



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Luís Antônio Bueno

LAGOA DE LEMNAS:
O POLIMENTO DE EFLUENTE DOMÉSTICO INTEGRADO À PRODUÇÃO DE
BIOMASSA PROTEICA

Florianópolis
2025

Luís Antônio Bueno

Lagoa de Lemnas:

O polimento de efluente doméstico integrado à produção de biomassa proteica

Dissertação de Mestrado submetido ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Rodrigo de Almeida Mohedano, Dr.

Coorientador: Prof. Paulo Belli Filho, Dr.

Coorientadora: Renata Fialho Teixeira, Dra.

Florianópolis

2025

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.
Dados inseridos pelo próprio autor.

BUENO, LUIS ANTONIO

Lagoa de lemnas: : O polimento de efluente doméstico integrado à produção de biomassa proteica. / LUIS ANTONIO BUENO ; orientador, Rodrigo de Almeida Mohedano, coorientador, Paulo Belli Filho, coorientador, Renata Fialho Teixeira, 2025.

86 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Engenharia Ambiental. 2. Recuperação de recursos. 3. Proteína alternativa. 4. Lagoa de lemna. 5. Efluente doméstico. I. Mohedano, Rodrigo de Almeida. II. Belli Filho, Paulo. III. Teixeira, Renata Fialho IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. V. Título.

Luís Antônio Bueno

Lagoa de Iemnas: o polimento de efluente doméstico integrado à produção de biomassa proteica

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 23 de julho de 2025, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Rodrigo de Almeida Mohedano, Dr.
UFSC/PPGEA – Orientador

Profa. Maria Elisa Magri, Dra.
UFSC/PPGEA – Membro Interno

Prof. Paulo Belli Filho, Dr.
UFSC/PPGEA – Coorientador

Prof. Giustino Tribuzi, Dr.
UFSC/PGCAL – Membro Externo

Renata Fialho Teixeira, Dra.
UFSC/PPGEAL – Coorientadora

Flávia Tavares de Matos, Dra.
Embrapa Pesca e Aquicultura
Membro Externo à UFSC

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Insira neste espaço a
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof. Rodrigo de Almeida Mohedano, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2025.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo conjunto de eventos que me proporcionou a realização desse trabalho, por ter me alimentado de energia suficiente para superar os desafios e pelo esclarecimento do pensamento nos momentos necessários. Por ter me cercado de pessoas incríveis, que contribuíram até mesmo com a simples existência do ser, pois sozinho não teria sido a mesma coisa.

Infinitos agradecimentos ao meu orientador, professor Rodrigo Mohedano, por ter sido o orientador que eu merecia. Pela construção desse trabalho, pelo compartilhamento de conhecimento, por ser uma referência de pessoa e de pesquisador. Por incentivar o meu desenvolvimento interpessoal, através da participação em eventos, conexões com diferentes laboratórios e grupos de pesquisa. Agradeço pelo acolhimento nos incontáveis momentos de desespero e ansiedade, por permitir e incentivar a minha comunicação. Agradeço pelas conversas trocadas nos cafés do Labeflu e pelos bolos de quartas-feiras da feirinha.

Agradeço ao professor coorientador Paulo, por me aceitar no mestrado, pela sabedoria e grande domínio de semântica das palavras. Agradeço a Doutora Renata, minha coorientadora, por iluminar o caminho das proteínas, da extração, das propriedades, da ideia do filtro de pano, das dicas de centrifugação, indicação de literatura e esclarecimentos dos POPs. Agradeço aos membros da banca, professora Maria (RReSSa/LaMis) e professor Giustino (Labcal), pelas contribuições na qualificação, nas aulas ministradas e na avaliação da dissertação, assim como a Doutora Flávia, por aceitarem o convite.

Agradeço aos professores parceiros, Acácio (Latesc), Armando (Lareso), Nelson (Labeflu) e Pablo (GESAD), assim como à Doutora Laís (Latesc) e ao Doutor Matheus (Lareso). Agradeço pela disponibilização de infraestrutura e apoio a nossa pesquisa. Agradeço ao professor Juliano (Labmico) pela disponibilização do liofilizador. Agradeço à equipe do Lima, representados por Aline e Jorge, pelas análises de Dionex, proteína e dúvidas diversas relacionadas à pesquisa. Ao engenheiro Filipe pelo apoio de infraestrutura.

Meus profundos agradecimentos aos discentes e docentes do PPGEA, que compartilharam momentos e conhecimentos durante esse meu período no programa, pelas conversas de corredor, pelas discussões nas disciplinas e inspiração. Especialmente, agradeço a Jana, pelos almoços no RU, pelas conversas e desabafos, pelo apoio científico e emocional. Agradeço a Thais pelo apoio nas análises do efluente e operação dos Wetlands, também agradeço a Marina e Gabriela G. pelos mesmos motivos.

