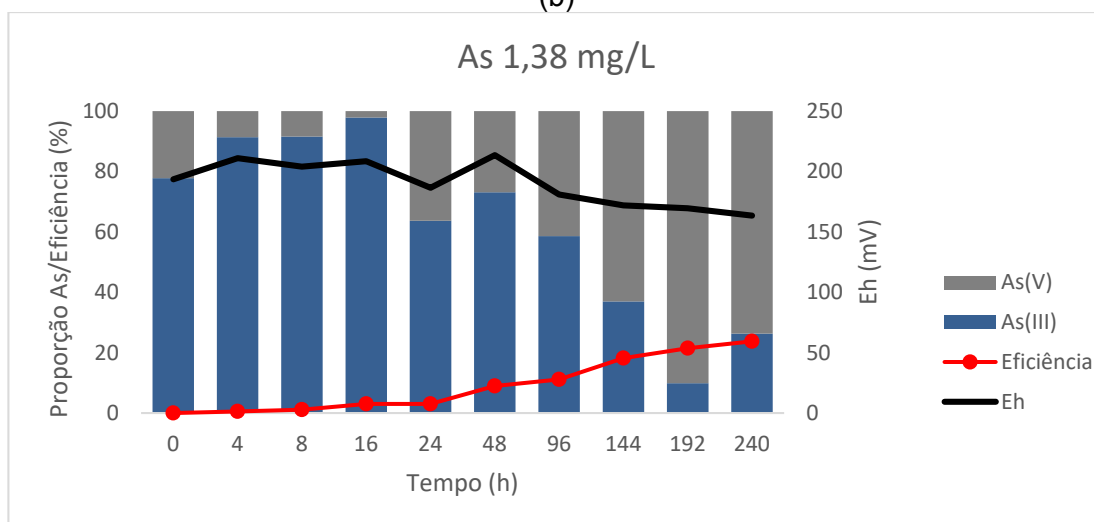
Ao final do experimento, a proporção de As(III) na solução nutritiva contaminada se sobressaiu em relação à de As(V), demonstrando que a forma pentavalente foi absorvida em maior quantidade pelas plantas, e os teores não absorvidos foram correspondentes aos do As(III). Adicionalmente, o monitoramento do potencial de oxirredução mostrou influência na dinâmica do arsênio no meio. Nota-se um decréscimo no potencial ao final do experimento, fato que coincide com o aumento na concentração de As(III) no meio.



(a)



(b)



(c)

Figura 3. Dinâmica das espécies de As ao longo do período de cultivo de aguapé em solução nutritiva contaminada com concentrações de (a) 0,56 (b) 0,89 e (c) 1,38 mgL⁻¹ de As, potencial de oxirredução do meio e eficiência de remoção de As pela planta.

Na Tabela 4 estão os valores de taxa de crescimento relativo (TCR), índice de tolerância (IT) e fator de bioacumulação (FB) do As nas plantas. Pode-se notar que houve diferença significativa entre o controle e as plantas cultivadas em solução nutritiva contaminada com As. Tal fato é, possivelmente, devido à presença de fosfato no ensaio controle e ausência do mesmo nos ensaios em que foi utilizada a solução nutritiva contaminada

com As. Todavia, como o objetivo é a máxima absorção do metaloide e não o crescimento da planta, considera-se aplicável a minimização da concentração de fosfato para maximizar a remoção de As. Adicionalmente, observou-se necrose foliar nas plantas submetidas às concentrações de 1,38 mg L⁻¹ de As (Figura 4).

As espécies inorgânicas de arsênio são geralmente tóxicas para as plantas, mesmo para aquelas que são capazes de acumular o mesmo. O arsenato atua como um análogo do fosfato e é transportado através da membrana plasmática, por meio de sistemas de transporte de fosfato. Uma vez dentro do citoplasma, ele compete com o fosfato, por exemplo substituindo o fosfato em ATP para formar ADP-As instável, o qual conduz a interrupção de fluxos de energia em células (Meharg e Hartley-Whitaker, 2002). No entanto, Bertolero et al. (1987) ressaltaram que o arsenato é rapidamente reduzido a arsenito no tecido vegetal e, portanto, baixas concentrações de As(V) não irão exercer toxicidade à planta. Tal fato explica o comportamento observado apenas na concentração de 1,38 mg L⁻¹, na qual também ocorreu expressivo fator de translocação (0,15). O arsenito também é altamente tóxico para as plantas, uma vez que reage com os grupos sulfidrilas (-SH) de enzimas e proteínas teciduais, levando à inibição das funções celulares e até morte da planta. Esta redução do arsenato em arsenito é provocada pela síntese de substâncias quelantes, principalmente a glutathiona, e posterior compartimentação destes compostos ligados ao arsenito nos vacúolos (Meharg e Hartley-Whitaker, 2002; Leão et al., 2014).

Tabela 4. Índices médios de desempenho da planta de acordo com a concentração de As na solução nutritiva de cultivo

As Inicial (mg L⁻¹)	TCR (mg g⁻¹d⁻¹)	IT (%)	FT
Controle	55,97 a	100,00 a	-
0,5	13,87 b	24,78 b	0,19
1,0	27,10 b	48,42 b	0,02
1,5	16,14 b	28,85 b	0,15

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna, não diferem entre si em nível de 5% de significância pelo teste Dunnett.

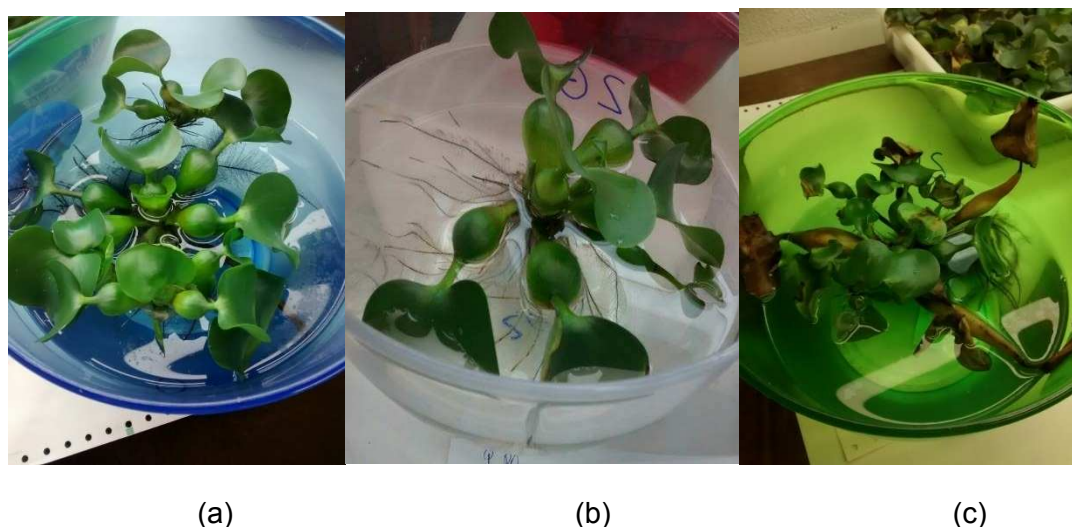


Figura 4. Plantas expostas a diferentes concentrações de arsênio (a) 0; (b) 0,89 e (c) 1,38 mg L⁻¹ na solução nutritiva utilizada no cultivo.

