

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - MG
CAMPUS AVANÇADO DE POÇOS DE CALDAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA AMBIENTAL

LUANA LORCA SARTORIS GIMENES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE REMOÇÃO DE ARSÊNIO
UTILIZANDO *Lemna minor* L. (1753)**

POÇOS DE CALDAS/MG

2015

LUANA LORCA SARTORIS GIMENES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE REMOÇÃO DE ARSÊNIO
UTILIZANDO *Lemna minor* L. (1753)**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Augusto Zaitune Pamplin

Co-orientador: Prof. Dr. Gian Paulo Giovanni Freschi

POÇOS DE CALDAS/ MG

2015

G491a Gimenes, Luana Lorca Sartoris.

Avaliação do potencial de remoção de arsênio utilizando *Lemna minor* L. (1753) / Luana Lorca Sartoris Gimenes. – Poços de Caldas, 2015.

54 f. -

Orientador: Paulo Augusto Zaitune Pamplin.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2015.

Bibliografia.

1. Fitorremediação. 2. Arsênio. 3. Água-Poluição. 4. Plantas aquáticas. I. Pamplin, Paulo Augusto Zaitune. II. Título.

CDD: 628.16

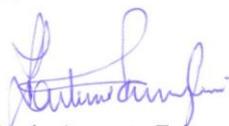
LUANA LORCA SARTORIS GIMENES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE REMOÇÃO DE ARSÊNIO
UTILIZANDO *Lemna minor* L. (1753)**

A banca examinadora abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciência e Engenharia Ambiental, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Alfenas.

Área de Concentração: Ciência e Engenharia Ambiental.

Aprovada em: 29 de outubro de 2015.



Prof (a) Dr (a). Paulo Augusto Zaitune Pamplin

Instituição: Unifal – Poços de Caldas



Prof (a) Dr (a). Marcela Bianchessi da Cunha Santino

Instituição: Ufscar- São Carlos



Prof (a) Dr (a). Carolina Dakuzaku Freschi

Instituição: Unifal - Alfenas

*Dedico à minha família,
pelo apoio na realização deste.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha vida, pela minha saúde e sabedoria, pois sem estes eu não estaria aqui.

Aos meus orientadores Dr. Paulo Augusto Zaitune Pamplin e Dr. Gian Paulo Giovanni Freschi pela dedicação, atenção e paciência durante a realização deste trabalho.

À Bianca Santos Pinheiro por ter me ensinado muito, pela ajuda e pelo companheirismo nas altas horas de jornada de trabalho e por ter se tornado uma grande amiga.

Aos colegas de trabalho Ailton Moreira e Luís Felipe Costa, o meu muito obrigado pela ajuda. Aos companheiros André Araújo e Natália Rodrigues, pelo auxílio prestado na realização desta pesquisa.

Aos técnicos do laboratório Aline Andrade Godoy, Gustavo, João, Carlos, Cristiano, Alessandra e Flávia que estavam sempre disponíveis para auxiliar e aos servidores da Unifal - Poços de Caldas pela atenção e que de alguma forma contribuíram para a realização deste.

À amizade de Elis Nogueira que começou na Unifal e que perdure. Obrigada pelas risadas que nos descontraíam.

À Carolina Freschi pela ajuda e companheirismo no laboratório.

A todos os professores que passaram pela Pós de Ciência e Engenharia Ambiental da Unifal, pelos ensinamentos, que com certeza nos engrandeceram muito.

A todas as pessoas que tiveram ao meu lado neste período, me ajudando, me apoiando e mandando muitas vibrações positivas.

Ao João Maurício Carvalho Guimarães pelo companheirismo, por estar ao meu lado em todas as situações, por me entender, me ajudar e me apoiar. Muito obrigada.

E agradeço principalmente a minha família! Minha mãe Lucia Helena Sartoris, meu pai João Francisco Lorca Gimenes, minha avó Ordalia Sartoris, meus irmãos Diego Lorca Gimenes e Igor Lorca Gimenes. Obrigada pelo apoio, pelo incentivo, por entenderem que eu amo a ciência e pela paciência que tiveram comigo durante todo o tempo. Sem vocês não sou nada!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

Arsênio é um dos contaminantes inorgânicos mais tóxicos conhecidos, mesmo em pequenas quantidades, e muitos problemas podem ocorrer com a exposição humana a ele. Assim, o uso de tecnologias adequadas e com baixo custo torna-se essencial para remover este contaminante do ambiente. A fitorremediação é uma técnica promissora que está ganhando maior atenção no meio científico, pois possui facilidade na implantação e resistência das plantas em capturar ou simplesmente neutralizar a ação de determinados compostos tóxicos da água, servindo como verdadeiros filtros “verdes”. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência da macrófita *Lemna minor* na remoção de arsênio, verificando a seletividade da planta para as espécies inorgânicas de arsênio (III e V) e avaliar o melhor tempo de remoção. Para os experimentos, plantas saudáveis (aproximadamente 0,5 g de biomassa fresca) foram selecionadas e transferidas para béqueres contendo diferentes concentrações de cada forma de arsênio (50; 100; 200; 300; 400 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$), em solução nutriente Steinberg diluído (50%). As concentrações de As na água e na biomassa das plantas foram determinadas utilizando-se um Espectrômetro de Absorção Atômica em Chama, com geração de hidretos. Por meio da determinação de As (III) na solução contendo a *Lemna minor* por até 64 horas, observou-se uma queda gradativa do sinal de absorbância do As na solução até o período de 48 horas. Em todas as concentrações analisadas obtiveram percentagem de remoção maior que 50%, sendo crescente em comparação a concentração inicial. *Lemna minor* foi eficiente para remoção de As (III) em solução em todas as concentrações e nas condições estudadas tendo como maior taxa de remoção o período de 48 horas. Em sua biomassa seca percebeu-se maior acúmulo de As nas maiores concentrações testadas, a remoção então é mais eficiente quando é exposta a concentrações maiores do contaminante. Já para o As (V) não houve eficiência de remoção da solução em todas as concentrações testadas e também a análise da biomassa seca dessas plantas demonstraram que não houve grande acúmulo de As nos tecidos. Esse resultado demonstra um potencial seletivo da planta para a remoção de As (III), espécie mais tóxica, podendo ser empregada para a determinação/remoção seletiva de arsênio.

Palavras-chave: Fitorremediação. Arsênio. *Lemna minor*.

ABSTRACT

Arsenic is one of the most toxic known inorganic contaminants, even in small concentrations, and many problems can occur with human exposure to it. Thus, the use of suitable technologies and at low cost becomes essential to remove this contaminant from the environment. One promising technique is the phytoremediation that is gaining more attention in the scientific community once it has ease of deployment and resistance of plants to capture or simply neutralize the action of certain toxic compounds of water, serving as a true “green” filter. This study aims to evaluate the efficiency of the macrophyte *Lemna minor* on the removal of arsenic, verifying the selectivity of the plant to its inorganic species (As III and As V) and the best removal time. For the experiments, healthy plants (approximately 0,5 g fresh weight) were selected and transferred to beakers containing different concentrations of arsenic forms (50; 100; 200; 300; 400 and 500 $\mu\text{g L}^{-1}$) in Steinberg diluted nutrient solution (50%). The concentrations in the water and plant biomass were determined using an Atomic Absorption Spectrometer for Flame, with hydrides generating. Through the determination of As (III) in the solution containing the *Lemna minor* up to 64 hours, there was a gradual decrease of the absorbance signal in the solution within 48 hours. At all concentrations tested removal rates obtained percentage than 50%, increased compared with the initial concentration. *Lemna minor* was effective for removal of As (III) of the solution at all concentrations and under the conditions studied as having greater removal rate in the 48 hour period. In its dry biomass was noticed high accumulation of the highest concentrations tested, then the removal is more efficient when it is exposed to higher concentrations of the contaminant. As for the As (V) no removal solution efficiency in all tested concentrations and also analysis of the dried biomass of these plants showed no accumulation of high concentration in tissue. This result demonstrates a selective potential of the plant for the removal of As (III), the most toxic species can be employed to determine / selective removal of arsenic.

Keywords: Phytoremediation. Arsenic. *Lemna minor*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	<i>Lemna minor</i>	25
Figura 2 -	<i>Lemna minor</i> cultivada em meio nutriente Steinberg modificado.....	28
Figura 3 -	Experimento contendo solução Steinberg diluído, concentrações de As e biomassa fresca de <i>Lemna minor</i>	30
Figura 4 -	Plantas submetidas a digestão após experimento de 64 horas.....	31
Figura 5 -	Diagrama do sistema HG-FAAS.....	32
Figura 6 -	Imagem esquemática do processo de determinação de arsênio.....	33
Figura 7 -	Média e desvio padrão das concentrações de As (III) em $\mu\text{g L}^{-1}$ do controle sem adição de plantas, em três períodos de tempo 0, 40 e 64 horas.....	35
Figura 8 -	Média e desvio padrão das concentrações de As (III) em $\mu\text{g L}^{-1}$ na solução onde as plantas ficaram expostas por um período de 64 horas.....	36
Figura 9 -	Média e desvio padrão das concentrações de As (V) $\mu\text{g L}^{-1}$ do controle sem adição de plantas, em três períodos de tempo 0, 40 e 64 horas.....	39
Figura 10 -	Média e desvio padrão das concentrações de As (V) em $\mu\text{g L}^{-1}$ na solução onde as plantas ficaram expostas por um período de 64 horas.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Formas químicas do arsênio.....	18
Tabela 2 -	Mecanismos de fitorremediação utilizados pela planta.....	21
Tabela 3 -	Exemplos de fitorremediação realizados com macrófitas aquáticas descritos na literatura.....	22
Tabela 4 -	Classificação das macrófitas aquáticas quanto ao biótipo no ambiente aquático.....	23
Tabela 5 -	Exemplos de pesquisa realizadas com a macrófita <i>Lemna minor</i> descritos na literatura.....	26
Tabela 6 -	Porcentagem de eficiência de remoção de As (III) na solução em diferentes concentrações. Médias e desvio padrão das concentrações iniciais e finais.....	38
Tabela 7 -	Porcentagem de eficiência de remoção de As (III) na solução em diferentes concentrações. Médias e desvio padrão das concentrações iniciais e finais.....	41
Tabela 8 -	Concentração de As total ($\mu\text{g g}^{-1}$) no tecido da planta <i>Lemna minor</i> , após digestão da biomassa seca e fator de bioconcentração de As. Plantas ficaram expostas as concentrações de As (III) por 64 horas.	43
Tabela 9 -	Concentração de As total ($\mu\text{g g}^{-1}$) no tecido da planta <i>Lemna minor</i> , após digestão da biomassa seca e fator de bioconcentração. Plantas ficaram expostas as concentrações de As (V) por 64 horas.....	44

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

As ₂ O ₃	Trióxido de arsênio
As ₂ O ₅	Pentóxido de arsênio
ATSDR	Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças
ETA	Estação de tratamento de água
FBC	Fator de Bioconcentração
HCl	Ácido clorídrico
HG	Geração de hidreto
HG- FAAS	Espectrometria de absorção atômica em chama acoplada a geração de hidreto
HPLC-HG-AAS	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto
HPLC-HG-AFS	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidreto
HPLC-HG-ICPMS	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa com plasma acoplado insutivamente com geração de hidreto
HPLC-ICPMS	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa com plasma acoplado insutivamente
NaBH ₄	Tetrahidroborato de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	17
2.1.1	Objetivo geral	17
2.1.2	Objetivos específicos	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1	POLUIÇÃO AQUÁTICA E SUAS CONSEQUÊNCIAS NOS SERES VIVOS	18
3.2	ARSÊNIO: CARACTERÍSTICAS, CONTAMINAÇÃO E EFEITOS À SAÚDE	19
3.2.1	Determinação de arsênio em amostras ambientais	21
3.3	TÉCNICAS DE REMEDIAÇÃO DE ÁGUAS CONTAMINADAS	22
3.3.1	Fitorremediação: características.....	22
3.4	MACRÓFITAS AQUÁTICAS.....	25
3.4.1	<i>Lemna minor</i> : características da subfamília Lemnoideae	26
4	METODOLOGIA	30
4.1	CULTIVO DA PLANTA	30
4.2	REAGENTES	31
4.3	PROTOCOLO EXPERIMENTAL	31
4.4	DIGESTÃO DA BIOMASSA SECA	32
4.5	DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO	33
4.6	PH DA SOLUÇÃO	35
4.7	EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO E FATOR DE BIOCONCENTRAÇÃO	35
4.8	TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1	REMOÇÃO DE AS (III) NA SOLUÇÃO (MEIO DE CULTURA + AS)	37
5.2	REMOÇÃO DE AS (V) NA SOLUÇÃO (MEIO DE CULTURA + AS)	41

5.3	DETERMINAÇÃO DE AS NA BIOMASSA NAS PLANTAS QUE FICARAM EXPOSTAS AO AS (III).....	44
5.4	DETERMINAÇÃO DE AS NA BIOMASSA NAS PLANTAS QUE FICARAM EXPOSTAS AO AS (V).....	46
6	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49
	ANEXO A - Meio de cultivo Steinberg modificado após ISO 20079	56

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial que ocorre desde a década de 50 tem acarretado o aumento do descarte de produtos químicos, seja de forma consciente ou inconsciente, o que tem contribuindo para a deterioração dos ecossistemas aquáticos. De acordo com Espinoza-Quiñones et al., (2013), a poluição dos corpos d'água é atualmente um grave problema ambiental mundial, pois compromete o desenvolvimento de plantas, a sobrevivência dos animais e dos seres humanos, levando ao desequilíbrio ecológico.

Todas as formas de vida são afetadas pela presença de substâncias químicas na água. Algumas dessas substâncias, como compostos orgânicos e metais tóxicos, podem ser extremamente prejudiciais ao sistema biológico, dependendo da concentração e forma química em que se encontram no ambiente (SANTOS, 2009). Entre as substâncias, os compostos inorgânicos, também denominados de “metais pesados” constituem contaminantes químicos, que mesmo em pequenas concentrações, podem causar efeitos à saúde dos seres vivos. Ao contrário de substâncias orgânicas, os “metais pesados” são essencialmente não biodegradáveis e, por consequência, acumulam no ambiente (ALI et al., 2013). Esse tipo de contaminação é um problema muito grave, visto que a grande maioria, das estações de tratamento de água (ETA), não é capaz de remover tais contaminantes, pois as ETAs convencionais, não possuem capacidade de removê-los, de maneira eficiente, enquanto que as ETAs especiais são muito caras.