Agradeço à minha família de sangue, pois nós somos de quem e de onde viemos. Agradeço às amigas Márcia, Thainá e Pamela e ao amigo Alexandre. Agradeço aos colegas dos três semestres de terapia em grupo no SAPSI, assim como Betty, Alex e Natália pelos conselhos e acolhimento. Agradeço à Doutora Clarissa.

Finalmente, mas não menos importante, agradeço às colegas de laboratório, pelos cafés e pelos bolos. Pelas conversas, ou apenas pela sua presença. Pelas vidrarias lavadas. Pelas faxinas coletivas. Pelos risos e momentos de distração. Pelos churrascos no terraço. São elas: as do início: Gabriela O, Bianca, Sofia M., Sofia K. e Juliana; as do final: Lindamara, Grazi, Thea, Lina e Sara; agradeço um pouco mais à Gabriela M., bolsista IC pelas análises de efluente, extração e quantificação da proteína, pela companhia até o EQA e nas manhãs de lab. Ah, e ao Júnior do Somos Lagoa pela alegria de todo o bom-dia.

Agradeço à CAPES pela bolsa de mestrado concedida durante os dois anos de realização dessa pesquisa. Ao CNPq, a Fapesc e ao grupo INCT-SbN pelo apoio financeiro.

RESUMO

A população mundial poderá chegar a 10 bilhões em 2100. Esse crescimento populacional irá pressionar diversos setores como a produção de alimentos e o saneamento básico, além de elevar as pressões sobre o meio ambiente. No cenário atual de economia linear, os nutrientes removidos dos efluentes não são recuperados, enquanto ocorre a exploração dos recursos naturais finitos para a produção de fertilizantes, como o fósforo. Assim, buscam-se alternativas circulares que integrem o tratamento de efluentes e a recuperação de recursos. Nesse contexto, as lemnas podem ser uma opção pelo seu alto teor de proteína, elevada taxa de crescimento, facilidade de colheita e produção de biomassa de valor agregado. De modo que o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial das lagoas de lemnas na recuperação de nutrientes de efluente doméstico integrada à produção de biomassa proteica como alimento e a segurança sanitária desse produto. Para isso, foi operada uma unidade piloto de lagoas de lemnas (*Landoltia punctata*) para polimento do efluente doméstico de *Wetland* Construído de fluxo vertical de fundo saturado. Foi avaliada a eficiência de polimento do efluente e de recuperação de nutrientes. A biomassa produzida foi quantificada e submetida a um processo de extração da proteína por meio da solubilização em pH 6,5 seguido por precipitação ácida. Foram avaliadas características tecno-funcionais do extrato, como as capacidades e estabilidades de formação de espuma e emulsão. Ainda, foi verificada a presença de patógenos (*E. coli*, *Salmonella enterica* e *Enterococcus faecalis*) na biomassa produzida e no efluente na entrada e saída da lagoa. A lagoa apresentou uma eficiência média de 84,9 % e 87,1 % de remoção de fósforo e nitrogênio, respectivamente. A produtividade de biomassa seca obtida foi de 12,4 ton.(ha.ano)⁻¹, com um teor proteico bruto de 27,62 % da lemna seca. O extrato proteico atingiu 47,45% de proteína, 133,3 % de capacidade de espuma e 8,30 m².g⁻¹ de capacidade de emulsão. Não foi detectada a atividade dos patógenos avaliados, tanto no efluente terciário como na biomassa avaliada, indicando uma possível viabilidade sanitária para utilização das lemnas como fonte de proteína para alimentação humana. Os resultados de recuperação de nutrientes, extração de proteína e ausência de patógenos foram satisfatórios quando comparados à literatura e caracterizam as lagoas de lemnas alimentadas com efluente doméstico de WC como uma possível fonte sustentável de biomassa proteica para alimentação humana. Contudo, recomenda-se o desenvolvimento de estudos complementares para avaliar possíveis efeitos de poluentes emergentes.

Palavras-chave: lagoa de lemnas; efluentes domésticos; proteína alternativa; recuperação de recursos; bioeconomia.