O fator de translocação (FT) mostra que o aguapé retém maior parte do As nas raízes. Em termos operacionais, este resultado indica que para efetiva remoção de As da água faz-se necessária remoção de toda planta, com cuidado especial para as raízes, onde se encontra maiores teores de As.

Houve decréscimo no fator de bioacumulação do metal pelo aguapé de acordo com a concentração de As. Singh et al. (2015a) também observaram decréscimo no acúmulo de arsênio na planta à medida que se aumenta sua concentração no meio. Fato explicado pelo limite de tolerância da planta. Portanto, pode-se concluir que, para as condições experimentais desta pesquisa, a concentração máxima suportável de As na água em que é cultivada a espécie *Eichhornia crassipes* é de 1 mg L⁻¹. É importante ressaltar que esta concentração, por se tratar de um metal pesado, é elevada. Fato corroborado pelas diretrizes da Organização Mundial de Saúde, que preconiza concentração máxima de As na água potável de 0,01 mg L⁻¹ (Who, 2011). No Brasil, o lançamento de efluentes

contendo arsênio limita a concentração do metal a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, indicando potencial de utilização da espécie vegetal para tratamento de efluentes e águas superficiais (Brasil, 2011).

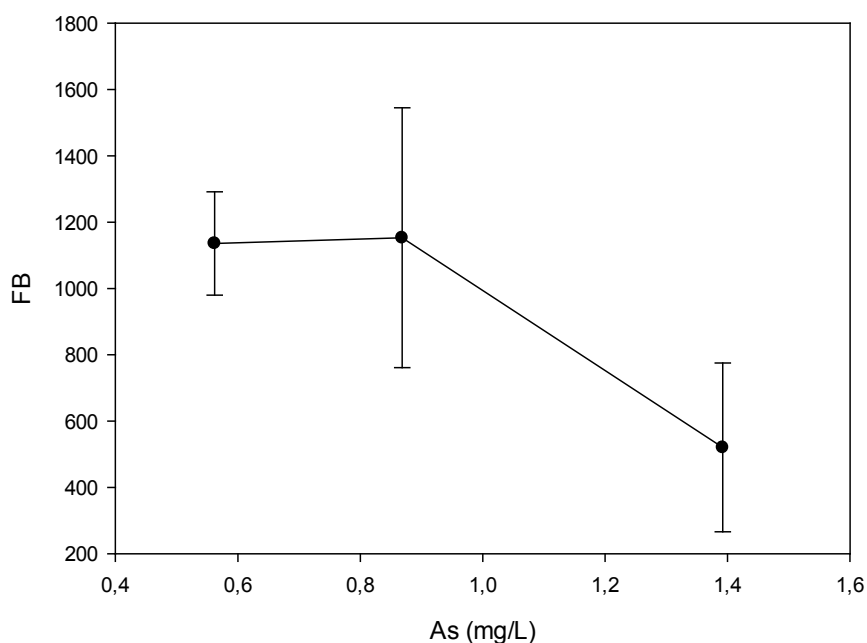


Figura 5. Fator de bioacumulação (FB) de acordo com a concentração de arsênio na solução nutritiva contaminada com As, utilizada no cultivo das plantas.

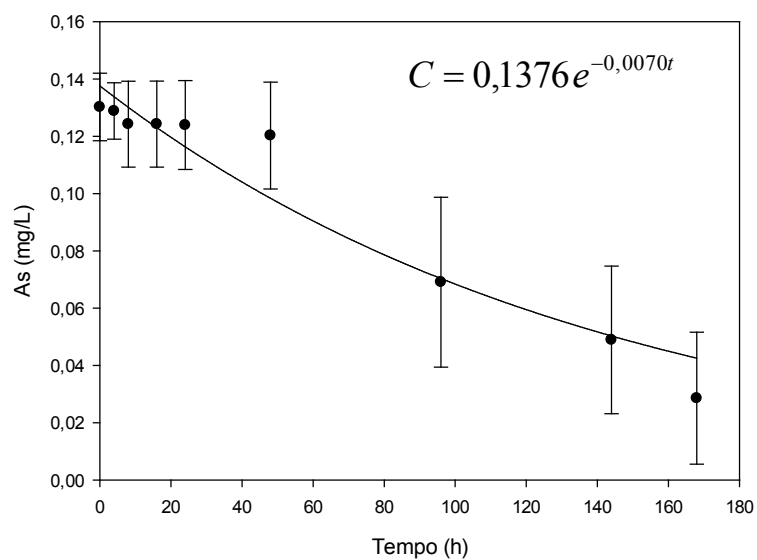
3.2. Cinética de remoção de As pela *Lemna valdiviana*

Tal como observado para o aguapé, a *L. valdiviana* apresentou decaimento da concentração de arsênio ao longo do período de tempo de seu cultivo na solução nutritiva contaminada. De maneira análoga, optou-se por utilizar a equação de cinética de primeira ordem para descrever a variação da concentração de arsênio do meio ao longo do período de tempo de cultivo, estando os coeficientes da regressão apresentados na Tabela 5.

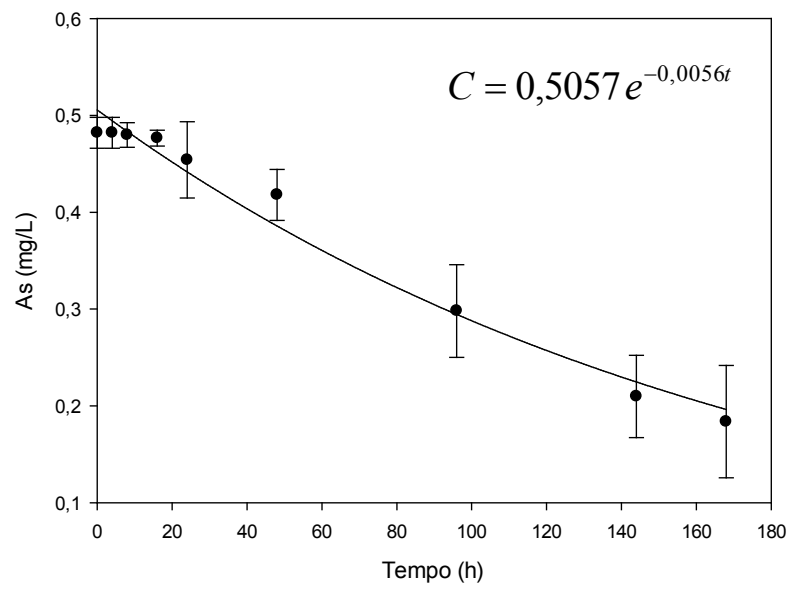
Tabela 5. Parâmetros de ajuste para o modelo linear e o de primeira ordem para cinética de remoção de As pela *L. valdiviana*

Concentração inicial As (mg L ⁻¹)	Primeira ordem			
	$y = ae^{-bx}$			
	0,13	0,48	0,99	1,4
R²	0,8229	0,9387	0,9866	0,7985
R²ajust	0,8118	0,9348	0,9858	0,7859
SEE	0,0178	0,0311	0,0199	0,0619
a	0,13768*	0,5057*	1,0021*	1,4126*
b	0,0070*	0,0056*	0,0035*	0,0015*