O arsênio (As) é um desses elementos, que mesmo em pequenas concentrações é considerado extremamente tóxico, por exemplo, A LD50 (a dose letal para 50% de uma população) para As (III) em ratos é de 20 mg kg^{-1} . Esse contaminante pode ser encontrado em diversas formas químicas com diferentes graus de toxicidade. As formas inorgânicas, principalmente As (III), configuram a mais nociva para o homem, chegando a ser cerca de 60 vezes mais tóxico que o As (V). Mais de 245 minerais contem arsênio em sua composição, o qual pode ser encontrado em rochas, solo, águas naturais e na atmosfera. No entanto, as atividades antrópicas, como a mineração, siderurgia, atividades industriais e a agricultura (pesticidas e herbicidas) tem causado maior exposição do elemento ao ambiente podendo, provocar diversos riscos a saúde, como por exemplo, câncer de pele e pulmão (FAVAS et al., 2012).

De acordo com Susarla et al., (2002) e Pires et al., (2005), o uso de tecnologias adequadas e com custo menor torna-se essencial para remover estes contaminantes químicos

do ambiente. Uma técnica promissora é a fitorremediação, que está ganhando maior atenção no meio científico, pois possui facilidade na implantação e resistência das plantas em capturar ou simplesmente neutralizar a ação de determinados compostos tóxicos da água, servindo como verdadeiros filtros “verdes” (PILON-SMITS, 2005). A fitorremediação (*Fito* = planta, *remediar* = dar remédio, corrigir) é uma técnica de descontaminação em que se utiliza de plantas para remoção de poluentes do ambiente, além de transformá-los em formas menos tóxicas para a biota (MARTINS et al., 2007; KHELLAF; ZERDAOUI, 2009; ALI et al., 2013). Além disso, estudos comprovam que este tipo de tratamento possui a capacidade de remediar mais de um elemento no mesmo local, facilitando assim o manejo das plantas utilizadas (MARTINS et al., 2007).

Por conta da alta toxicidade do arsênio e de seus danos causados a bioacumulação na cadeia trófica é de suma importância o aprofundamento de técnicas de remediação eficientes para descontaminar o ambiente aquático, pois as técnicas atuais de tratamento não são eficientes para remover os contaminantes químicos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência da macrófita *Lemna minor* na remoção de arsênio em solução aquosa.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a capacidade de *Lemna minor* na remoção de arsênio nas diferentes concentrações e períodos estabelecidos;
- ✓ Determinar se há seletividade na absorção das espécies inorgânicas de arsênio (III) e (V) por *Lemna minor*;
- ✓ Avaliar o melhor tempo de absorção de arsênio pelas plantas nas diferentes concentrações;
- ✓ Avaliar percentual de eficiência de remoção de arsênio das soluções para as concentrações estudadas.
- ✓ Determinar o fator de bioconcentração para cada concentração analisada.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 POLUIÇÃO AQUÁTICA E SUAS CONSEQUÊNCIAS NOS SERES VIVOS

A água é utilizada para diversas finalidades, entre as quais se destacam o abastecimento urbano e industrial, a irrigação, a navegação, a geração de energia e a recreação. Ela é o principal constituinte dos seres vivos, sendo essencial para a vida. Existem inúmeras substâncias dissolvidas na água, muitas das quais ocorrem naturalmente nos organismos em concentrações menores que 0,01% e, por isso são denominados micronutrientes. De acordo com Marmiroli e Maestri (2008), estes elementos quando em elevadas concentrações contaminar o ecossistema aquático por conta do alto potencial toxicológico. Eles podem ser encontrados dissolvidos na coluna d'água, e acumulados na biomassa dos animais e nas plantas aquáticas e adsorvidos nos sólidos nos sistemas lacustres e fluviais.

As concentrações de contaminantes inorgânicos na água podem aumentar através das atividades antrópicas a níveis mais altos do que os originalmente presentes na natureza (ANZECC/ARMCANZ, 2000). Em excesso, estas concentrações de contaminantes criam uma condição de toxicidade, acumulando em plantas e animais aquáticos, através da superfície do corpo e de estruturas respiratórias, e também pela ingestão de material particulado na água (MELVILLE e BURCHETT, 2002). Como consequência, a toxicidade apresenta-se como distúrbios no metabolismo, implicando em possíveis mudanças na distribuição, comportamento e na abundância de populações aquáticas. Elementos como As, Hg, Cd, Pb, Se, Mg, Tl, Cr, Ni, Sb, entre outros, se ligam a macromoléculas e nas membranas conferindo propriedades de bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar (ALI et al., 2013).

A bioacumulação é definida como sendo um processo em que os organismos acumulam, ao longo de seu tempo de vida, grandes quantidades de substâncias tóxicas. Já a biomagnificação é a transferência de algumas dessas substâncias tóxicas ao longo da cadeia alimentar, nos organismos que estão no topo da cadeia alimentar (RODRIGUES, 2005).

Para exemplificar estes processos, um evento marcante em termos de contaminação por metais foi registrado na década de 1950 no Japão na Baía de Minamata. Nesse local, por causa do contínuo descarte de resíduos contendo mercúrio proveniente de atividade industrial, peixes foram contaminados e, em consequência, milhares de pessoas que se alimentavam desses peixes também foram contaminadas (LIMA e MERÇON, 2011).

3.2 ARSÊNIO: CARACTERÍSTICAS, CONTAMINAÇÃO E EFEITOS À SAÚDE

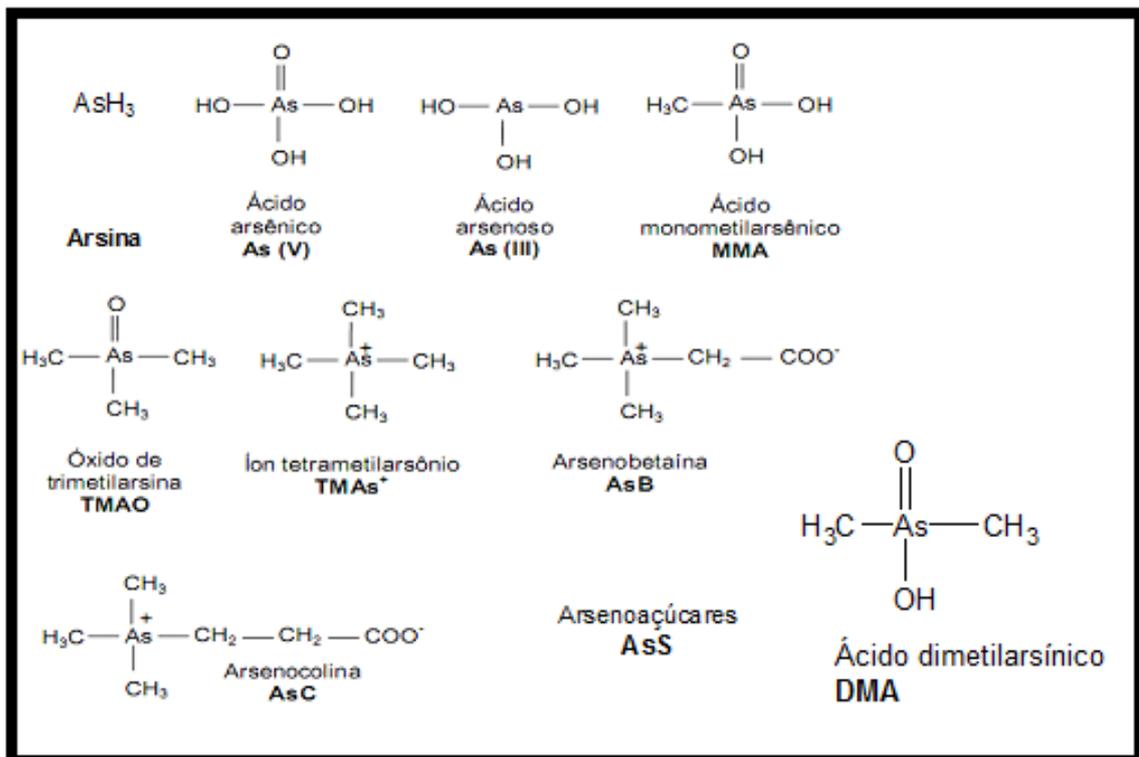
O arsênio (As) ocorre no ambiente em várias formas químicas, incluindo espécies orgânicas e inorgânicas (TABELA 1). Em ambientes aquáticos ele pode ocorrer como arsenito [As(III)], arsenato [As(V)], e os íons monometilarsênico (MMA) e dimetilarsínico (DMA). A toxicidade de compostos de As presentes no ambiente decresce na seguinte ordem: arsina (AsH₃), arsenito, arsenato, ácidos alquil-arsênicos, compostos de arsênio e arsênio elementar. Desta forma, os compostos inorgânicos [As(V) e As(III)] são 100 vezes mais tóxicos do que as formas parcialmente metiladas (MMA e DMA) (BARRA et al., 2000; RAHMAN e HASEGAWA, 2011; FAVAS et al., 2012). As espécies inorgânicas (As III e V) são formas biodisponíveis (SIZOVA et al., 2002) e de acordo com a Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças (ATSDR) dos Estados Unidos, o As é considerado o elemento químico mais perigoso da Lista Prioritária de Substâncias Perigosas estando desde 1997 em primeiro lugar desta lista (RODRIGUES e MALAFAIA, 2008; ESPINOZA-QUIÑONES, et al., 2013). As concentrações de As em água potável aceitas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) varia entre 10 e 50 µg L⁻¹. No Brasil, através do Ministério da Saúde (Portaria 2914), o limite máximo de As na água potável não pode ultrapassar 10 µg L⁻¹.

Apesar de existirem inúmeras legislações que determinam as concentrações de arsênio na água, varios desastres ambientais já aconteceram com a exposição ao arsênio (SMEDLEY e KINNIBURG, 2002). Por exemplo, em Bangladesh (1993) onde 90% das águas de poços artesianos estavam contaminadas (2000 µg L⁻¹ de As), resultando na contaminação de cerca de 42 milhões de pessoas. Na Tailândia, concentrações de As de até 5000 µg L⁻¹ foram registradas em águas de aquíferos rasos formados por sedimentos contaminados pela mineração de cassiterita.

No Brasil existem poucas informações relacionadas à exposição de arsênio a saúde humana. Em geral, locais onde ocorrem atividades de mineração e extração de ouro, descarte de minas e rejeitos como nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Amapá há indícios de contaminação por este metal. Estudos demonstram que nesses lugares a concentração de As em água pode ocorrer em até 0,36 mg L⁻¹, em solos, até 860 mg Kg⁻¹ e em sedimentos até 3200 mg Kg⁻¹ (ESPINOZA-QUIÑONES et al., 2013). De acordo com Dani, (2014), em Paracatu (noroeste de MG), cerca de 80 mil pessoas estão diariamente expostas ao As (poeira e rejeitos) provenientes da extração de ouro na maior mina do Brasil.

Como o As é um elemento considerado tóxico, mesmo em pequenas concentrações, muitos problemas de saúde podem ocorrer com a exposição humana a ele e dependendo da forma o perigo é maior. A via mais rápida de contaminação é através da água e dentre as doenças relacionadas, a mais comum é o câncer, que pode ser de pele ou de pulmão, mas também podem ocorrer distúrbios do sistema nervoso, aumento da frequência de abortos espontâneos, dentre outros (ABERNATHY et al., 1997; RODRIGUES e MALAFAIA, 2008). O As também pode, em nível molecular, interromper a expressão de diversos genes, prejudicando o processo de divisão celular e inibindo mecanismos do DNA (ABERNATHY et al., 1999; ANDREW et al., 2006). De acordo com Tripathi et al., (2007) o As (V) é um análogo do fosfato e, assim, interfere nos processos celulares essenciais, tais como fosforilação oxidativa e da síntese de ATP.

Tabela 1 – Formas químicas do arsênio.



Fonte: Duarte, (2006)

3.2.1 Determinação de arsênio em amostras ambientais

A especiação do arsênio é importante para poder identificar e determinar as diferentes formas químicas do elemento presente nas amostras ambientais, possibilitando a distinção das espécies tóxicas e permitindo também quantificar as mesmas (GUERIN et al., 1999; CARUSO et al., 2003). Este processo possibilita entender a toxicidade do elemento para os seres vivos, bem como a acumulação e a biodisponibilidade (WROBEL et al., 2005; MIR et al., 2007). Vários métodos são utilizados para identificar e quantificar as diversas espécies de arsênio. Dentre estes métodos, as técnicas cromatográficas combinadas com as técnicas espectrométricas têm sido amplamente utilizadas por conta da eficiência na separação das diversas formas de um elemento. Como exemplo, cita-se a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto (HPLC-HG-AAS), a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (HPLC-ICPMS), a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente e geração de hidretos (HPLC-HG-ICPMS), e a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de fluorescência atômica com geração de hidretos (HPLC-HG-AFS) (LIU e LIN, 2005).

Para a determinação de arsênio em baixas concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$), a técnica de absorção atômica (AAS), acoplada ao gerador de hidretos (HG-FAAS), atualmente, é a técnica mais utilizada para a determinação de elementos formadores de hidretos (Bi, As, Te, Se, Sb, entre outros) além do menor custo em relação aos citados. Esta técnica tem como vantagem excelente sensibilidade e seletividade, para elementos formadores de hidretos porque elimina a matriz na etapa de geração do hidreto transportando, quantitativamente, o analito ao atomizador (aproximadamente 95%), proporcionando, limites de detecção bastante adequados para a determinação de baixas concentrações em amostras complexas (UDEN, 2002).

A técnica de geração de hidretos (HG) produz hidretos voláteis a partir da redução química de um elemento com um agente redutor em solução acidificada, este método geralmente utiliza o tetrahidroborato de sódio (NaBH_4) (D'ULIVO et al., 2010). Entretanto, alguns problemas no sistema podem ser relacionados ao reagente, dos quais podemos destacar a possível introdução de contaminação no sistema e a instabilidade das soluções aquosas, necessitando que as mesmas sejam preparadas para uso diário (BARRA et al., 2000). O mecanismo de formação de hidreto foi conhecido na década passada e é possível devido a

decomposição do agente redutor, o qual transfere o hidrogênio do agente redutor à forma química do analito para formação do hidreto (TAKASE et al., 2002).

3.3 TÉCNICAS DE REMEDIAÇÃO DE ÁGUAS CONTAMINADAS

As técnicas utilizadas para remediar águas contaminadas por metais são inúmeras. Dentre estas, o método mais utilizado atualmente é a precipitação química, que pode ser feita, pela adição de uma base (geralmente, hidróxido de cálcio) ao efluente, de modo que haja a formação de produtos insolúveis (precipitado) sob a forma de hidróxidos e/ou óxidos (GONÇALVES & MARTIN, 2008).

De acordo com Kurniawan (2006), técnicas como a de coagulação-floculação, flotação, troca-iônica, adsorção, filtração por membranas e extração líquido-líquido também são utilizadas para extrair metais em solução.

Todas essas técnicas apresentam custos de investimentos relativamente elevados e muitas vezes são inviabilizadas na aplicação em empresas de pequeno e médio porte. Por isso técnicas mais viáveis economicamente, como por exemplo, a fitorremediação estão cada vez mais sendo estudadas e avaliadas.