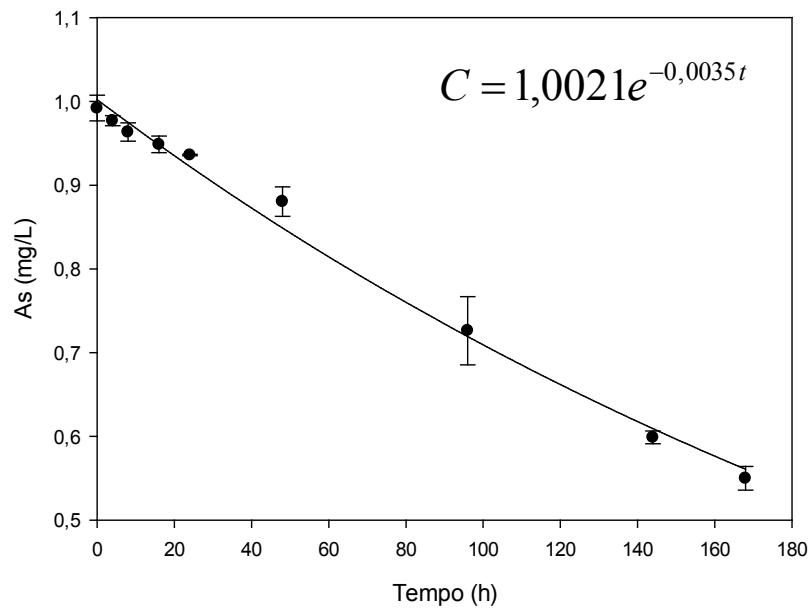
SEE: Estimativa do erro padrão R²: coeficiente de determinação R²ajust: Coeficiente de determinação ajustado; * Significativo a 1% de significância.



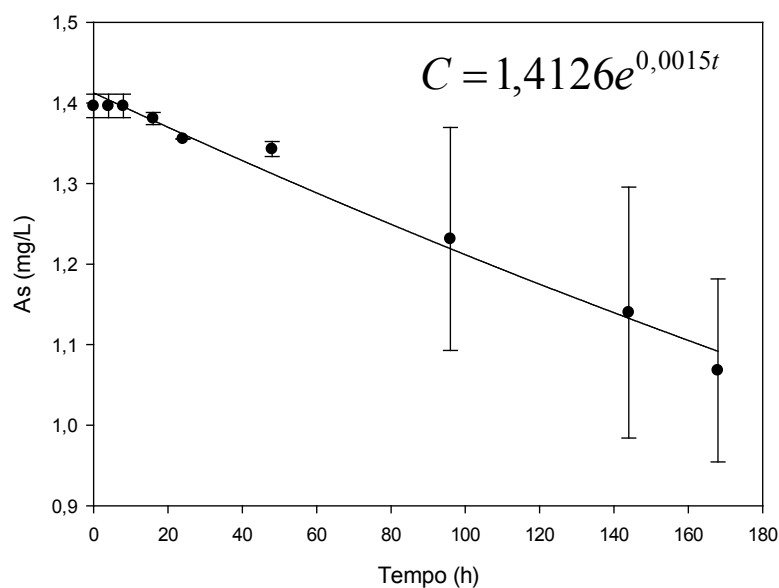
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 6. Remoção de As pela lemna com o tempo, quando cultivada em solução nutritiva contendo concentrações de (a) 0,13 mg L⁻¹; (b) 0,48 mg L⁻¹; (c) 0,99 mg L⁻¹ e 1,4 mg L⁻¹ desse elemento químico.

Para lemna, observou-se decréscimo linear do coeficiente de remoção com as concentrações de As avaliadas na solução nutritiva de cultivo da planta (Figura 7). Assim, pode-se estimar a taxa de absorção de arsênio pela planta a partir da concentração do metal na solução nutritiva contaminada. Utilizando-se a equação de cinética de remoção de primeira ordem, pode-se calcular o tempo necessário de cultivo da planta para que se possa alcançar a concentração final almejada. Este dado é extremamente útil na aplicação real do processo de fitorremediação.

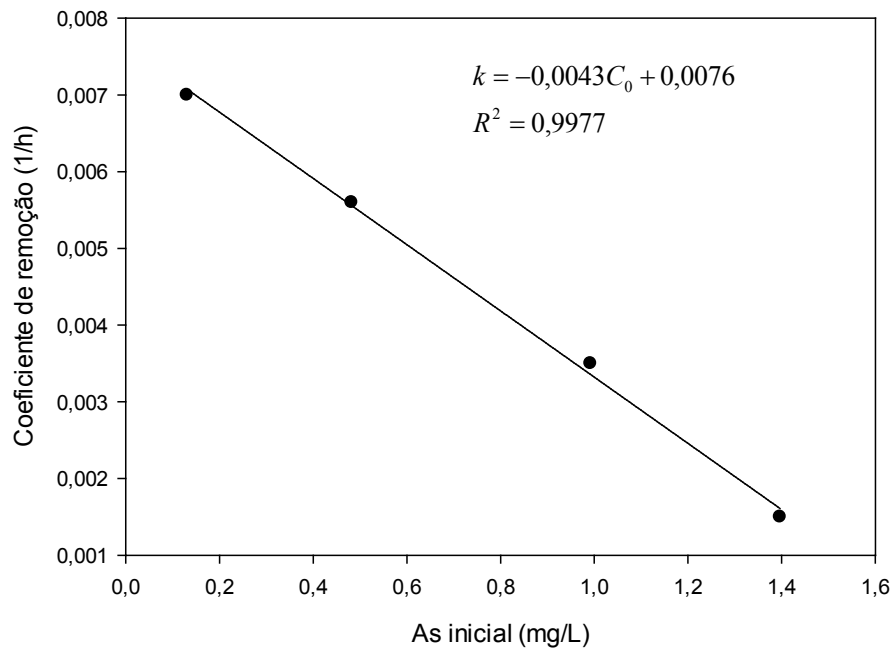
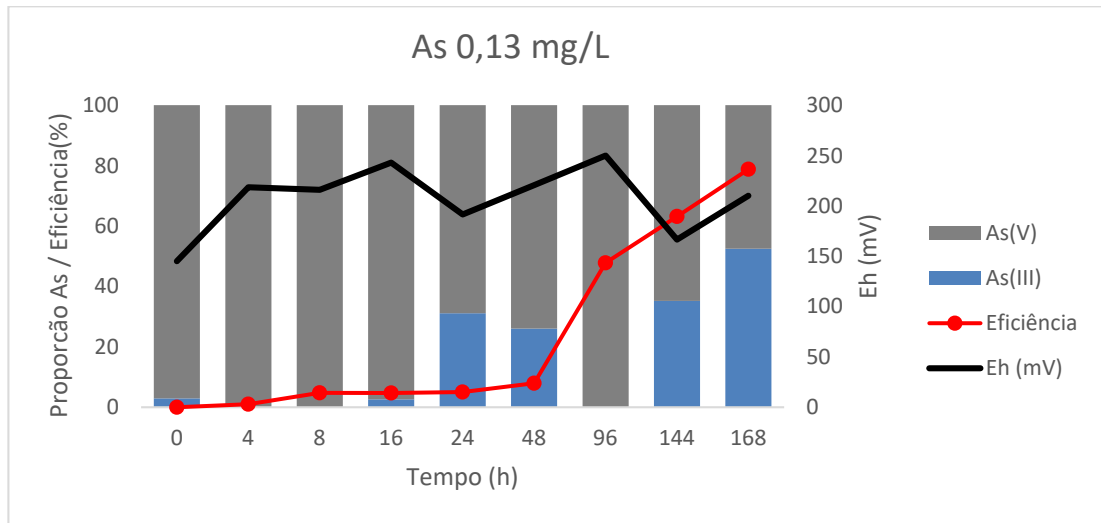


Figura 7. Relação entre coeficiente de remoção de As (k) e concentração de arsênio na solução nutritiva contaminada utilizada no cultivo da *L. valdiviana*.

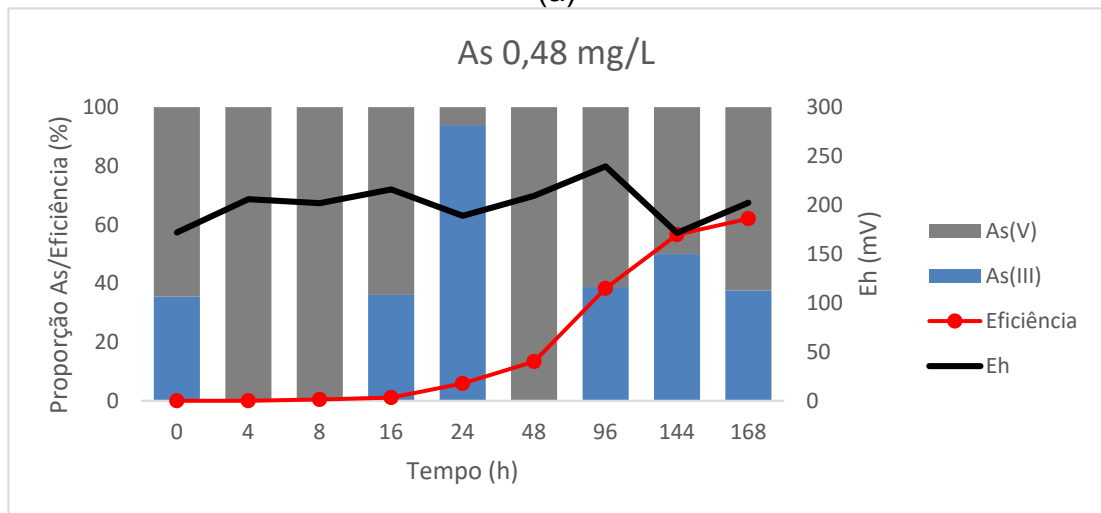
Pela Figura 7, ao utilizar o modelo linear obtido, pode-se observar que, para concentrações de arsênio acima de $1,77 \text{ mg L}^{-1}$, não há remoção expressiva de As no meio, tendo sido o coeficiente de remoção igual a zero quando a solução nutritiva apresentou esta concentração sob as condições testadas. Vale ressaltar que o que decresce é a taxa de remoção de arsênio e não a massa removida pelas plantas. Diversos trabalhos apontam maior acumulação de arsênio na planta com aumento de sua concentração no meio, o que também foi verificado neste trabalho (Alvarado et al., 2008; Duman et al., 2010; Leão et al., 2014). Todavia, o observado neste trabalho é que a taxa em que a planta remove o arsênio diminui com o aumento na concentração de As na solução nutritiva.

Diferentemente do observado para o aguapé, nos ensaios com a *L. valdiviana* foi constatado que a maior parte do As(III) foi oxidado para As(V) imediatamente na mistura dos sais, por ocasião do preparo da solução nutritiva contaminada (Figura 8). Este resultado possivelmente é consequência do concentração de nitrato, presente na concentração de 7,93

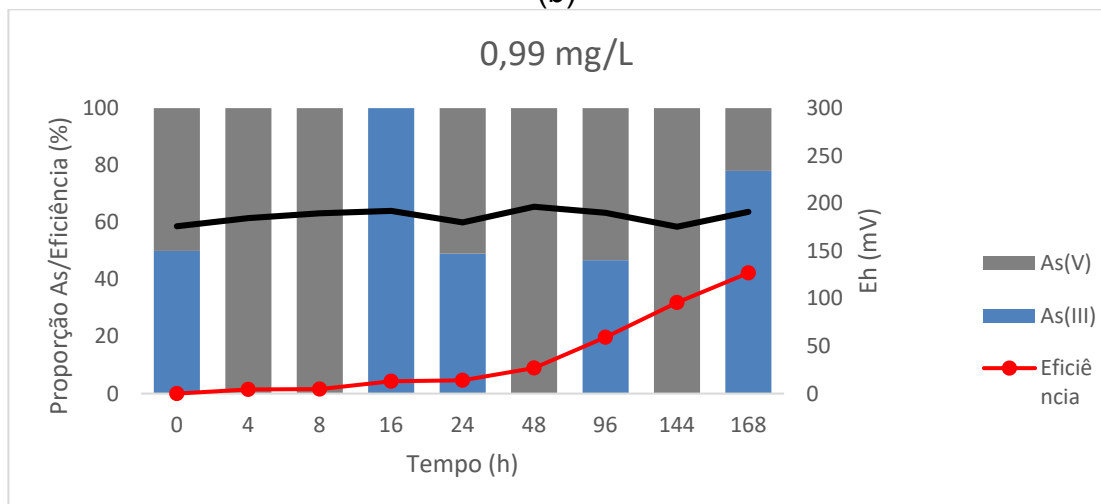
mmol L⁻¹ N-NO₃ para o ensaio com lenna e paro aguapé na concentração de 0,0887 mmol L⁻¹.



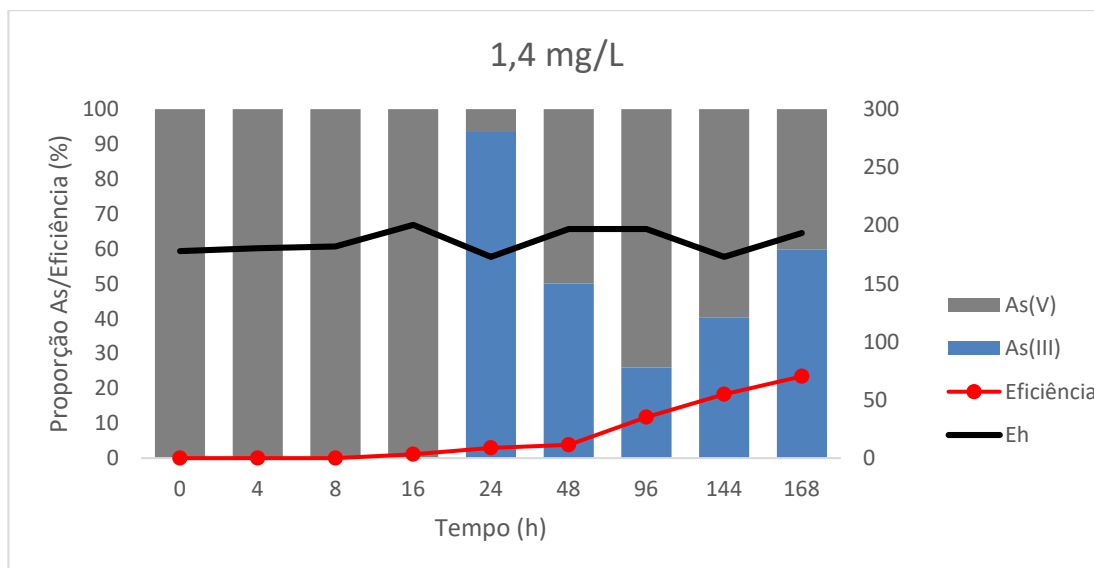
(a)