3.3.1 Fitorremediação: características

Com o intuito de minimizar a contaminação das águas por metais, diversas espécies de macrófitas aquáticas têm sido utilizadas no processo de fitorremediação (ESPINOZA-QUINONES et al., 2009). De acordo com Pilon-Smits (2005) e Ali et al (2013), os mecanismos pelos quais as plantas podem retirar um composto tóxico na água são através de processos descritos na Tabela 2:

Tabela 2 - Mecanismos de fitorremediação utilizados pelas plantas

Fitoacumulação (ou fitoextração, fitoabsorção e fitosequestração)	Absorção de nutrientes pelas raízes, podendo ser armazenados na própria raiz ou acumulados nas partes aéreas
Fitodegradação	Os poluentes orgânicos são metabolizados a compostos não tóxicos (mineralizados) ou menos tóxicos ao meio ambiente, dentro das células vegetais por enzimas específicas.
Fitoestabilização	Poluentes orgânicos ou inorgânicos permanecem imobilizados na planta ou no solo
Fitovolatilização	Poluentes são adsorvidos pelas raízes, convertidos em uma forma volátil e liberados na atmosfera.
Rizodegradação	Ocorre a destruição dos contaminantes orgânicos por mecanismos bioquímicos e envolve suas fermentações aeróbias na rizosfera.
Fitofiltração (ou Rizofiltração)	Remoção de poluentes de águas superficiais ou residuais através das raízes, mudas ou caules.
Fitodesalinização	Remoção do excesso de sais de solos salinos por plantas halófitas

Fonte: Adaptado de Pilon-Smits (2005) e Ali et al (2013)

A fitodesalinização é uma técnica relatada recentemente (ZORRIG et al.,2012). Neste mecanismo, plantas halófitas são utilizadas para remover o excesso de sais de solos, fazendo com que este fique apto ao crescimento e desenvolvimento normal de plantas. Ravindran et al., (2007), disseram que as plantas halófitas, *Suaeda maritima* e *Sesuvium portulacastrum* poderiam ser utilizadas com sucesso para acumular NaCl (cloreto de sódio) em solos salinos e capacitá-los para a produção agrícola. Estas plantas foram estimadas a remover cerca de 500 kg de NaCl, em 1 ha de solo salino em um período de 4 meses.

Para todos os mecanismos utilizados pelas plantas o processo de fitorremediação vai depender do grupo dos contaminantes, ou poluentes, a capacidade das plantas em responder pelo processo e outros fatores ambientais como a temperatura (PILON-SMITS, 2005).

Espinoza-Quinones et al (2009) relatam que a bioacumulação de metais pelo sistema radicular e pelas folhas das plantas aquáticas depende tanto do tipo de metal quanto das espécies de plantas utilizadas para o processo. A utilização da fitorremediação tem sido estudada e difundida principalmente nos Estados Unidos e na Europa. Inúmeros trabalhos demonstram a capacidade de macrófitas aquáticas em acumular contaminantes químicos presente na água (TABELA 3).

Tabela 3- Exemplos de fitorremediação realizados com macrófitas aquáticas descritos na literatura.

Macrófita	Contaminante	Referência
<i>Alternanthera philoxeroides</i>	Mg	Hua et al (2012)
<i>Azolla</i> sp.	Efluente bruto de fábricas	Dipu et al (2011)
<i>Ceratophyllum demersum</i>	Fe, Zn, Mn, Ni, Cd e Pb	Foroughi et al (2011)
<i>Ceratophyllum demersum</i>	Pb, Cd, Cu, Mn e Ni	Predrag et al (2005)
<i>Ceratophyllum demersum</i>	Na, Mn, Ba, Ni, V, Se, Cr, As, Pb, Li, Sn, Cd e Hg,	Corrêa et al (2002)
<i>Ceratophyllum demersum</i>	Ni	Chorom et al (2012)
<i>Ceratophyllum demersum</i>	Corante BB41	Keskinkan e Göksu (2007)
<i>Egeria densa</i>	Na, Mn, Ba, Ni, V, Se, Cr, As, Pb, Li, Sn, Cd e Hg,	Corrêa et al (2002)
<i>Egeria najas</i>	Na, Mn, Ba, Ni, V, Se, Cr, As, Pb, Li, Sn, Cd e Hg,	Corrêa et al (2002)
<i>Eichhornia crassipes</i>	Hg e CH ₃ Hg ⁺	Chattopadhyay et al (2012)
<i>Eichhornia crassipes</i>	Mg	Hua et al (2012)
<i>Eichhornia crassipes</i>	As	Cruz et al (2010)
<i>Eichhornia</i> sp.	Efluente bruto de fábricas	Dipu et al (2011)
<i>Eichhornia crassipes</i>	Ni	Ayyasamy et al (2009)
<i>Eleocharis acicularis</i>	Ag, Pb, Cu, Cd e Zn	Ha et al (2011)
<i>Glyceria grandis</i>	Cd, Cl, Cu, P, Pb, Zn	Weiss et al (2006)
<i>Lemna aequinoctialis</i>	Ni, Cu, Co, Cr, Mn, Zn e Fe	Pio et al (2013)
<i>Lemna gibba</i>	Zn	Khellaf e Zerdaoui (2009)
<i>Lemna</i> sp.	Efluente bruto de fábricas	Dipu et al (2011)
<i>Myriophyllum spicatum</i>	Corante BB41	Keskinkan e Göksu (2007)
<i>Pistia</i> sp.	Efluente bruto de fábricas	Dipu et al (2011)
<i>Pistia stratiotes</i>	S, Mn e Zn	Cruz, et al (2009)
<i>Pistia stratiotes</i>	Ni	Ayyasamy et al (2009)
<i>Pistia stratiotes</i>	Mg	Hua et al (2012)
<i>Pistia stratiotes</i>	As	Cruz et al (2010)
<i>Pistia stratiotes</i>	As	Oliveira et al (2011)
<i>Salvinia molesta</i>	Ni	Ayyasamy et al (2009)
<i>Salvinia</i> sp.	Efluente bruto de fábricas	Dipu et al (2011)
<i>Scirpus validus</i>	Cd, Cl, Cu, P, Pb, Zn	Weiss et al (2006)
<i>Spartina pectinata</i>	Cd, Cl, Cu, P, Pb, Zn	Weiss et al (2006)
<i>Spirodela polyrhiza</i>	As	Cruz et al (2010)

(conclusão)

Macrófita	Contaminante	Referência
<i>Typha</i> sp.	Efluente bruto de fábricas	Dipu et al (2011)

Fonte: Da autora

Alguns métodos são descritos na literatura para dar destino final para as plantas que foram submetidas à exposição de contaminantes químicos para o processo de fitorremediação, como exemplo a produção de combustível, briquetagem para queima em fornos, produção de biogás, produção de eletricidade, incineração e carbonização (THOMAS e EDEN, 1990; RAHMAN e HASEGAWA, 2011).

3.4 MACRÓFITAS AQUÁTICAS

O termo macrófitas aquáticas refere-se a um grupo diversificado de organismos fotossintéticos aquáticos (DENNY, 1985). Estas plantas variam em tamanho, com um diâmetro de folha de até 2,5 m (*Victoria amazônica*), para as menores angiospermas, com frondes com diâmetro inferior a 0,5 mm (*Wolffia* spp) (CHAMBERS et al., 2008). De acordo com Esteves (1998), as macrófitas aquáticas constituem, em sua grande maioria, vegetais superiores que retornaram ao ambiente aquático. Elas podem ser classificadas conforme seu biótopo (Tabela 4) no ambiente aquático, nos seguintes grupos ecológicos:

Tabela 4 - Classificação das macrófitas aquáticas quanto ao biótopo

Macrófitas aquáticas emersas	Enraizadas, porém com folhas fora d'água. Ex: <i>Eleocharis</i> sp, <i>Typha domingensis</i> .
Macrófitas aquáticas com folhas flutuantes	Enraizadas e com folhas flutuando na superfície da água. Ex: <i>Nymphaea</i> sp, <i>Nymphoides</i> sp.
Macrófitas aquáticas submersas enraizadas	Enraizadas, crescendo totalmente submersas na água. Ex: <i>Egeria densa</i> , <i>Mayaca</i> sp.
Macrófitas aquáticas submersas livres	Permanecem flutuando submergidas na água. Geralmente prendem-se a pecíolos e caules de outras macrófitas. Ex: <i>Utricularia</i> sp.
Macrófitas aquáticas flutuantes	Flutuam na superfície da água. Ex: <i>Pistia stratiotes</i> , <i>Eichhornia</i> sp. <i>Lemna</i> sp. Elas colonizam diferentes tipos de ecossistemas aquáticos, como lagos, reservatórios, rios, pântanos e o ambiente marinho.

Fonte: Adaptado de Esteves (1998)

Dentre as inúmeras espécies de macrófitas com ocorrência nas águas continentais brasileiras, muitas são excelentes bioindicadoras da qualidade das águas. A proliferação excessiva de espécies de macrófitas do gênero *Eichhornia* em sistemas lacustres, por exemplo, podem ser indicador de ambiente eutrofizado, além de *Pistia*, *Salvinia* e *Trapa* (ESTEVES, 1998). As macrófitas têm um importante papel na estruturação de comunidades em ambientes aquáticos. Aumentam a complexidade e a heterogeneidade de habitats, proporcionam estrutura física, alterando regimes de circulação de água como fluxo e onda, também afetam vários grupos de organismos como invertebrados, peixes e aves aquáticas fornecendo abrigo e refúgio e servem como fonte de alimento e também ajudam na melhora da qualidade dos sedimentos (CHAMBERS et al., 1999; THOMAZ e CUNHA, 2010).

Os habitats de macrófitas aquáticas representam o ambiente onde possuem mais diversidade, produtividade e heterogeneidade de um corpo de água. Além de serem o papel importante na manutenção da biodiversidade aquática, diversas comunidades de macrófitas também contribuem para a manutenção do funcionamento dos ecossistemas aquáticos, por exemplo, para sustentar o crescimento de algas filamentosas que potencializam uma maior abundância de peixes e animais selvagens e com isso reduzem as concentrações de fósforo na água (ENGELHARDT e RITCHIE, 2001).

Estas plantas ganharam visibilidade mundial por apresentarem eficiência para remover grande variedade de poluentes de ambientes aquáticos, mesmo que esta eficiência varie de espécie para espécie (DHIR et al., 2009). Por requererem altas concentrações de nutrientes, estas, vêm sendo utilizadas com sucesso na recuperação de rios e lagos eutrofizados, pois suas raízes formam uma densa rede capaz de reter até as mais finas partículas em suspensão, além de absorverem substâncias tóxicas provenientes do despejo doméstico e industrial (CAMARGO et al., 2003).

3.4.1 *Lemna minor*: características da subfamília Lemnoideae

A macrófita aquática *Lemna minor* (FIGURA 1) pertenceu à família Lemnaceae, mas, através de estudos recentes de filogenia, morfologia e moleculares agora faz parte da família Araceae, subfamília Lemnoideae (CABRERA et al., 2008; CUSIMANO, 2011). As plantas desta subfamília são consideradas as menores Angiospermas do mundo, sendo o gênero *Wolffia* Horkel ex. Schleiden, as menores plantas com flores. Popularmente essas

plantas são chamadas de lentilhas-d'água (DAUBS, 1965). Estas plantas aquáticas ocorrem em ambientes lânticos, não possuem diferenciação entre caule e folha e são reduzidas a um pequeno corpo talóide, chamado de fronde (POTT e CERVI, 1999). Espécies de *Lemna* são de tamanho intermediário entre 6 e 8 mm.

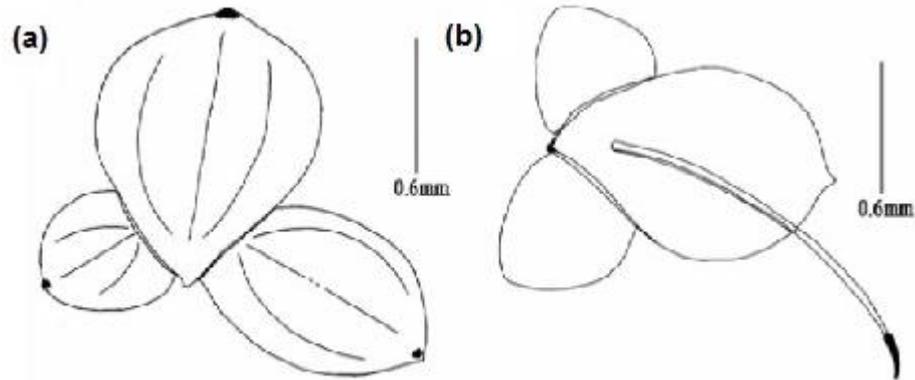


Figura 1 - *Lemna minor*, (a) vista frontal, (b) vista dorsal da fronde.

Fonte: Venu (2012)

A subfamília Lemnoideae é representada por 37 espécies distribuídas em cinco gêneros: *Wolffia* Horkel ex Schleid. e *Wolffiella* Hegelm, *Landoltia* Les & D.J. Crawford, *Spirodela* Schleid. e *Lemna* L. (LES et al., 2002; APPENROTH et al., 2013).

As lemnoídeas possuem poucas fibras, porque elas não precisam de tecido estrutural para suportar folhas ou caule. Como resultado, praticamente todo o tecido é metabolicamente ativo e útil como um alimento ou produto alimentar. Por isso, possuem uma grande importância biológica, pois servem de alimento para aves aquáticas, peixes e outros animais por possuírem alto teor de proteína. Também estão tendo grande importância como bioindicadoras de qualidade e para tratamento de águas, uma vez que crescem rapidamente e absorvem nutrientes como os fosfatos (PIO et al., 2013).

As espécies de lentilhas possuem a capacidade de se adaptar em variadas zonas geográficas e climáticas, explorando condições ecológicas favoráveis de crescimento extremamente rápido. Sua ampla distribuição geográfica (desertos áridos à regiões polares) indica uma alta probabilidade de diversidade genética. O habitat natural das lentilhas são estar flutuando livremente na superfície da água doce ou salobra, abrigada do vento por vegetação circundante. A condição mais favorável é a água contendo detritos em decomposição para

fornecer nutrientes para o desenvolvimento das lentilhas. A reprodução da lentilha-d'água é principalmente vegetativa. Frondes-filhas brotam dos bolsos reprodutivos no lado de uma fronde maduro. Uma fronde pode produzir até 10 gerações de progenitores ao longo de um período de 10 dias a várias semanas antes de morrer. Frondes de lentilhas podem dobrar sua massa em apenas dois dias em condições ideais de disponibilidade de nutrientes, luz solar e temperatura (LEWIS, 1995; VENU, 2012).

As lentilhas-d'água são facilmente cultivadas sob condições de laboratório, principalmente por conta de seu tamanho reduzido. Seu tamanho também permite observações macroscópicas. Seus hábitos de crescimento, sua morfologia e sua sensibilidade para xenobióticos fazem das lentilhas ótimos organismos para bioensaios principalmente em ecotoxicologia (ALIFERIS et al., 2009).