(b)



(c)



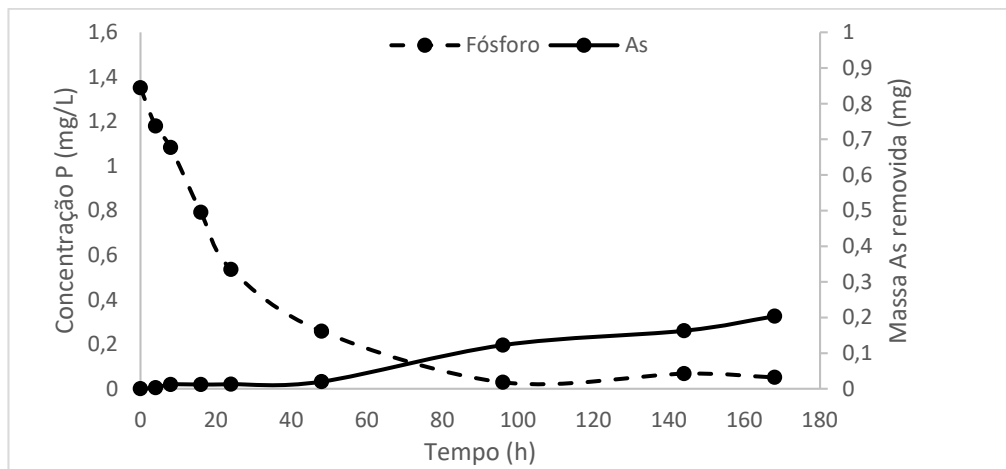
(d)

Figura 8. Dinâmica das espécies de As ao longo do período de cultivo da *L. valdiviana* em solução nutritiva contaminada com concentrações de (a) 0,13 (b) 0,48 e (c) 0,99 e (d) 1,4 mg L⁻¹, potencial de oxirredução do meio e eficiência de remoção de As pela para as.

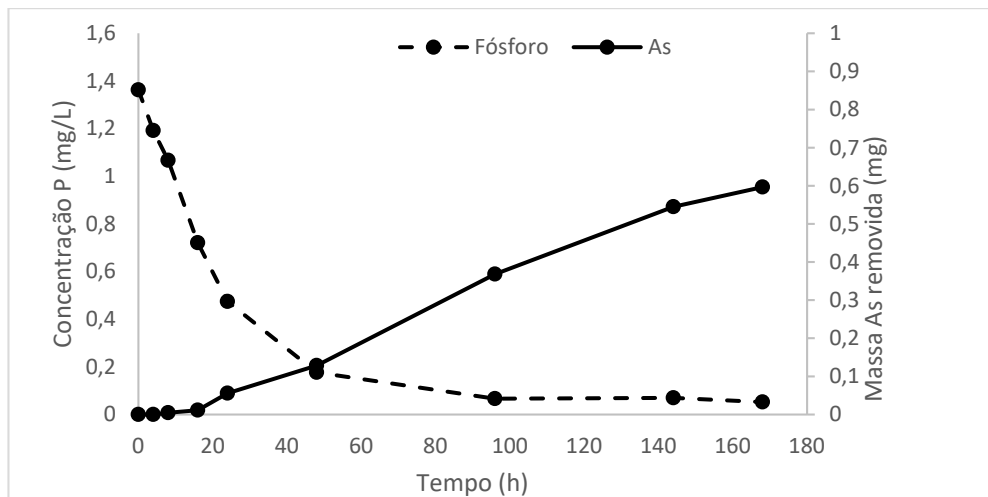
Mesmo que o arsenato tenha sido formado desde o início do ensaio, a absorção de As pela lemna só começou a ser observada após o tempo de retenção de 48 h. Assim, pode-se observar que a dinâmica de arsênio não interferiu na remoção do metal, como foi observado para o aguapé. Todavia, outra condição do meio culminou neste resultado: a presença de fósforo em solução.

A Figura 9 mostra a variação da concentração de fósforo no meio ao longo do período de tempo de cultivo da planta, bem como a massa de arsênio removida mesmo intervalo. Ficou explícito que a absorção de As só iniciou após a diminuição na concentração de P-PO₄ do meio, o qual ocorreu a partir de 48 h. Como já discutido extensivamente neste trabalho, o arsenato compete com a concentração de fósforo, devido à absorção pelos mesmos mecanismos na planta (Goswami et al., 2014). Por outro lado, como discutido na Capítulo III, níveis intermediários de P foram cruciais para maior absorção de arsênio na *L. valdiviana*, devido à sua elevada produção de biomassa. Um grande número de trabalhos indicam menor acúmulo de As

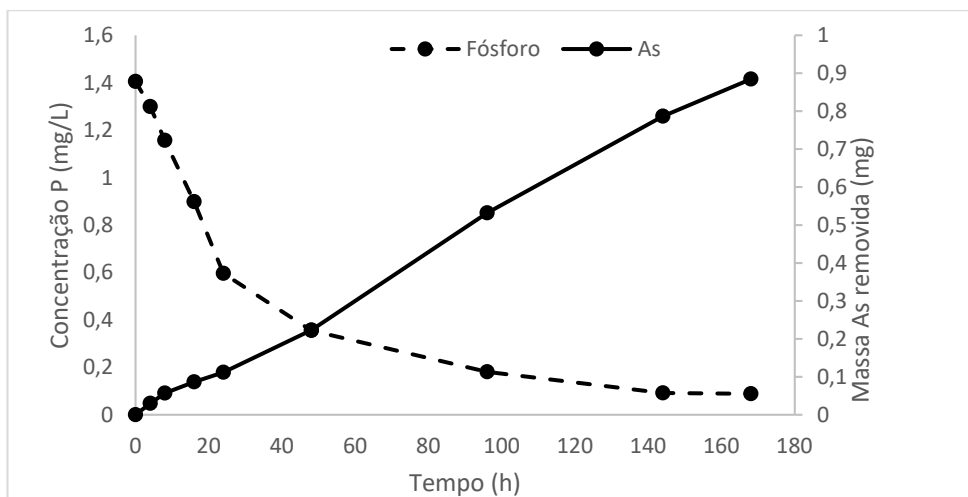
nas plantas com aumento de P no meio (Liu et al., 2004; Mkandawire e Dudel, 2005; Irtelli e Navari-Izzo, 2007; Wang et al., 2013). Entretanto, nesses trabalhos não se relaciona o parâmetro indireto, que é a produtividade, pois avaliam o As na planta e não no meio aquoso. Alvarado et al. (2008) afirmaram que o mecanismo de absorção de fósforo é altamente desenvolvido nas macrófitas e, portanto, as mesmas possuem rápida absorção do fósforo, tal como verificado na Figura 9.



(a)



(b)



(c)

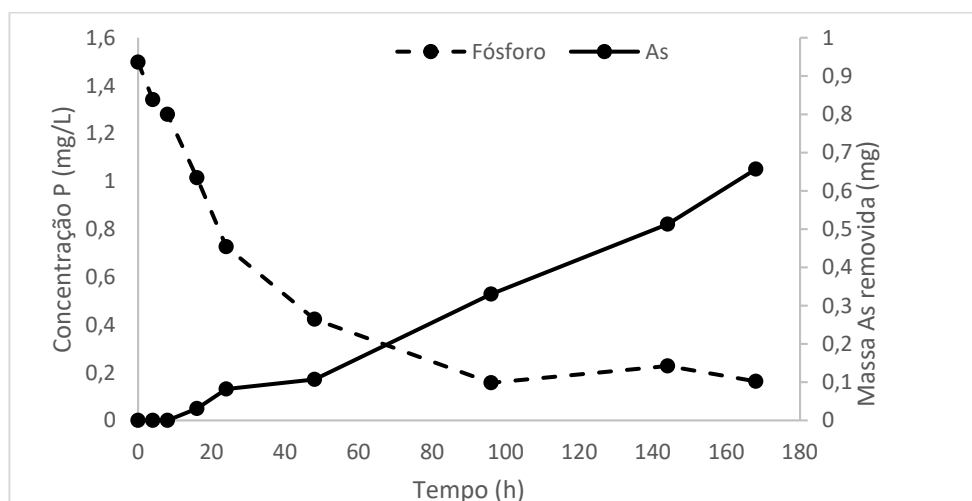


Figura 9. Concentração de P e massa de As removida ao longo do período de cultivo da *L. valdiviana* em solução nutritiva contendo as concentrações de (a) 0,13 (b) 0,48 e (c) 0,99 e (d) 1,4 mg L⁻¹ de As.

Por conseguinte, pode-se afirmar que o fósforo compete pela absorção de arsenato na *Lemna valdiviana* e, em contrapartida, implica em elevado desenvolvimento da mesma. Fato corroborado pela taxa de crescimento relativa (TCR) e índice de tolerância (IT) ao As, apresentados na Tabela 6. Realizou-se um teste de médias para os diferentes níveis de arsênio na solução e foi constatado que não houve diferença estatística em relação às concentrações de até 0,99 mg L⁻¹ de As na solução nutritiva contaminada, em relação ao controle, ou seja, até aproximadamente 1 mg L⁻¹

¹ de As não se observou toxicidade do As na planta. Já em relação ao aguapé, na solução nutritiva em que não havia fósforo na solução, foi verificado significativa redução na TCR e IT, desde a primeira concentração de As avaliada.

Tabela 6. Índices médios de desempenho da *L. valdiviana* de acordo com a concentração de As na solução nutritiva utilizada no cultivo da planta

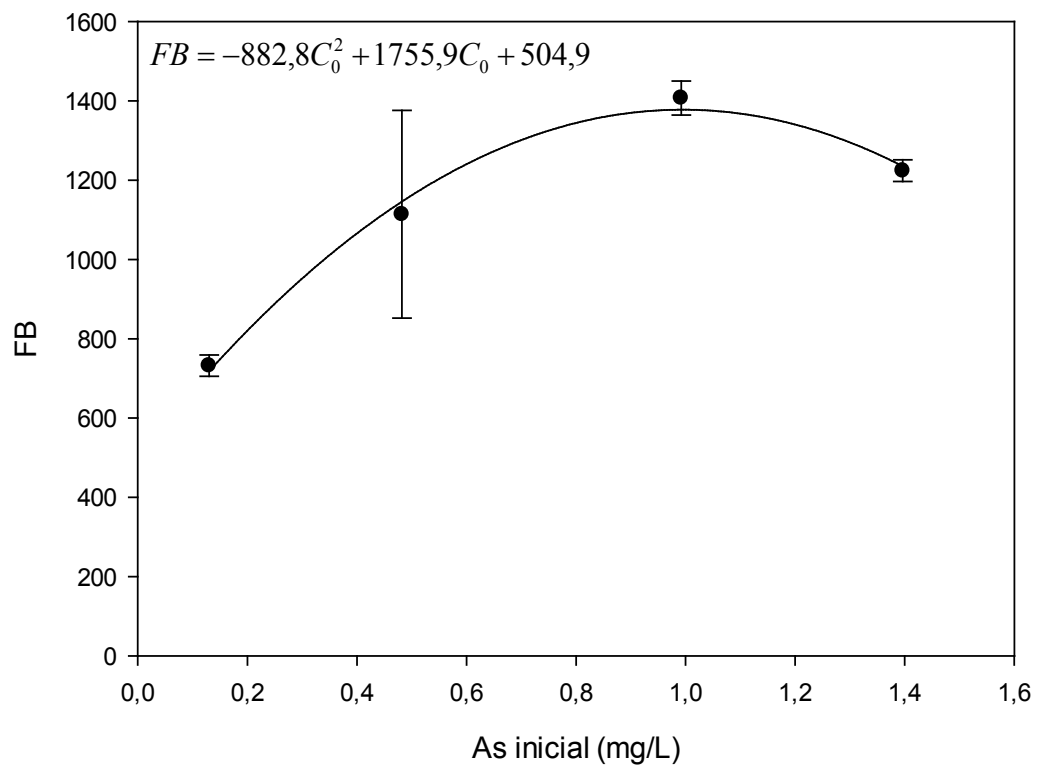
Níveis de As (mg L⁻¹)	TCR (mg g⁻¹d⁻¹)	IT (%)
Nulo (0,0)	210 a	100 a
Nível 1 (0,13)	202 a	96 a
Nível 2 (0,48)	208 a	99 a
Nível 3 (0,99)	162 a	77 a
Nível 4 (1,40)	103 b	49 b

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna, não diferem entre si em nível de 5% de significância pelo teste Dunnett.

Leão et al. (2014) estudaram a espécie *Lemna gibba* e observaram redução linear da TCR quando as plantas foram cultivadas em solução nutritiva contendo concentrações de 0,25 a 1,5 mg L⁻¹ de As. As TCR variam de 181 mg g⁻¹ d⁻¹ na solução nutritiva controle e 27 mg g⁻¹ d⁻¹ na solução nutritiva contendo 1,5 mg L⁻¹ de As.

O fator de bioacumulação reduziu, segundo uma função quadrática ($p < 0,0001$), para concentrações acima de 0,99 mg L⁻¹, como mostrado na Figura 10. Duman et al. (2010) estudaram respostas fisiológicas da espécie *Lemna minor* para várias concentrações de As(III) e As(V) e encontraram resultados semelhantes. Estes autores observaram máximo FB para concentrações de 1,2 mg L⁻¹ de ambas as formas de As, sendo que houve redução para valores acima e abaixo desta concentração. Também foi verificado, por estes mesmo autores, que a bioacumulação, bem como o FB, foi significativamente maior para as espécies vegetais cultivadas em

soluções nutritivas contendo arsenito, quando comparado ao que foi obtido para plantas cultivadas em soluções contaminadas com arsenato. Leão et al. (2014) obtiveram uma função quadrática ao relacionar a bioacumulação de As pela *L. gibba* e a concentração de As na solução de cultivo das plantas, sendo a redução observada a partir de 1,0 mg L⁻¹, tal como observado no presente trabalho. Adicionalmente, a espécie se mostrou hiperacumuladora de As, com fator de bioacumulação acima de 1000.