Por conta destas condições, trabalhos de fitorremediação foram realizados com a macrófita aquática *Lemna minor* (TABELA 5). Dentre os trabalhos descritos na literatura até junho de 2015, 47% dos trabalhos foram realizados com o elemento As.

Tabela 5 - Exemplos de pesquisas realizadas com a macrófita *Lemna minor* descritas na literatura.

Contaminante	Tempo de exposição	Concentração testada/analizada	Referência
As	6 dias	0; 0,5; 2,5 e 5 mg L ⁻¹	Guimarães et al (2012)
As	-*	mg kg ⁻¹	Favas et al (2012)
As	21 dias	0,15 mg L ⁻¹	Alvarado et al (2008)
As	22 dias	0,5; 1, e 2 mg L ⁻¹	Goswami et al (2014)
As	6 dias	0, 1, 4, 16 e 64 mg L ⁻¹	Duman et al (2010)
As	30 dias	2500 µg L ⁻¹	Srivastava et al (2014)
As, Cu, Si	14 dias	20; 78; 1,8 µg L ⁻¹	Rofkar et al (2014)
As, Hg	25 dias	mg g ⁻¹	Mishra et al (2008)
Cu	-	1; 3; 5 e 7 mg L ⁻¹	Kara (2004)
Cu	-	400 µg g ⁻¹	Boulé et al (2009)
Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn, Hg, Cd	2 meses	mg kg ⁻¹	Rai (2010)
Dimetomorfe e Pirimetanil	96 horas	200 e 800 mg L ⁻¹	Dosnon-Olette (2009)

(conclusão)

Contaminante	Tempo de exposição	Concentração testada/analísada	Referência
Fe, Mg, Cu, Zn, Pb e Cr	15 dias	1 mg L ⁻¹	Miretzky et al (2004)
Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cr, Cd e Ni	7 dias	0.1, 0.1, 0.1, 0.01, 0.01, 0.02, 0.05 e 0.01 mg kg ⁻¹	Bharti & Banerjee (2012)
Ti	14 dias	221 µg g ⁻¹	Babic et al (2009)
Zn	7 dias	6, 10, 14 e 18 mg L ⁻¹	Khellaf e Zerdaoui (2009)
Pb	21 dias	5.0 mg L ⁻¹	Rahmani e Sternberg (1999)

(-) não descrito ou plantas foram analisadas após coleta no ambiente aquático

Fonte: Da Autora

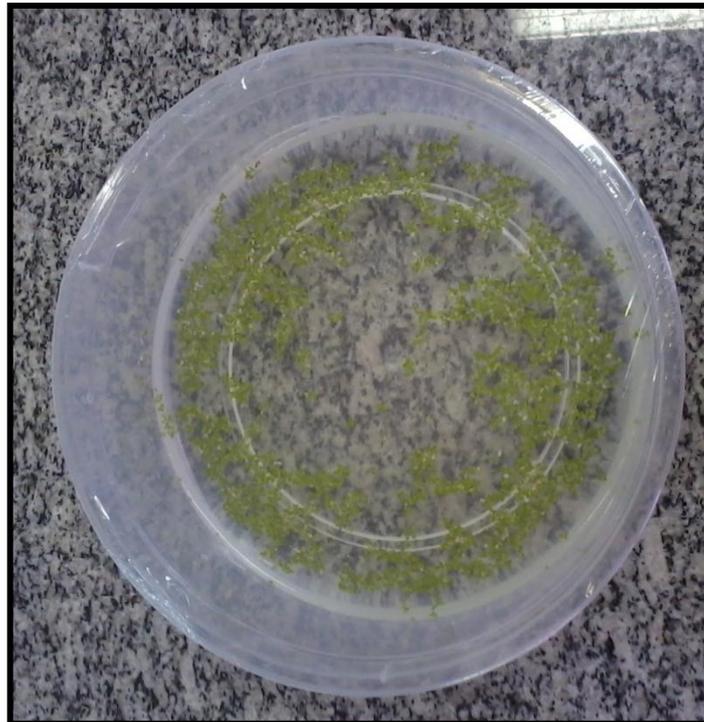
4 METODOLOGIA

4.1 CULTIVO DA PLANTA

Para o presente trabalho foram utilizados exemplares da macrófita *Lemna minor*, provenientes de cultivos mantidos no laboratório Multiusuário IV da Unifal- MG – campus Poços de Caldas (FIGURA 2). Inicialmente, os exemplares foram lavados em água corrente para a remoção de detritos e, posteriormente, foram colocadas durante 5 minutos em solução de hipoclorito de sódio 0,5% (v v⁻¹) para desinfecção. Após isso, uma nova lavagem com água deionizada foi realizada.

As plantas foram acondicionadas, por um período mínimo de 15 dias antes do início dos experimentos, em recipiente de 2 litros contendo água deionizada e solução nutritiva Steinberg modificado (OECD, 2006) (ANEXO A) coberto com filme de PVC, com perfurações de cerca de 1mm de diâmetro para permitir as trocas gasosas e evitar contaminações. O procedimento de desinfecção foi refeito a cada 15 dias nas plantas cultivadas e a solução nutriente foi trocada semanalmente.

Figura 2 – *Lemna minor* cultivada em meio nutriente Steinberg modificado.



Fonte: Da Autora

4.2 REAGENTES

Para a determinação de arsênio, foram utilizadas soluções preparadas a partir de sais de altíssima pureza. Solução estoque de As (III) 1000 mg L^{-1} foi preparada pela dissolução de $0,132 \text{ g}$ de As_2O_3 (VETEC – Química Fina) em $\text{NaOH } 30\% \text{ (m v}^{-1}\text{)}$, neutralizada com, aproximadamente, $3,0 \text{ mL}$ de HCl concentrado (QHEMIS, Hexis, Brasil), resultando em $\text{pH}=5,06$ na solução final. Essa solução foi avolumada para 50 mL com água ultrapura, armazenada ao abrigo da luz e refrigeradas a 4° C , para preservação das espécies. A solução estoque de As (V) foi preparada pela dissolução de $0,07767 \text{ g}$ de As_2O_5 (Fluka, Buchs, Suíça), dissolvidos em água ultrapura, perfazendo um volume final de 50 mL , armazenada ao abrigo da luz e refrigeradas a 4° C , para preservação das espécies químicas. As soluções analíticas foram preparadas, diariamente, a partir das soluções estoque em meio de 2% e 10% (v v^{-1}) HCl para As (III) e As (V) respectivamente. O tetrahidroborato de sódio, $0,8\%$ m v^{-1} (NaBH_4) (Merck, Alemanha) foi empregado como agente redutor, para a formação do hidreto, a qual foi estabilizado com uma solução de hidróxido de sódio [$0,5\%$ (m v^{-1}) NaOH] (Merck, Alemanha). As soluções foram preparadas em água deionizada de alta pureza obtida pelo sistema Millipore 5, Direct – QTM e todos os padrões e soluções foram armazenados em frascos de polipropileno de alta densidade (Nalgene®) sob refrigeração (PINHEIRO, 2015).

4.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Para os experimentos, plantas saudáveis (aproximadamente $0,5 \text{ g}$ de biomassa fresca) foram selecionadas e transferidas para béqueres contendo concentrações de arsênio (50 ; 100 ; 200 ; 300 ; 400 e $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), em solução nutriente Steinberg diluído (50%) (FIGURA 3). Além disso, foi feito o controle (sem adição de plantas) para avaliar as influências e se ocorria alteração na concentração de arsênio por outras vias em algum período do experimento. Para todas as análises foram feitas triplicatas. Os experimentos tiveram a duração de 64 horas e foram mantidos em temperatura ambiente, variando entre 18 e 25°C . A cada 8 horas foram retiradas alíquotas da solução de cada recipiente a partir do período inicial para determinar a concentração de arsênio removido do meio pela planta. Após o tempo de exposição, as plantas foram secas até massa constante durante 48 h a 70°C em estufa para posterior digestão.

Todas as vidrarias utilizadas neste trabalho foram lavadas para descontaminação em imersão de banho ácido nítrico 10% (v v⁻¹) por um período de 24 horas e em seguida enxaguada com água ultrapura.

Figura 3 –Experimento contendo solução Steinberg diluído, concentrações de arsênio e biomassa fresca de *Lemna minor*.

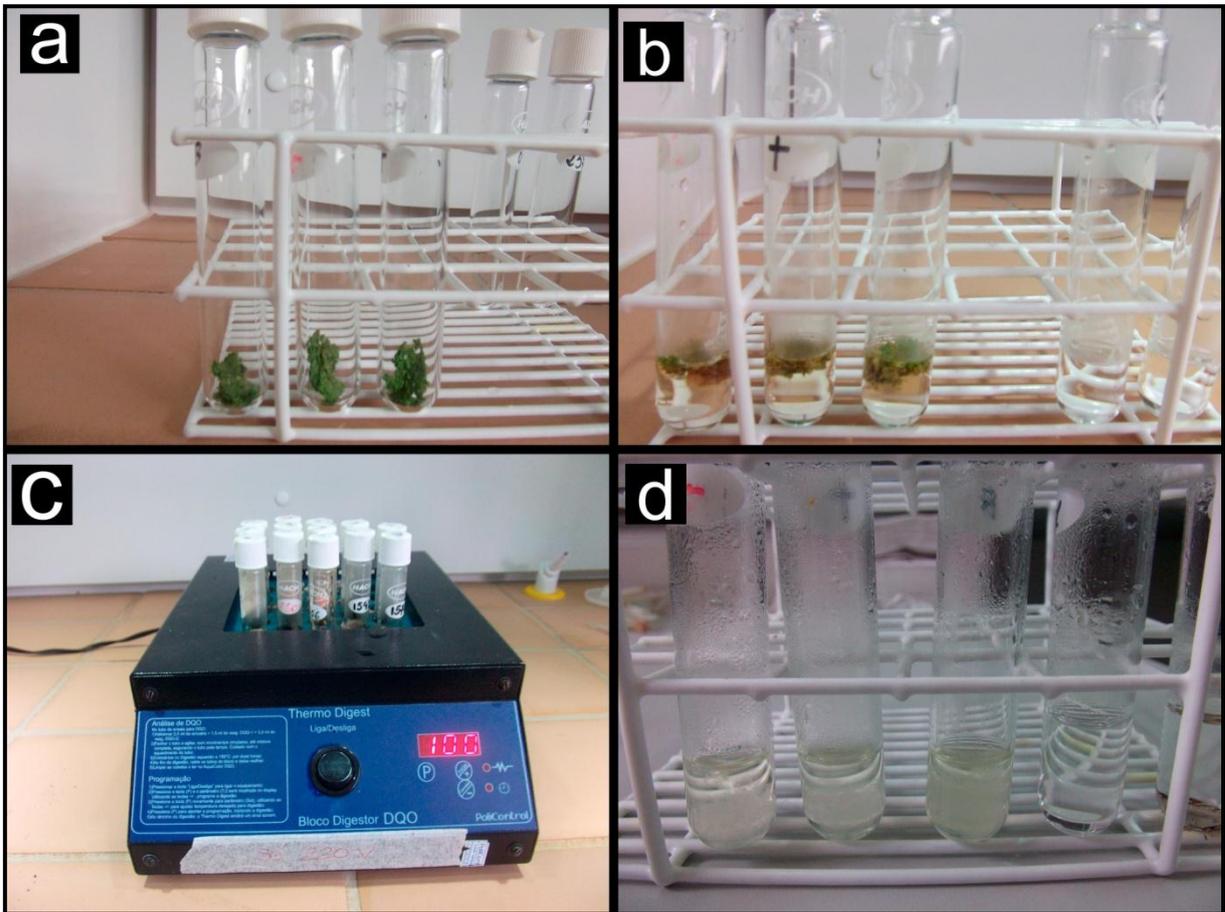


Fonte: Da autora

4.4 DIGESTÃO DA BIOMASSA SECA

As plantas submetidas à exposição de arsênio, depois de secas em estufa até massa constante, foram pesadas em balança analítica e transferidas para tubos de vidro com tampa. Nestes tubos foram adicionados 1,0 mL de ácido nítrico, 0,5 mL de água deionizada e foram colocados em um bloco digestor (Thermo Digest - Policontrol) com temperatura de 100°C por cerca de 3 horas para digestão da biomassa seca (FIGURA 4). Após a digestão os tubos foram retirados do bloco digestor para resfriar, o digerido foi filtrado em papel filtro qualitativo 80 g m² para retirada de sobrenadantes e, em seguida, a solução foi neutralizada com a adição de NaOH. Também foram analisadas plantas controle (sem exposição ao As).

Figura 4 – Plantas submetidas à digestão após experimento de 64 horas. (a) biomassa seca de *Lemna minor*, (b) adição de ácido nítrico e água, (c) digestão, (d) plantas digeridas



Fonte: Da autora

4.5 DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO

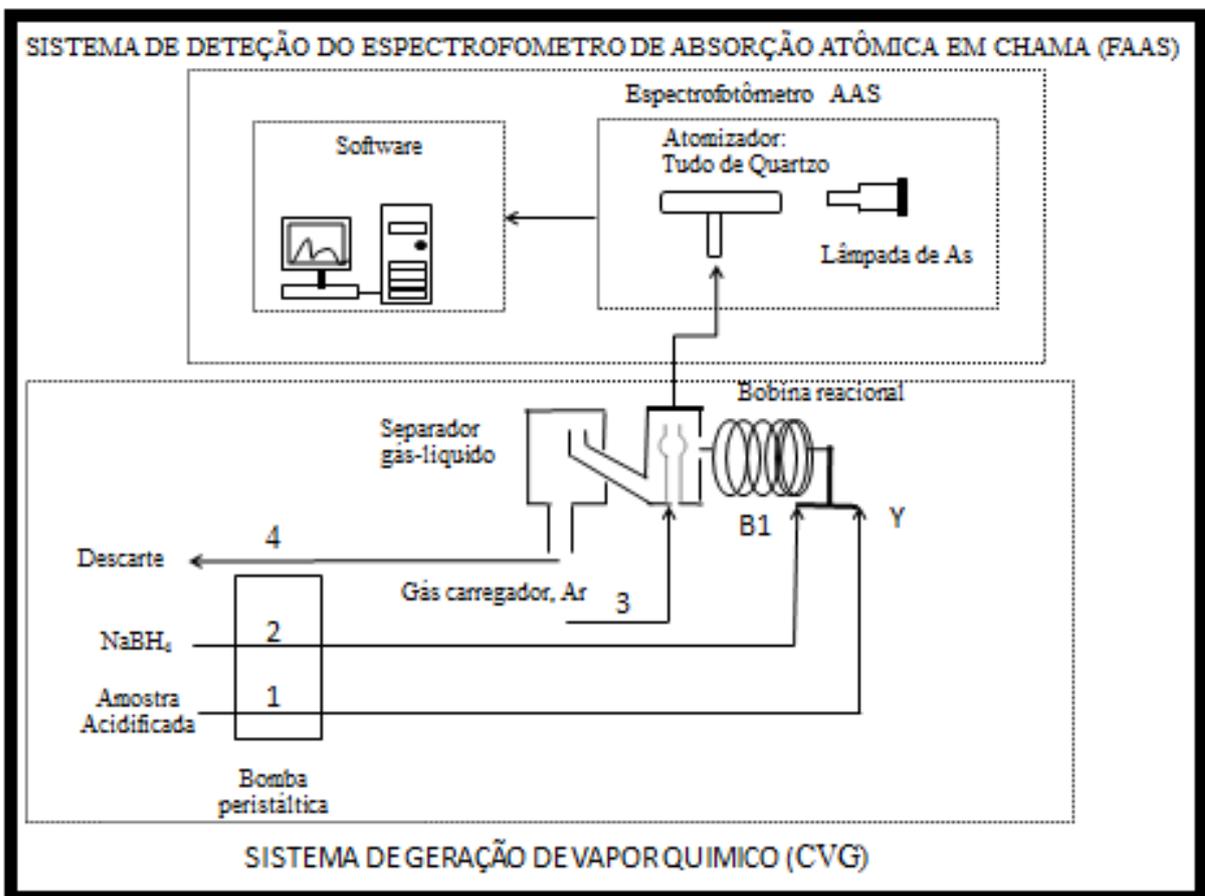
As concentrações de As na solução e na biomassa das plantas foram determinadas utilizando-se um Espectrômetro de Absorção Atômica em Chama, modelo AA 240FS *Agilent*, equipado com queimador ar/acetileno ($13,50/1,50 \text{ mL min}^{-1}$) e corretor de fundo por lâmpada de deutério. Como fonte de radiação utilizou-se lâmpada de catodo oco (HCL) de As, operadas em 193,7 nm e com corrente de 10 mA. A geração de hidreto foi realizada empregando um sistema em fluxo, utilizando uma bomba peristáltica modelo Ismatec - IPC-08, com oito canais, separador gás líquido e uma célula de quartzo em T (FIGURA 5).