4. CONCLUSÕES

- A variação na concentração de arsênio decresceu exponencialmente ao longo do período de tempo de cultivo da *Eichhornia crassipes* e *Lemna valdiviana*, possibilitando o ajuste de equações de cinética de remoção de primeira ordem;
- O efeito tóxico do metal em altas concentrações pôde ser observado ao se verificar que o coeficiente de remoção do arsênio na solução nutritiva contaminada (k) diminuiu com o aumento na sua concentração inicial, sendo que, para a *Lemna*, a relação foi linear;
- A dinâmica do As(III) e As(V) na solução nutritiva influenciou a absorção de arsênio pelo aguapé. A planta levou 96 horas para apresentar absorção substancial desse metaloide, tempo coincidente com o da formação do arsenato no meio;
- A absorção de As pela *L. valdiviana* apresentou pouca relação com a dinâmica de oxidação do metaloide. Todavia, o metal só foi absorvido pela planta após decaimento dos níveis de fosfato na solução nutritiva, o que ocorreu após um tempo de 48 h;
- Concentrações acima de 1 mg L^{-1} de As na solução nutritiva implicaram em efeitos deletérios em ambas espécies vegetais e em comprometimento da sua capacidade de fitorremediação, de águas contaminadas com esse elemento químico, sendo que o fator de bioacumulação decresceu a partir desta concentração, tanto para *Eichhornia crassipes* quanto para *Lemna valdiviana*.

5. REFERÊNCIAS

ABEDIN, M. J.; FELDMANN, J.; MEHARG, A. A. Uptake Kinetics of Arsenic Species in Rice Plants. *Plant Physiology*, v. 128, n. 3, p. 1120-1128, 2002.

ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals-- concepts and applications. *Chemosphere*, v. 91, n. 7, p. 869-881, 2013.

ALVARADO, S.; GUEDEZ, M.; LUE-MERU, M. P.; NELSON, G.; ALVARO, A.; JESUS, A. C.; GYULA, Z. Arsenic removal from waters by bioremediation with the aquatic plants Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Lesser Duckweed (*Lemna minor*). *Bioresource technology*, v. 99, n. 17, p. 8436-8440, 2008.

BERTOLERO, F.; POZZI, G.; SABBIONI, E.; SAFFIOTTI, U. Cellular uptake and metabolic reduction of pentavalent to trivalent arsenic as determinants of cytotoxicity and morphological transformation. *Carcinogenesis* v. 8, n. 6, p. 803–808, 1987.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA n. 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Ministério do Meio Ambiente. Brasília. 2011

CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 23, p. 458-460, 1975.

DUMAN, F.; OZTURK, F.; AYDIN, Z. Biological responses of duckweed (*Lemna minor* L.) exposed to the inorganic arsenic species As(III) and As(V): effects of concentration and duration of exposure. *Ecotoxicology*, v. 19, n. 5, p. 983-993, 2010.

FISHER, R. A. Some remarks on the methods formulated in a recent article on 'The quantitative analysis of plant growth'. *Annals of Applied Biology*, v. 7, n. 4, p. 367-372, 1921.

GOSWAMI, C.; MAJUMDER, A.; MISRA, A. K.; BANDYOPADHYAY, K. Arsenic Uptake by *Lemna minor* in Hydroponic System. *International Journal of Phytoremediation*, v. 16, n. 12, p. 1221-1227, 2014.

GUSMAN, G. S.; OLIVEIRA, J. A.; FARNESE, F. S.; CAMBRAIA, J. Arsenate and arsenite: the toxic effects on photosynthesis and growth of lettuce plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 35, n. 4, p. 1201-1209, 2013.

IRTELLI, B.; NAVARI-IZZO, F. Uptake kinetics of different arsenic species by *Brassica carinata*. *Plant and Soil*, v. 303, n. 1, p. 105, 2007.

ISLAM, M. S.; SAITO, T.; KURASAKI, M. Phytofiltration of arsenic and cadmium by using an aquatic plant, *Micranthemum umbrosum*: Phytotoxicity, uptake kinetics, and mechanism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 112, p. 193-200, 2015.

JAIN, C. K.; ALI, I. Arsenic: Occurrence, toxicity and speciation techniques. *Water Research*, v. 34, n. 17, p. 4304-4312, 2000.

JOVANOVIC, B. M.; VUKASINOVIC-PESIC, V. L.; VELJOVIC, D. N.; RAJAKOVIC, L. V. Arsenic removal from water using low-cost adsorbents – a comparative study. *Journal of the Serbian Chemical Society*, v. 76, n. 10, p. 1437-1452, 2011.

LEÃO, G. A.; DE OLIVEIRA, J. A.; FELIPE, R. T. A.; FARNESE, F. S.; GUSMAN, G. S. Anthocyanins, thiols, and antioxidant scavenging enzymes are involved in *Lemna gibba* tolerance to arsenic. *Journal of Plant Interactions*, v. 9, n. 1, p. 143-151, 2014.

LITTER, M. I.; ALARCON-HERRERA, M. T.; ARENAS, M. J.; ARMIENTA, M. A.; AVILES, M.; CACERES, R. E.; CIPRIANI, H. N.; CORNEJO, L.; DIAS, L. E.; CIRELLI, A. F.; FARFAN, E. M.; GARRIDO, S.; LORENZO, L.; MORGADA, M. E.; OLMOS-MARQUEZ, M. A.; PEREZ-CARRERA, A. Small-scale and household methods to remove arsenic from water for drinking purposes in Latin America. *Science of the Total Environment*, v. 429, p. 107-122, 2012.

LIU, W. J.; ZHU, Y. G.; SMITH, F. A.; SMITH, S. E. Do phosphorus nutrition and iron plaque alter arsenate (As) uptake by rice seedlings in hydroponic culture? *New Phytologist*, v. 162, n. 2, p. 481-488, 2004.

MA, L. Q.; KOMAR, K. M.; TU, C.; ZHANG, W.; CAI, Y.; KENNELLEY, E. D. A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature*, v. 409, n. 6820, p. 579-579, 2001.

MAHARJAN, M.; WATANABE, C.; AHMAD, S. A.; OHTSUKA, R. Arsenic contamination in drinking water and skin manifestations in lowland Nepal: the first community-based survey. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 73, n. 2, p. 477-479, 2005.

MATSCHULLAT, J.; BORBA, R. P.; DESCHAMPS, E.; FIGUEIREDO, B. R.; GABRIO, T.; SCHWENK, M. Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle, Brazil. *Applied Geochemistry*, v. 15, n. 2, p. 181-190, 2000.

MEHARG, A. A.; HARTLEY-WHITAKER, J. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist*, v. 154, n. 1, p. 29-43, 2002.

MEHARG, A. A.; JARDINE, L. Arsenite transport into paddy rice (*Oryza sativa*) roots. *New Phytologist*, v. 157, n. 1, p. 39-44, 2003.

MKANDAWIRE, M.; DUDEL, E. G. Accumulation of arsenic in *Lemna gibba* L. (duckweed) in tailing waters of two abandoned uranium mining sites in Saxony, Germany. *Science of The Total Environment*, v. 336, n. 1–3, p. 81-89, 2005.

RAHMAN, M. A.; HASEGAWA, H.; UEDA, K.; MAKI, T.; RAHMAN, M. M. Arsenic uptake by aquatic macrophyte *Spirodela polyrhiza* L.: interactions with phosphate and iron. *Journal of hazardous materials*, v. 160, n. 2-3, p. 356-361, 2008.

RAJ, A.; SINGH, N. Phytoremediation of arsenic contaminated soil by arsenic accumulators: a three year study. *Bull Environ Contam Toxicol*, v. 94, n. 3, p. 308-313, 2015.

SINGH, A. K.; MAJUMDER, C. B.; MISHRA, S. Removal of Arsenic from contaminated wastewater using *Eichhornia crassipes*. *Integrated Research Advances*, v. 2, n. 1, p. 1-4, 2015a.

SINGH, R.; SINGH, S.; PARIHAR, P.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M. Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 112, p. 247-270, 2015b.

SRIVASTAVA, M.; MA, L. Q.; SINGH, N.; SINGH, S. Antioxidant responses of hyper-accumulator and sensitive fern species to arsenic. *Journal of Experimental Botany*, v. 56, n. 415, p. 1335-1342, 2005.

WANG, J.; ZHAO, F. J.; MEHARG, A. A.; RAAB, A.; FELDMANN, J.; MCGRATH, S. P. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata*. Uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation. *Plant Physiol*, v. 130, n. 3, p. 1552-1561, 2002.

WANG, N.-X.; LI, Y.; DENG, X.-H.; MIAO, A.-J.; JI, R.; YANG, L.-Y. Toxicity and bioaccumulation kinetics of arsenate in two freshwater green

algae under different phosphate regimes. *Water Research*, v. 47, n. 7, p. 2497-2506, 2013.

WHO. *Guidelines for Drinking-Water Quality*. World Health Organisation, Geneva., v. 4, p. 315-318, 2011.

WILKINS, D. A. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytologist*, v. 80, n. 3, p. 623-633, 1978.

YAMAMURA, S.; AMACHI, S. Microbiology of inorganic arsenic: From metabolism to bioremediation. *Journal of bioscience and bioengineering*, p. 1-9, 2014.

ZHANG, W. H.; CAI, Y.; TU, C.; MA, L. Q. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *Science of the Total Environment*, v. 300, n. 1-3, p. 167-177, 2002.

ZHANG, X.; LIN, A. J.; ZHAO, F. J.; XU, G. Z.; DUAN, G. L.; ZHU, Y. G. Arsenic accumulation by the aquatic fern *Azolla*: comparison of arsenate uptake, speciation and efflux by *A. caroliniana* and *A. filiculoides*. *Environ Pollut*, v. 156, n. 3, p. 1149-1155, 2008.

ZHANG, X.; ZHAO, F.-J.; HUANG, Q.; WILLIAMS, P. N.; SUN, G.-X.; ZHU, Y.-G. Arsenic uptake and speciation in the rootless duckweed *Wolffia globosa*. *New Phytologist*, v. 182, n. 2, p. 421-428, 2009.

ZHAO, F. J.; MA, J. F.; MEHARG, A. A.; MCGRATH, S. P. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytol*, v. 181, n. 4, p. 777-794, 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento deste trabalho possibilitou agregar os seguintes conhecimentos acerca do tema:

Os fatores pH, nitrogênio sob a forma de nitrato e fosfato interferem significativamente no processo de fitorremediação de água contaminada com arsênio pelas espécies *Eichhornia crassipes* e *Lemna valdiviana*.

Para o aguapé, níveis mínimos de P-PO₄ e N-NO₃ culminaram em maior absorção de As. Já, para a Lemna, devido à sua intensa produção de biomassa, níveis intermediários destes elementos propiciaram maior absorção do metal.

Os níveis de pH em torno da neutralidade, para ambas espécies, proporcionam otimização no processo de fitorremediação com essas plantas, sendo a Lemna mais afetada por pequenas variações nessas condições do meio.

Nas condições otimizadas, ambas as espécies vegetais se mostraram hiperacumuladoras de As para concentrações de até 1,0 mg L⁻¹ do metaloide na solução nutritiva de cultivo das plantas.

A cinética de primeira ordem descreveu satisfatoriamente o decaimento na concentração de arsênio na solução nutritiva contaminada pelas espécies vegetais estudadas. O coeficiente de remoção decresceu à medida em que se aumentou a concentração de As na solução nutritiva.

Elevadas concentrações de arsênio, acima de 1,0 mg L⁻¹, influenciaram negativamente no crescimento das plantas e sua capacidade de fitorremediação de águas contaminadas.

As espécies *Eichhornia crassipes* e *Lemna valdiviana*, se respeitadas as condições adequadas de cultivo, possuem elevado potencial para fitorremediar águas contaminadas com arsênio, em escala plena.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Toda pesquisa gera indagações a serem sanadas em trabalhos posteriores. Desta forma, tem-se como sugestões para trabalhos futuros as seguintes temáticas:

- Avaliação das concentrações de ferro e nitrato na absorção de arsênio;
- Analisar a influência da fonte inicial de arsênio, As(III) e As(V), na otimização;
- Testar condições ambientais que possam interferir no processo, tais como luminosidade e temperatura;
- Avaliar em termos ecotoxicológicos o potencial de remediação pelas plantas.
- Avaliar se o consorcio de espécies vegetais possibilitam maiores eficiências e as condições que favorecem o processo;
- Propor e testar mecanismos de recuperação de metais absorvidos pelas espécie.

APÊNDICE I

ENSAIOS EXPERIMENTAIS

Ensaio	Variáveis		
	pH	P-PO ₄ ³⁻	N-NO ₃ ⁻
1	-1,00000	-1,00000	-1,00000
2	-1,00000	-1,00000	1,00000
3	-1,00000	1,00000	-1,00000
4	-1,00000	1,00000	1,00000
5	1,00000	-1,00000	-1,00000
6	1,00000	-1,00000	1,00000
7	1,00000	1,00000	-1,00000
8	1,00000	1,00000	1,00000
9	-1,68179	0,00000	0,00000
10	1,68179	0,00000	0,00000
11	0,00000	-1,68179	0,00000
12	0,00000	1,68179	0,00000
13	0,00000	0,00000	-1,68179
14	0,00000	0,00000	1,68179
15 (C)	0,00000	0,00000	0,00000
16 (C)	0,00000	0,00000	0,00000
17 (C)	0,00000	0,00000	0,00000
18 (C)	0,00000	0,00000	0,00000
19 (C)	0,00000	0,00000	0,00000
20 (C)	0,00000	0,00000	0,00000

Em que,

P-PO₄³⁻: Concentração de fósforo na forma de fosfato

N-NO₃⁻: Concentração de nitrogênio na forma de nitrato

APÊNDICE II

SOLUÇÃO NUTRITIVA CLARK (1975)

Elemento	Concentração (mmol L ⁻¹)
Ca	2,6
K	1,8
Mg	0,6
N-NH ₄	0,9
N-NO ₃	6,9
S	0,5
Cl	0,5
P	0,069
Mn	0,007
B	0,019
Zn	0,002
Mo	0,0006
Cu	0,0005
Fe-FeEDTA	0,038