Para o sistema de bombeamento das soluções foram utilizados tubos de Tygon®. A bobina reacional foi conectada ao separador gás-líquido e este conectado a cela de quartzo. Um fluxo de argônio de alta pureza (99,999% White Martins) foi empregado para transportar

a arsina, formada na bobina reacional, até o separador gás-líquido e posteriormente para a cela de quartzo.

Para a determinação de As na solução, o sistema por injeção em fluxo iniciou-se com a entrada da amostra acidificada [HCl 2% ou 10% para As (III) ou (V) respectivamente] em um canal da bomba peristáltica e o redutor NaBH_4 em outro canal (FIGURA 6). Para a determinação do As na biomassa digerida a amostra foi injetada sem ser acidificada, e em um terceiro canal foi injetado o ácido 20% HCl para todas as amostras neutralizadas.

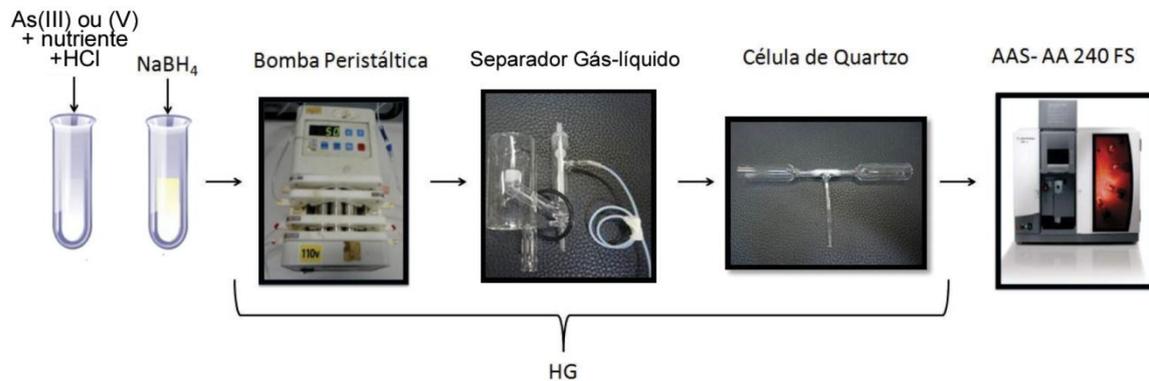
Figura 5 - Diagrama do sistema HG-FAAS



Fonte: Pinheiro, (2015)

Nota: Vazões 1- Amostra ($1,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 2- Carregador ($1,25 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 3- Gás de arraste ($0,025 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 4- Descarte ($7,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$).

Figura 6 – Imagem esquemática do processo de determinação de arsênio



Fonte: Da autora

4.6 pH DA SOLUÇÃO

As soluções contendo As (III) e (V) onde as plantas ficaram expostas pelo período de 64 horas foram submetidas à análise de pH empregando um pHmetro MS TECNOPON, devidamente calibrado, no início e no final do experimento.

4.7 EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO E FATOR DE BIOCONCENTRAÇÃO

O percentual de eficiência de remoção do arsênio da solução foi calculada de acordo com Tanhan et al (2007):

$$\% \text{ eficiência} = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100 \quad (\text{Equação I})$$

Onde: C_0 – concentração inicial do metal na solução em $\mu\text{g L}^{-1}$
 C_1 – concentração final do metal na solução em $\mu\text{g L}^{-1}$

Como se trata de uma avaliação do potencial de remoção de As pela macrófita *Lemna minor*, foi escolhido o melhor tempo de absorção pela planta para fazer o percentual de eficiência.

O fator de bioconcentração foi calculado de acordo com Rahmani e Sternberg (1999), o qual se estima o potencial da planta para realizar o processo de fitorremediação.

$$FBC = \frac{As \text{ na biomassa } (\mu\text{g g}^{-1})}{As \text{ na solução } (\mu\text{g L}^{-1})} \quad (\text{Equação II})$$

4.8 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

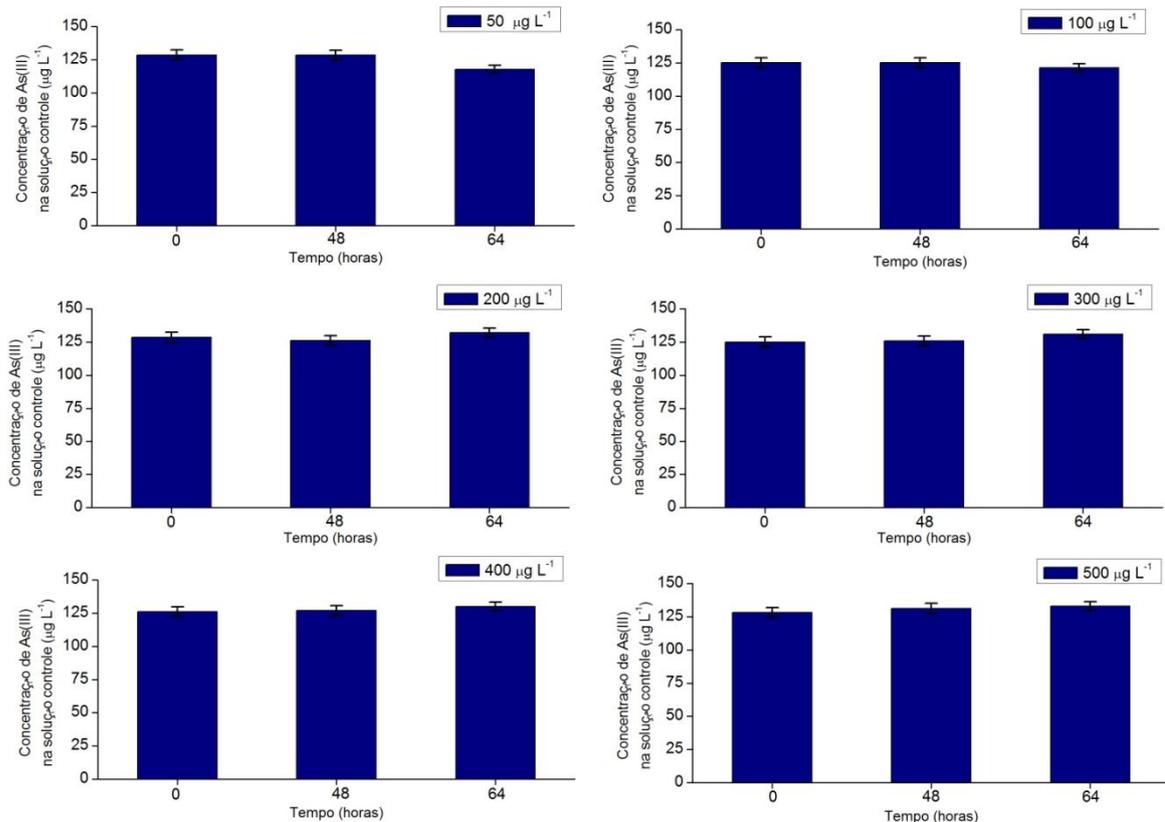
Os experimentos foram montados em delineamento inteiramente ao acaso. A análise de variância (ANOVA) e o teste de comparações múltiplas, Scott-Knott foi realizado para verificar se houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos nos intervalos de tempo analisados comparando-se ao tempo inicial ao nível de significância de 5,0% ($\alpha = 0,05$). Os testes estatísticos foram realizados através do software livre Sisvar versão 5.3 Build 77.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 REMOÇÃO DE AS (III) NA SOLUÇÃO (MEIO DE CULTURA + AS)

Os resultados do controle para As (III) demonstraram que não houve diferença significativa entre os períodos de tempo testados (FIGURA 7). Desta forma as concentrações iniciais de As (III), permaneceram sem alterações até o final do experimento (64 horas). Assim não ocorreu a precipitação e/ou adsorção do arsênio no frasco utilizado para o experimento. Este resultado comprova que qualquer alteração possível na quantidade de As (III) da solução no período em que a planta ficou exposta ocorreu pela absorção/desorção da planta.

Figura 7 - Média e desvio padrão das concentrações de As (III) em $\mu\text{g L}^{-1}$ na solução do tratamento controle, em três períodos de tempo 0, 48 e 64 horas. As barras verticais são os desvios padrões, $n=3$.

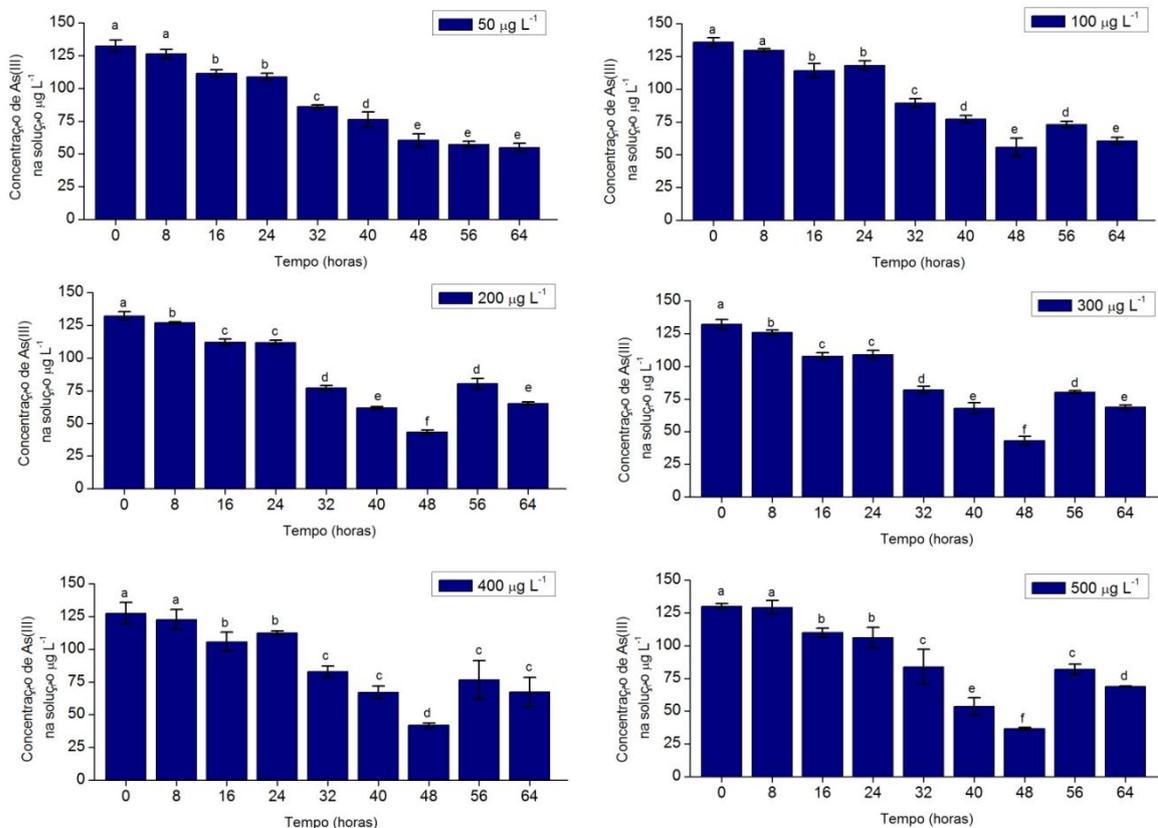


Fonte: Da autora

Nas soluções de As (III) com a presença de *Lemna minor* observou-se que houve uma redução gradativa da concentração do As na solução até o período de 48 horas. Após este

período, a concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ permaneceu estável até o período final do experimento, variando-se a concentração de As no meio reacional a partir de $100 \mu\text{g L}^{-1}$, observa-se um pequeno aumento do sinal de absorvância de As na solução, em 56 horas de exposição. As demais concentrações tiveram um aumento significativo no tempo de 56 e 64 horas (FIGURA 8). Desta forma, o tempo de 48 horas foi escolhido para se calcular o percentual de eficiência de remoção de As na solução.

Figura 8 - Média e desvio padrão das concentrações de As (III) em $\mu\text{g L}^{-1}$ na solução onde as plantas ficaram expostas por um período de 64 horas. As barras verticais são os desvios padrões, $n=3$. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ao nível de 5% entre os tratamentos.



Fonte: Da autora

Observa-se a partir de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ o retorno de As (III) na solução, no tempo de 56 horas foi maior, provavelmente devido à eliminação do As absorvido, pela planta. Uma vez que arsenato e fosfato são quimicamente análogos, a elevada disponibilidade de As (III) no meio pode interferir no metabolismo do fósforo. Assim a planta reconhece o As (III) (H_3AsO_3) como fósforo (H_3PO_3) e o absorve para converter em energia. Depois de algum tempo não consegue transformar em ATP, e o mecanismo de defesa age de maneira a liberar no meio o As absorvido. Esse mesmo mecanismo não ocorre para As(V), uma vez que a

planta reconhece que não é o elemento fósforo, provavelmente, devido à diferença nos raios das espécies iônicas, uma vez que As(V) é relativamente menor que As(III). De acordo com Espinoza-Quiñones et al 2013, este processo pode ter ocorrido porque as plantas em geral possuem mecanismos de defesa contra a toxicidade química, e outras espécies dispõem de mecanismos de adaptação em diferentes condições do meio.

De acordo com Rahman e Hasegawa (2011), espécies vegetais possuem tolerância ao arsênio mesmo quando expostas a altas concentrações. Estas plantas quando absorvem, metabolizam o arsênio nas suas formas menos tóxicas, promovendo a acumulação pela planta sem apresentar sintomas de fitotoxicidade. Como exemplo, cita-se a samambaia, que é considerada uma planta acumuladora de arsênio e por isso utiliza mecanismos de defesa, como a quelação, compartimentalização, biotransformação e reparo celular, reduzindo arsenato para arsenito dentro da planta, fazendo com que possa absorver grandes quantidades do elemento sem desenvolver a toxidez (ESPINOZA-QUIÑONES et al., 2013). Mesmo as plantas sendo tolerantes ao arsênio, estudos demonstram que, este elemento pode inibir processos vitais, como a fosforilação oxidativa, também inibe a absorção de fósforo, pode interferir nos processos metabólicos, impedir o crescimento, causar estresse oxidativo, ou até causar a morte da planta (BHATTACHARYA et al., 2011).

As Lemnoídeas têm demonstrando potencial para remoção de contaminantes no meio aquático e também estão sendo utilizadas como bioindicadoras de poluentes, pois reduzem custos em relação aos métodos físicos-químicos (ESTEVEZ, 1998; LARCHER, 2000; GUIMARÃES, 2012).

Larcher (2000) observou que *Lemna minuta* e *Spirodela intermedia* absorveram grandes quantidades de arsênio (100 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente) em águas contaminadas. Rahman e Hasegawa, (2011) citam que macrófitas aquáticas foram avaliadas para remediar águas contaminadas por As, como exemplo, *Eichhornia crassipes*, *Salvinia natans*, *Ipomoea aquatica*, *Azolla caroliniana*, *Typha latifolia*, *Ceratophyllum demersum*, entre outras.

A porcentagem de eficiência de remoção de As (III) obtido para todas as concentrações é mostrado na Tabela 6. Em todas as concentrações analisadas obtiveram taxa de remoção maior que 50%, sendo crescente em comparação a concentração inicial o que indicou que *Lemna minor* foi eficiente na remediação de águas contaminadas com arsênio (III) nas condições testadas. Estes resultados revelam que a eficiência de absorção chega a aproximadamente 72% na maior concentração testada (500 $\mu\text{g L}^{-1}$) e que quanto menor a concentração disponível, menor é sua eficiência em absorver o As disponível.

Tabela 6 - Porcentagem de eficiência de remoção de As (III) na solução em diferentes concentrações.

Concentração inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Concentração final ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Remoção (%)
Concentração	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
50	132,5	4,3	60,4	5,0	54,4
100	135,9	3,3	55,8	6,9	58,9
200	132,2	3,1	43,5	1,4	67,1
300	132,2	3,6	42,9	3,2	67,5
400	127,4	8,2	41,9	1,6	67,1
500	129,9	2,1	36,6	1,0	71,8

n=3

Fonte: Da autora

Goswami et al (2014), observaram que *Lemna minor* cultivada em sistema hidropônico em diferentes concentrações de As (III) durante 22 dias obteve maior percentual de remoção no 15º dia de estudo, chegando a 70% na concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$, corroborando ao encontrado na concentração testada neste estudo. Já para Alvarado et al., (2008), *Lemna minor* absorveu um grande percentual de As ($150 \mu\text{g L}^{-1}$) no 14º dia (21 dias de experimento), após o 14º dia houve uma liberação do elemento na água, como consequência do processo de decomposição. Neste último não foi dito qual espécie de arsênio utilizada, notam-se poucos trabalhos que comparam espécies químicas de arsênio na fitorremediação.

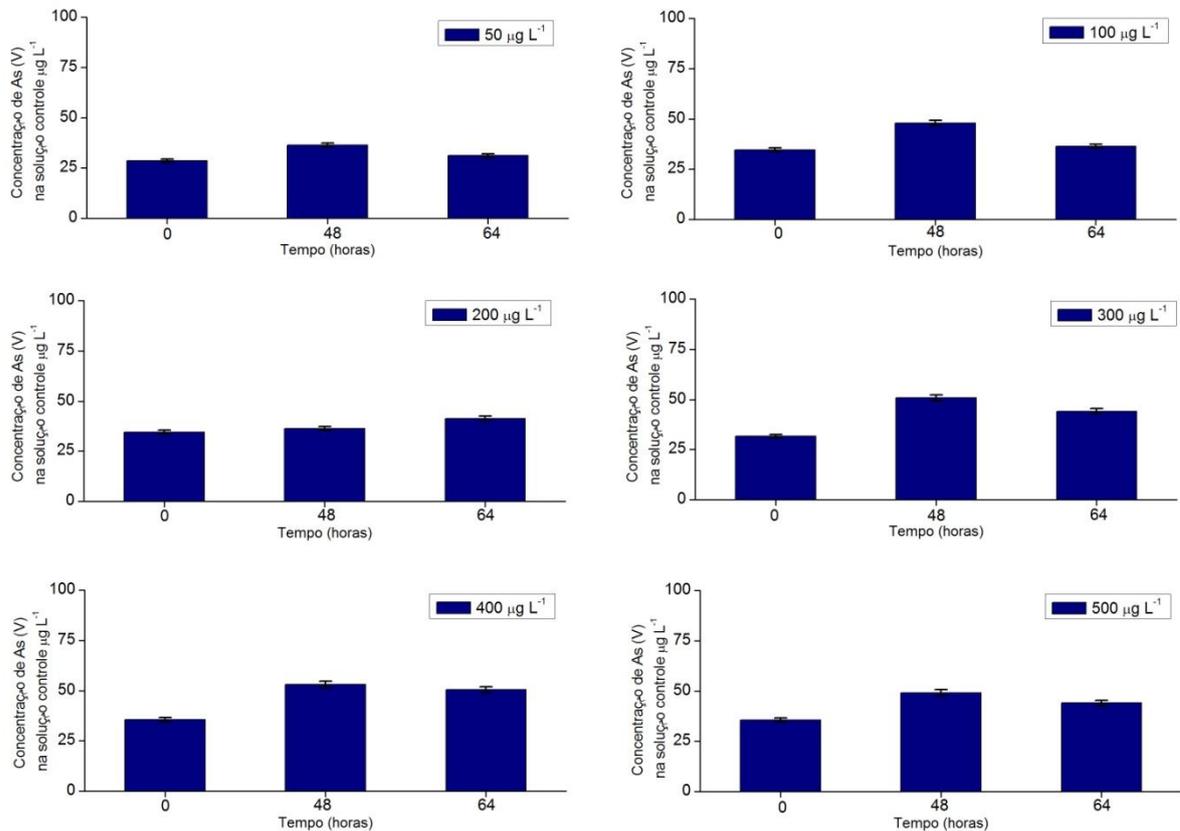
Mishra et al., (2008), testando *Lemna minor* na remoção de As e Hg em efluente de mina, observaram que no 20º dia (25 dias de experimento) o percentual de eficiência foi de aproximadamente 60% para os dois elementos.

Para o trabalho de Khellaf e Zerdaoui (2009), *Lemna gibba* teve um percentual de eficiência de 71% para remoção de zinco. O resultado deste trabalho demonstra que as lemnas são capazes de remover micronutrientes e também com a mesma eficiência removem elementos tóxicos, como é o caso do As neste trabalho.

5.2 REMOÇÃO DE AS (V) NA SOLUÇÃO (MEIO DE CULTURA + AS)

Os resultados do controle para As (V) demonstraram que não houve diferença significativa ao nível de 5,0% entre os tempos testados (FIGURA 9). Assim as concentrações de As (V) iniciais, permaneceram invariáveis até o final do experimento (64 horas), não ocorrendo portanto precipitação e/ou adsorção do arsênio no frasco utilizado para o experimento. Este resultado indicou que as alterações nas concentrações de As (V) das soluções foram devido à absorção/desorção da macrófita *Lemna minor*.

Figura 9 - Média e desvio padrão das concentrações de As (V) em $\mu\text{g L}^{-1}$ na solução do tratamento controle, em três períodos de tempo 0, 48 e 64 horas. As barras verticais são os desvios padrões, $n=3$.

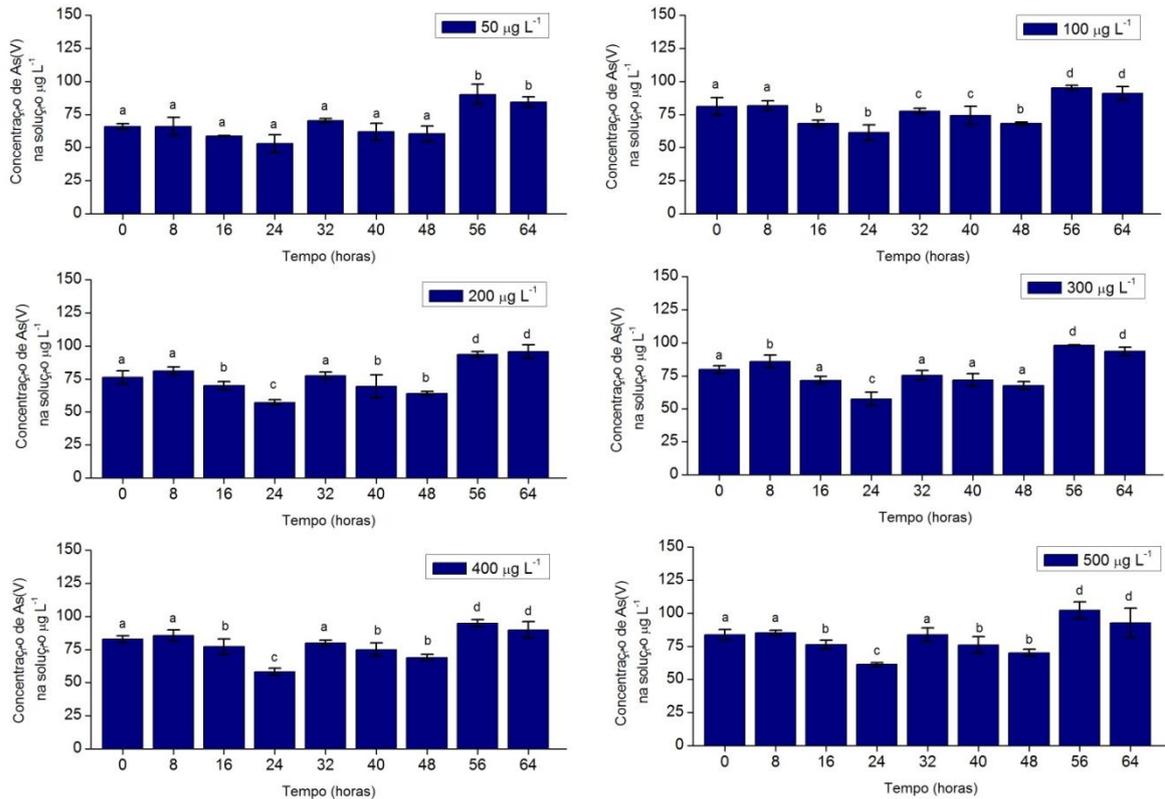


Fonte: Da autora

Nos experimentos em que *Lemna minor* foram expostas a diferentes concentrações de As (V), observou-se que na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ não houve diferença significativa de remoção de As (V) até o tempo de 48 horas. Nas demais concentrações avaliadas (exceto na concentração de $300 \mu\text{g L}^{-1}$) ocorreu remoção de As (V) da solução a partir de 16 horas. A

partir deste período notou-se a remoção e desorção de As (V) na solução pela planta (FIGURA 10).

Figura 10- Média e desvio padrão das concentrações de As (V) em $\mu\text{g L}^{-1}$ na solução onde as plantas ficaram expostas por um período de 64 horas. As barras verticais são os desvios padrões, n=3. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ao nível de significância de 5% entre os tratamentos.



Fonte: Da autora

Para todas as concentrações, houve um aumento significativo de As na solução a partir do período de 56 horas, provavelmente, porque a planta pode estar reduzindo arsenato (As V) em arsenito (As III) dentro dos tecidos vegetais e excretando esta forma para a solução. Estudos preliminares sobre a especiação de As, identificou que o As (III) é mais sensível que o As (V), para a determinação no método HG-FAAS, como é conhecido na literatura (DEDINA e TSALEV, 1995), visto que a formação da arsina é mais eficiente a partir da espécie As (III). Assim, essa redução pode possibilitar um aumento, considerável, do sinal de absorvância com a mesma quantidade de As na amostra empregando a técnica HG-FAAS. Uma hipótese para a não remoção de As (V) da solução seria pela concentração de fósforo existente no meio Steinberg, pois a planta poderia estar absorvendo fósforo ao

invés do As (V), uma vez que o mecanismo de absorção, como comentado anteriormente, pode ser o mesmo.

O cálculo do percentual de eficiência de remoção de As (V) foi realizado para o tempo de exposição de 24 horas o qual se mostrou o tempo com maior remoção de As (V) da solução (TABELA 7). A melhor taxa de eficiência de remoção foi para a concentração de 400 $\mu\text{g L}^{-1}$, chegando a aproximadamente 30%. A menor taxa de remoção ficou para a menor concentração testada no experimento que foi a de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 7 - Porcentagem de eficiência de remoção de As (V) na solução em diferentes concentrações.

Concentração	Concentração inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Concentração final ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Remoção (%)
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
50	65,9	2,0	53,0	6,7	19,5
100	81,2	6,6	61,3	5,9	24,5
200	76,2	4,8	57,4	1,9	24,7
300	79,8	2,8	57,5	5,1	27,9
400	82,8	2,6	58,3	2,5	29,5
500	83,8	4,0	61,3	1,4	26,8

Fonte: Da autora

Lemna minor obteve menor eficiente no processo de remoção de As (V) da solução para as condições testadas se comparado a eficiência na remoção de As (III). Vários fatores podem ter influenciado esta remoção, como por exemplo, o pH da solução, bem como a interação do As com os elementos químicos presente no nutriente utilizado no experimento, como exemplo o fósforo ou ainda o método de determinação utilizado no experimento para o As (V), visto que este é de difícil estabilização no sistema.

Experimentos realizados por Guimarães et al (2012), com *Lemna gibba* e As (V) num período de 6 dias, registrou-se melhor eficiência de remoção de As em concentrações de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

De certo modo, remover arsenito [As (III)] de ambientes contaminados é mais importante do que remover arsenato [As (V)], pois, o primeiro é mais tóxico do que o As (V). Por outro lado no ambiente natural existe maior concentração de arsenato disponível do que

arsenito, por tanto é de suma importância aprimorar os estudos sobre a especiação de arsênio em tecidos vegetais para melhor entender o processo de remoção.

Para a determinação de As na solução, não foi possível detectar se o mecanismo utilizado pela planta para remover As da solução, foi o processo de absorção (processo químico onde o elemento entra na estrutura da planta, possivelmente, pelo mecanismo de absorção de fósforo) ou adsorção. Provavelmente, o processo que ocorre é o mecanismo de absorção, uma vez que apenas As (III) é removido da solução de maneira eficiente, e em seguida observa-se a dessorção (processo pelo qual o elemento é liberado) de As na solução, provavelmente porque a planta relaciona que o As é tóxico e tenta eliminá-lo. No processo de adsorção, provavelmente ela não “perceberia” a toxicidade, não se observaria a possibilidade de adsorção seletiva, visto que as cargas das espécies são semelhantes e, também, neste caso, para o As desorver da parede da planta o meio teria que estar em uma condição mais ácida, o que não ocorre, visto que, não houve diferença significativa ao nível de 5,0% do pH (~6,5) na solução de As (III) e (V) no período analisado.

5.3 DETERMINAÇÃO DE AS NA BIOMASSA NAS PLANTAS QUE FICARAM EXPOSTAS AO AS (III)

Através da análise da biomassa seca das plantas que ficaram expostas ao As (III) pelo período de 64 horas, observou-se que a concentração de As total na biomassa aumentou gradativamente conforme aumentaram as concentrações de As analisadas (TABELA 8). A maior absorção de As por grama de biomassa foi encontrada na concentração de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ e a menor absorção de As por grama de biomassa foi encontrada na concentração de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$. O FBC mostrou que as concentrações de 400 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram as que tiveram maiores valores de acumulação, demonstrando o potencial fitorremediação de As pela planta *Lemna minor* nestas concentrações.

Tabela 8 - Concentração de As total ($\mu\text{g g}^{-1}$) no tecido da planta *Lemna minor*, após digestão da biomassa seca e fator de bioconcentração (FBC) de As. Plantas ficaram expostas as concentrações de As (III) por 64 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ao nível de 5% entre os tratamentos. \pm significa desvio padrão. n=3.

Absorção de As total		
Concentração exposta ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Biomassa seca ($\mu\text{g g}^{-1}$)	FBC
50	6,7 \pm 1,7 ^a	0,6
100	7,5 \pm 2,1 ^a	0,5
200	14,1 \pm 3,4 ^a	0,8
300	13,5 \pm 3,0 ^a	0,8
400	15,0 \pm 2,4 ^a	1,0
500	26,4 \pm 9,8 ^b	1,0

Fonte: Da autora

De maneira geral os resultados da biomassa seca corroboraram com a análise da solução em que as plantas ficaram expostas ao As (III), pois o As na solução diminuiu e na biomassa aumentou nas concentrações avaliadas. Estes resultados mostram que *Lemna minor* remedia de forma mais eficiente quando é exposta a concentrações maiores do contaminante. Em estudo realizado por Guimarães et al (2012), a macrófita *L. gibba* obteve maior acúmulo de As quando exposta a alta concentração de As na solução ($5,0 \text{ mg L}^{-1}$).

No total de 17 espécies de macrófitas aquáticas estudadas por Favas et al., (2012), 12 delas foram consideradas acumuladoras de As por apresentaram alta concentração deste elemento em seus tecidos. Dentre elas estava *Lemna minor*, com 430 mg kg^{-1} de As, e FBC de $6,1 \times 10^4$. Gêneros de lentilhas d'água, (*Lemna*, *Spirodela* e *Wolffia*) tem sido consideradas boas acumuladoras de As em águas contaminadas por diferentes pesquisadores (ALVARADO et al., 2008; RAHMAN et al., 2008).

De acordo com Zhao et al., (2009) em tecidos vegetais tem sido encontradas predominantemente maiores concentrações de As (III) mesmo quando plantas foram expostas a As (V). De acordo com esses autores o processo de redução de As (V) em As (III) ocorre em nível celular. Aldrich et al (2007) através da análise de espectroscopia de absorção de raio-X (XAS) pode mostrar que As (V) foi reduzido a As (III) no interior da planta. Esta redução é mediada pela enzima glutationa (GSH), uma enzima importante que é relacionada à defesa dos seres vivos (DELNOMDEDIEU et al., 1994; BLEEKER et al., 2006; ALDRICH et al., 2007).

5.4 DETERMINAÇÃO DE AS NA BIOMASSA NAS PLANTAS QUE FICARAM EXPOSTAS AO AS (V)

Nas plantas que foram expostas ao As (V), a análise de biomassa seca demonstrou que a maior concentração de As total foi encontrada nas concentrações de 200 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Para as concentrações analisadas de As (V) os valores de FBC foram baixos, demonstrando que *Lemna minor* não foi muito eficiente na absorção desta espécie química (Tabela 9).

Tabela 9 - Concentração de As total ($\mu\text{g g}$) no tecido da planta *Lemna minor*, após digestão da biomassa seca e fator de bioconcentração. Plantas ficaram expostas as concentrações de As (V) por 64 horas. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa ao nível de 5% entre os tratamentos. \pm significa desvio padrão. (n=3).

Absorção de As total		
Concentração exposta ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Biomassa seca ($\mu\text{g g}$)	FBC
50	4,2 \pm 0,9 ^a	0,6
100	3,3 \pm 1,0 ^a	0,4
200	7,6 \pm 0,8 ^b	0,7
300	1,9 \pm 2,0 ^a	0,3
400*	- -	-
500	6,9 \pm 1,4 ^b	0,4

*Não foi possível detectar concentrações de As na biomassa pelo método
Fonte: Da Autora

No caso do As, as macrófitas aquáticas absorvem as diferentes espécies por mecanismos diferentes. Na literatura, três mecanismos foram propostos, dentre eles, absorção ativa: As (V) é captado pelas plantas através de vias de captação de fosfato; absorção passiva: As (III) e metilarsenios são transportados através de aquaporinas; adsorção física-química: óxidos de Fe suspensos na superfície das raízes adsorvem e acumulam As (RAHMAN e HASEGAWA, 2011).

A menor absorção de As (V) pela planta pode ter acontecido, pois ele é absorvido pela mesma via onde absorve o fosfato e por isso pode ter ocorrido uma competição de fósforo contido no nutriente com o As (V) adicionado na solução. Este mecanismo é confirmado por Guimarães et al (2012), onde quanto mais adicionava fósforo na água menos a planta absorvia As (V). Rahman et al (2007), também observaram uma negativa correlação com a absorção de As (V) quando exposta ao fósforo.

Já em experimentos conduzidos por Aldrich et al (2007), em que *Propopis* spp. (planta de deserto) foi submetida ao crescimento em meio de Agar e 5 mg L^{-1} de As (III) e As (V) por 14 dias, foi encontrado uma maior quantidade de As (V) nos tecidos vegetais da planta *Propopis* spp do que de As (III), não corroborando com o resultado encontrado neste experimento. Talvez, esse fato pode ter acontecido pela diferença do tipo de metabolismo, uma em ambiente desértico (com muito sal) e outra em ambiente aquático. No trabalho de Aldrich et al (2007), também foi possível constatar que pela análise da raiz, caule e das folhas, o As (III) foi transportado a uma taxa muito mais rápida para as folhas do que o As (V).

6 CONCLUSÃO

Lemna minor foi eficiente para remoção seletiva, de As (III) da solução em todas as concentrações e nas condições estudadas tendo como maior taxa de remoção o período de 48 horas. Em sua biomassa seca percebeu-se maior acúmulo de As nas maiores concentrações testadas, a remoção então é mais eficiente quando é exposta a concentrações maiores do contaminante. Já para o As (V) a eficiência para remoção da solução foi menor em todas as concentrações testadas e também a análise da biomassa seca dessas plantas demonstraram que não houve grande acúmulo de As nos tecidos.

REFERÊNCIAS

- ABERNATHY, C.O. et al. Arsenic: Health effects, mechanisms of actions, and research issues. **Environ Health Perspect**; v. 107, p. 593-7, 1999.
- ABERNATHY, C.O.; CALDERON, R.L.; CHAPPELL, W.R. (Eds.). **Arsenic exposure and health effects**. Chapman & Hall, 1997. 429 p.
- ALI, H., KHAN E., SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals - Concepts and applications. **Chemosphere**, v. 91, p. 869–881, 2013.
- ALIFERIS, K. A.; MATERZOK, S.; PAZIOTOU, G. N.; CHRYSAYI-TOKOUSBALIDES, M. *Lemna minor* L. as a model organism for ecotoxicological studies performing H NMR fingerprinting. **Chemosphere**, v. 76, p.967–973, 2009.
- ALVARADO, S.; GUÉDEZ, M.; LUÉ-MERÚ, M.P.; NELSON, G.; ALVARO, A.; JESÚS, 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, p. 8436–8440, 2008.
- ALDRICH, M.V. PERALTA-VIDEA, J.R.. PARSONS, J.G GARDEA-TORRESDEY J.L. Examination of arsenic(III) and (V) uptake by the desert plant species mesquite (*Prosopis* spp.) using X-ray absorption spectroscopy. **Sci. of the Total Env.**, v. 379, p. 249– 255, 2007.
- ANDREW, A.S.; BURGESS, J.L.; MEZA, M.M.; DEMIDENKO,, E., WAUGH M.G., HAMILTON, J.W., et al. Arsenic exposure is associated with decreased DNA repair in vitro and in individuals exposed to drinking water arsenic. **Environ Health Perspect.**, v. 114, p.1193-8, 2006.
- ANZECC/ARMCANZ. **Australian Guidelines for Water Quality Monitoring and Reporting. Oct, 2000**. Disponível em:<
<http://www.ea.gov.au/water/quality/nwqms/#monitor>> Acesso em 07 jan. 2014.
- APPENROTH, K.J.; BORISJUK N.; LAM E. Telling duckweed apart: genotyping technologies for the Lemnaceae. **Chinese J. of Applied Environ Biology**, v. 19, p. 1–10. 2013.
- AYYASAMY, P.M. et al. Nitrate removal from synthetic medium and groundwater with aquatic macrophytes. **Desalination**, v. 242, p. 286–296, 2009.
- BABIC, M., et al. Antioxidative response of *Lemna minor* plants exposed to thallium(I)-acetate. **Aquatic Botany**,v. 91, p. 166–172, 2009.
- BARRA, C. M.; et al. Especificação de arsênio: uma revisão. **Quím. Nov.** v. 23, p. 58-70, 2000.
- BHATTACHARYA, S. Effects of arsenic toxicity on germination, seedling growth and peroxidase activity in gram seeds. **Biotechnology**. 21-23. 2011.

BHARTI, S.; BANERJEE, T. K. Phytoremediation of the coalmine effluent. **Ecot. and Environ Safety**, v. 81, p. 36–42, 2012.

BLEEKER, P.M.; et al. Enhanced arsenate reduction by a CDC25-like tyrosine phosphatase explains increased phytochelatin accumulation in arsenate-tolerant *Holcus lanatus*. **Plant J.**, v. 45, p. 917–929, 2006.

BOULÉ, K.M., J.A.F. VICENTE, C. NABAIS, M.N.V. PRASAD, AND H. FREITAS. Ecophysiological tolerance of duckweeds exposed to copper. **Aquatic Toxicology**, v. 91, p. 1–9, 2009.

CABRERA, L. I.; SALAZAR, G. A.; CHASE, M. W.; MAYO, S. J.; BOGNER, J.; DÁVILA, P. Phylogenetic relationships of Aroids and Duckweeds (Araceae) inferred from coding and noncoding plastid DNA. **American J. of Botany.**, v. 95, n. 4, p. 1153-1165, 2008.

CAMARGO, A.F.M.; PEZZATO, M.M.; HENRY-SILVA. Fatores limitantes à produção primária de macrófitas aquáticas. In: THOMAZ, S.M.; BINI, L.M. **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá, Paraná: Editora da Universidade Estadual de Maringá, 2003. 341p.

CARUSO, J. A. et al. Group assessment: elemental speciation. **Ecotoxicol. Environm.Safety**, v. 56, p. 32-44, 2003.

CHAMBERS, P. A., et al. Management issues in aquatic macrophyte ecology: a Canadian perspective. Canadian: **Journal of Botany**, v. 77, p. 471–487, 1999.

CHAMBERS P. A.; et al. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, p. 9–26, 2008.

CHATTOPADHYAY, S.; FIMMEN, R. L.; YATES, B. J.; LAL, V.; RANDALL, P. Phytoremediation of mercury- and methyl mercury-contaminated sediments by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Int. J. of Phytoremediation**, v. 14, p.142–161, 2012.

CHOROM, M.; PARNIAN, A.; JAAFARZADEH, N. Nickel Removal by the Aquatic Plant (*Ceratophyllum demersum* L.). **Int. J. of Environ Sci. and Development**, v. 3, n. 4, Aug 2012.

CORRÊA, M.R.; VELINI, E.D.; ARRUDA, D.P. Teores de metais na biomassa de *Egeria densa*, *Egeria najas* e *Ceratophyllum demersum*. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.20, p.45-49, 2002.

CRUZ, M. B.; AGUIAR, R.; MELLO J. W. V. Phytoremediation of acid mine drainage by aquatic floating macrophytes . **INCT-ACQUA – Annual Report**, 2010.

CRUZ, M. B.; Absorção de metais pesados presentes em efluente de mineração por *Pistia stratiotes*. In: Congresso de Ecologia do Brasil, 9, 2009, São Lourenço – MG, **Anais...** 2009. p.1-3.

- CUSIMANO, N.; et al., Relationships within the Araceae: comparison of morphological patterns with molecular phylogenies. **American J. of Botany.**, v. 98, n. 4, p. 654–668, 2011.
- DANI, S. U. A mineração dos ossos. **Ciência Hoje**, n. 331, v. 54, p. 22-27, Dez. 2014.
- DAUBS, E.H. **A monograph of Lemnaceae**. Illinois Biological Monographs 34. Urbana: The University of Illinois Press, 1965, p. 118.
- DEDINA, J.; TSALEV, D. L. **Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry**. John Wiley e Som, 1995, 544 p.
- DELNOMDEDIEU, M.; BASTI, M.M.; OTVOS, J.D.; THOMAS, D.J. Reduction and binding of arsenate and dimethylarsinate by glutathione: a magnetic resonance study. **Chem–Biol. Interact.**, v. 90, p. 139–155, 1994.
- DENNY, P. **The Ecology and Management of African**. Wetland Vegetation. W. Junk, The Hague 1985.
- DIPU, S.; KUMAR, A. A.; THANGA, V. S. G. Phytoremediation of dairy effluent by constructed wetland technology. **Environmentalist.**, v. 31, p.263–278, 2011.
- DHIR, B., *Salvinia*: an aquatic fern with potential use in phytoremediation. **Environ. Int. J. Sci. Technol.**, v. 4, p. 23–27, 2009.
- DUARTE, F.A. **Determinação de espécies de Arsênio por LC-ICP-MS**. 2006. 111f. Dissertação (Mestrado em Química)- Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria: Santa Maria – RS, 2006.
- D'ULIVO, A. et al. Mechanism of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC technical Report) **Pure Appl. Chem.**, v. 83, n. 6, p. 1283-1340, 2010.
- DOSNON-OLETTE, R.; COUDERCHET, M.; EULLAFFROY. P.; Phytoremediation of fungicides by aquatic macrophytes: Toxicity and removal rate. **Ecot. and Envir. Safety.**, v. 72, p. 2096–2101, 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, p. 983–993, 2010.
- ENGELHARDT, K. A. M., & RITCHIE, M. E. Effects of macrophyte species richness on wetland ecosystem functioning and services. **Nature.**, v. 411, p. 687–689, 2001.
- ESPINOZA-QUIÑONES, F.R.; et al. Analysis of chromium phytoaccumulation by the aquatic macrophytes *Eicchornia crassipes*. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research.**, v. 267, p. 1153–1157, 2009.
- ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; et al. Influence of lead-doped hydroponic medium on the adsorption/bioaccumulation processes of lead and phosphorus in roots and leaves of the aquatic macrophyte *Eicchornia crassipes*. **Journal of Environ Manag.**, v. 130, p. 199-206, 2013.

ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2 ed., Rio de Janeiro, Interciência, 1998.

FAVAS, P. J. C.; PRATAS, J.; PRASAD, M.N.V. Accumulation of arsenic by aquatic plants in large-scale Field conditions: opportunities for phytoremediation and bioindication. **Science of the Total Environment**, v. 433, p. 390-397, 2012.

FOROUGH, M.; NAJAFI, P., TOGHIANI, S. Trace Elements Removal from Waster water by *Ceratophyllum demersum*. **J. Appl. Sci. Environ. Manage.**, 2011.

GONÇALVES, R. C.; MARTIN, W.W. Remoção de metais pesados em água através de biopolímeros modificados. In: **Congresso de Iniciação Científica**, 17, 2008, 2008.

GOSWAMI, C.; MAJUMDER, A.; MISRA, A. K.; BANDYOPADHYAY, K. Arsenic uptake by *Lemna minor* in hydroponic system. **Int. J. of Phytoremediation**, v. 16, p.1221–1227, 2014.

GUERIN, T.; ASTRUC, A.; ASTRUC, M. Speciation of arsenic and selenium compounds by HPLC hyphenated to specific detectors: a review of the main separation techniques. **Talanta**, v. 50, p. 1-24, 1999.

GUIMARÃES. F. P.; et al. Potential of macrophyte for removing arsenic from aqueous solution. **Planta daninha**. v. 30, p. 683-696, 2012.

HA, N. T. H.; SAKAKIBARA, M.; SANO S. Accumulation of Indium and other heavy metals by *Eleocharis acicularis* : An option for phytoremediation and phytomining. **Bioresource Technology**, v.102, p. 2228–2234, 2011.

HUA, J. et al. Phytoremediation potential of three aquatic macrophytes in manganese-contaminated water. **Water and Environment Journal**, v. 26, p.335–342, 2012.

KESKINKAN, O.; GÖKSU M. Z. L. Assessment of the dye removal capability of submersed aquatic plants in a laboratory-scale wetland system using anova. **Brazilian J. of Chem. Eng.** v 24, n. 2, p. 193 - 202, 2007.

KARA, Y. Bioaccumulation of copper from contaminated wastewater by using *Lemna minor*. **Bull. Envir. Contamination Toxicology**, v. 72, p. 467–471, 2004.

KHELLAF, N.; ZERDAOUI, M.; Phytoacumulation of zinc by the aquatic plant, *Lemna gibba* L.; **Bioresource Technology**. v. 100, p.6137 – 6140, 2009.

KURNIAWAN, T.A *et al.* Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals. **Chemical Eng. J.**, v. 118, p. 83-98, 2006.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos-SP: Ed RiMa, 2000. 531p.

LES, D.H.; et al., and systematics of Lemnaceae, the duckweed family. **Systematic Botany**. v. 27, n. 2, p. 221–240, 2002.

LEWIS, M.A. Algae and vascular plant tests. In: RAND, G.M. (Ed.). **Fundamentals of**

Aquatic Toxicology- Effects, environmental fate and risk assessment. 2 ed. CRC Press, 1995, p. 135-169.

LIMA, V. F.; MERÇON, F. Metais Pesados no Ensino de Química. **Química Nova na Escola** v. 33, n. 4, p.199-205, Nov. 2011.

LIU, G.; LIN, Y. Electrochemical sensor for organophosphate pesticides and nerve agents using zirconia nanoparticles as selective sorbents. **Anal. Chem.**, v. 77, p. 5894-5901, 2005.

MARMIROLI, N.; MAESTRI, E. Health implications of trace elements in the environment and the food chain. In: PRASAD, M. N. V. (Ed.) **Trace elements as contaminants and nutrients.** New Jersey: John Wiley & Sons, p. 23-54, 2008.

MARTINS, A. P. L.; et al. Capacidade da *Typha dominguensis* na fitorremediação de efluentes de tanques de piscicultura na Bacia do Iraí – Paraná. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** v.11, n.3, p.324–330, 2007.

MELVILLE, F.; BURCHETT, M. Genetic variation in *Avicennia marina* in three estuaries of Sydney (Australia) and implications for rehabilitation and management. **Marine Pollution Bulletin.**, v. 44, p. 469-479, 2002.

MIRETZKY, P.; SARALEGUI, A.; CIRELLI, A. F. Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina). **Chemosphere**, v. 57, p. 997–1005, 2004.

MIR, K.A. et al. Extraction and speciation of arsenic in plants grown on arsenic contaminated soils. **Talanta**, v. 72, p. 1507-1518, 2007.

MISHRA, V.; et al., Phytoremediation of mercury and arsenic from tropical open cast coalmine effluent through naturally occurring aquatic macrophytes. **Water Air Soil Pollut.** v. 192, p. 303–314, 2008.

OECD . Organization for Economic Cooperation and Development. 221. **Lemna sp. Growth Inhibition Test.** In: Guidelines for the testing of chemicals, 23 mar. 2006. Disponível em: <<http://www.oecdilibrary>>. Acessado em jan. 2015.

OLIVEIRA, C.; CASTRO, E. M.; PEREIRA, J. F.; PIRES, M. F. Potencial fitorremediador de *Pistia stratiotes* L. na presença de arsênio definida por características morfofisiológicas. In: **Congresso de Ecologia do Brasil**, 10, 2011, São Lourenço – MG, Anais... São Lourenço, 2011. P. 1-2.

PILON-SMITS, E. Phytoremediation. **Annu. Rev. Plant Biol.** v. 56, p.15-39, 2005.

PINHEIRO, B. S. **Avaliação de nanomateriais (TiO₂ZnO) para a especiação de As empregando técnicas hifenadas (UV/PCVG-AAS).** 2015. 84 f. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal de Alfenas-MG, 2015.

PIRES, F. R., et al. Fitorremediação de solos contaminados com tebuthiuron utilizando-se espécies cultivadas para adubação verde. **Planta Daninha**, v. 23, n.4 , p.711-717, 2005.

PIO, M.C.S.; SOUZA, K.S; SANTANA, G.P. Capacidade da *Lemna aequinoctialis* para acumular metais pesados de água contaminada. **Acta Amazônica**, v. 43 p. 203-210, 2013.

PREDRAG, I; SLOBODANKA, P.; SANJA, T. The content of heavy metals in tissue of *Ceratophyllum demersum* L. from Danube-Tisza-Danube canal in Banat region of Vojvodina (Serbia and Montenegro). **Proceedings 36th International Conference of IAD**, 2005. Disponível em: <http://www.oen-iad.org/conference/docs/9_water_quality/ilic_et_al.pdf> Acessado em ago. 2015.

POTT, V.J. & CERVI, A.P. A família Lemnaceae Gray no Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, p. 153-174, 1999.

RAI, P. K. Heavy metal pollution in lentic ecosystem of sub-tropical industrial region and its phytoremediation. **Int. J. of Phytoremediation**, v. 12, p. 226–242, 2010.

RAHMAN, M. A.; HASEGAWA, H. Aquatic arsenic: Phytoremediation using floating macrophytes. **Chemosphere**, v. 83, p. 633–646, 2011.

RAHMANI, G.N.H., STERNBERG, S.P.K., Bioremoval of lead from water using *Lemna minor*. **Bioresour. Technol.**, v.70, p. 225–230, 1999.

RAHMAN, M.A., HASEGAWA, H., UEDA, K., MAKI, T., OKUMURA, C., RAHMAN, M.M., Arsenic accumulation in duckweed (*Spirodela polyrhiza* L.): a good option for phytoremediation. **Chemosphere**, v. 69, p.493–499, 2007.

RAHMAN, M.A., HASEGAWA, H., KITAHARA, K., MAKI, T., UEDA, K., RAHMAN, M.M., The effects of phosphorous on the accumulation of arsenic in water fern (*Azolla pinnata* L.). **J. Ecotechnol. Res.**, v.14, p. 21–24, 2008a.

RAVINDRAN, K.C.; VENKATESAN, K.; BALAKRISHNAN, V.; CHELLAPPAN, K.P.; BALASUBRAMANIAN, T. Restoration of saline land by halophytes for Indian soils. **Soil Biol. Biochem.**, v.39, p. 2661–2664, 2007.

ROFKAR, J. R.; DWYER, D. F.; BOBAK, D. M. Uptake and toxicity of arsenic, copper, and silicon in *Azolla caroliniana* and *Lemna minor*. **Int. J. of Phytoremediation**, v. 16, p. 155–166, 2014.

RODRIGUES, A. S. L.; MALAFAIA, G. Efeitos da exposição ao arsênio na saúde humana. **Rev. Saúde. Com.**, v. 4, n. 2, p. 148-159, 2008.

RODRIGUES, N. L. V. B. **Testes de toxicidade aguda através de bioensaios no extrato solubilizado dos resíduos classe II A – não inertes e classe II B – inertes**. 2005, 122f. Dissertação (mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental), Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2005.

SANTOS, E. I. A.; **Avaliação do grau de contaminação da alface por metais pesados no município de Gurupi – TO**. 2009. 76 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia com ênfase em Produção Vegetal), Universidade Federal do Tocantins, Gurupi- TO, 2009.

- SIZOVA, O.I., KOCHETKOV, V.V., VALIDOV, S.Z., BORONIN, A.M., KOSTERIN, P.V., LYUBUN, Y.V. Arsenic-contaminated soils: genetically modified *Pseudomonas* spp. and their arsenic-phytoremediation potential. **J. Soil. Sediment.**, v. 2, p. 19–23, 2002.
- SMEDLEY, P.L.; KINNIBURGH, D.G. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. **Applied Geochemistry**, Oxford, v. 17, n. 5, p. 517–568, 2002.
- SRIVASTAVA S.; et al., Effect of combinations of aquatic plants (*Hydrilla*, *Ceratophyllum*, *Eichhornia*, *Lemna* and *Wolffia*) on arsenic removal in field conditions. **Ecological Engineering**, v. 73, p. 297–30, 2014.
- SUSARLA, S.; MEDINA, V. F.; MCCUTCHEON, S. C. Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. **Ecological Engineering.**, v.18, p.647-658, 2002.
- TAKASE, I. et al. A geração química de vapor em espectrometria atômica, **Quim. Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1132-1144, 2002.
- TANHAN, P.; et al., Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by Siam weed [*Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson]. **Chemosphere**, v. 68, p. 323–329, 2007.
- THOMAZ, S. M., CUNHA, E. R. The role of macrophytes in habitat structuring in aquatic ecosystems: methods of measurement, causes and consequences on animal assemblages' composition and biodiversity. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 22, n. 2, p. 218-236, 2010.
- THOMAS, T.H.; EDEN, R.D. Water hyacinth – a major neglected resource. In: Sayigh, A.A.M. (Ed.). **Energy and the Environment**. Proceedings of the 1st World Renewable Energy Congress, Reading, UK, p. 2092–2096, 1990.
- TRIPATHI, R.D., et al., Arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants. **Trends Biotechnol.**, v. 25, p. 158–165, 2007.
- UDEN, P.C. Modern trends in the speciation of selenium by hyphenated techniques. **Anal.Bioanal.Chem.**,v. 373, p. 422-431, 2002.
- VENU, S. H. P. The taxonomy and report of flowering in *Lemna* L. (Lemnaceae) in India. **Current Science**, v. 102, n. 12, Jun. 2012.
- WEISS, J.; HONDZO, M.; BIESBOER,D. Laboratory study of heavy metal phytoremediation by three wetland macrophytes. **Int. J. of Phytoremediation**, v. 8, p. 245–259, 2006.
- WROBEL, K.; WROBEL, K. CARUSO, J.A. Pretreatment procedures for characterization of arsenic and selenium species in complex samples utilizing coupled techniques with mass spectrometric detection. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 381, p. 317-331, 2005.
- ZHAO, F.J., et al., Arsenic uptake and speciation in the rootless duckweed *Wolffia globosa*. **New phytologist.**, v. 182, p. 421–428, 2009.
- ZORRIG, W.; et al., a solution for salt-affected soils in arid and semi-arid regions. **J. Arid Land Stud**. v. 22, p. 299–302, 2012.

ANEXO A - Meio de cultivo Steinberg modificado após ISO 2007 (OECD, 2006).

Macroelementos	g L⁻¹
Solução-estoque 1:	
KNO ₃	17,50
KH ₂ PO ₄	4,5
K ₂ HPO ₄	0,63
Solução-estoque 2:	
MgSO ₄ .7H ₂ O	5,00
Solução-estoque 3:	
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	14,75
Microelementos	mg L⁻¹
Solução-estoque 4:	
H ₃ BO ₃	120,0
Solução-estoque 5:	
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	180,0
Solução-estoque 6:	
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	44,0
Solução-estoque 7:	
MnCl ₂ . 4H ₂ O	180,0
Solução-estoque 8:	
FeCl ₃ .6H ₂ O	760,00
EDTA-sal dissódico	1500,00

– As soluções-estoque de 1 a 7 foram esterilizadas por autoclavagem a 121°C por 20 minutos.

– A solução final do meio Steinberg modificado foi preparada adicionando-se 20 mL das soluções-estoque 1, 2 e 3 e 1 mL das soluções-estoque 4, 5, 6, 7 e 8. O pH da solução final é 5,5 ±0,2. O volume final foi acertado para 1000 mL com água deionizada.

– Para o experimento a solução final foi diluída em 50% com água deionizada para evitar interferências ao sistema de detecção.