ABSTRACT

The world population may reach 10 billion by 2100. This population growth will place pressure on several sectors, such as food production and basic sanitation, in addition to increasing environmental pressures. In the current linear economy scenario, nutrients removed from wastewater are not recovered, while finite natural resources, such as phosphorus, are exploited for fertilizer production. Therefore, circular alternatives are being sought to integrate wastewater treatment and resource recovery. In this context, duckweeds may be a suitable option due to their high protein content, high growth rate, ease of harvest, and production of value-added biomass. Thus, the objective of this study was to evaluate the potential of duckweed ponds for nutrient recovery from domestic wastewater integrated with the production of protein biomass for food purposes and the sanitary safety of this product. For this, a pilot unit of a duckweed (*Landoltia punctata*) pond was operated for polishing the domestic effluent from a Vertical Flow Constructed Wetland plant. The polishing efficiency of the wastewater and nutrient recovery were evaluated. The biomass produced was quantified and subjected to a protein extraction process through solubilization at pH 6.5 followed by acid precipitation at pH 4.0. Techno-functional properties of the extract were evaluated, such as foaming and emulsifying capacities and stabilities. Furthermore, the presence of pathogens (*E. coli*, *Salmonella enterica* e *Enterococcus faecalis*) was verified in the biomass produced and in the influent and effluent of the duckweed pond. The duckweed pond achieved an average removal efficiency of 84.9% and 87.1% for phosphorus and nitrogen, respectively. The fresh biomass productivity obtained was 12.4 ton.(ha.year)⁻¹, with a crude protein content of 27.62% in the dry basis. The protein extract reached 47.45% protein, 133.3% foaming capacity, and 8.30 m².g⁻¹ emulsifying capacity. No activity of the evaluated pathogens was detected in either the tertiary effluent or the analyzed biomass, indicating possible sanitary feasibility for using duckweeds as a protein source for human consumption. The results for nutrient recovery, protein extraction, and absence of pathogens were satisfactory when compared to the literature and characterize duckweed ponds fed with domestic effluent from CW as a possible sustainable source of protein biomass for human consumption, although further studies are needed regarding the presence of contaminants of emerging concern.

Keywords: duckweed pond; domestic wastewater; alternative protein; resource recovery; bioeconomy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Filogenia das lemnas	15
Figura 2 – Processos envolvidos em lagoa de lemnas	16
Figura 3 – Localização da RuBisCO no tecido vegetal.....	24
Figura 4 – Localização da área de estudo.....	33
Figura 5 – Sistema de WC GESAD.....	34
Figura 6 – Lagoa de lemnas e reservatório de água de reuso.	35
Figura 7 – Processo de medição da densidade de lemna.....	38
Figura 8 – Fluxograma da extração da proteína	42
Figura 9 – Fluxograma da avaliação de patógenos.....	45
Figura 10 – Cronologia da alimentação de efluente na lagoa de lemnas	47
Figura 11 – Gráfico da precipitação média por ciclo	48
Figura 12 – Gráfico do crescimento relativo da biomassa fresca.....	49
Figura 13 – Amostras do efluente na lagoa de lemnas	50
Figura 14 – Gráfico da concentração e remoção de DQO.....	51
Figura 15 – Gráfico da concentração e remoção de fosfato	52
Figura 16 – Gráfico da concentração e remoção de N-amoniacal.....	54
Figura 17 – Gráfico da concentração e remoção de nitrito.....	56
Figura 18 – Gráfico da concentração e remoção de nitrato	57
Figura 19 – Percentual de remoção (N ₂) e recuperação de nitrogênio pela biomassa (N _{bm}). ..	59
Figura 20 – Fator de correlação entre as variáveis de operação e os resultados obtidos.....	59
Figura 21 – Ilustração do processo de extração.....	60
Figura 22 – Propriedades tecno-funcionais do extrato proteico de lemna	64
Figura 23 – Divergências na detecção de Salmonella	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Eficiência do tratamento de efluente doméstico em lagoas de lemnas.	19
Tabela 2 – Componentes macronutrientes das lemnas.	21
Tabela 3 – Teor de proteína bruta na biomassa seca de lemnas.	22
Tabela 4 – Estudos de extração da proteína de lemnas.	25
Tabela 5 – Parâmetros do efluente.	34
Tabela 6 – Metodologia de análise dos parâmetros do efluente.	39
Tabela 7 – Eficiência de remoção de DQO por bloco.	51
Tabela 8 – Eficiência de remoção de fosfato por bloco.	53
Tabela 9 – Carga e Taxa Superficial de fósforo (P-PO ₄ ⁻³).	53
Tabela 10 – Eficiência de remoção de N-amoniaco por bloco.	55
Tabela 11 – Eficiência de remoção de nitrito por bloco.	56
Tabela 12 – Eficiência de remoção de nitrato por bloco.	57
Tabela 13 – Taxa Superficial e Carga de nitrogênio (N-NH ₄ ⁺ , N-NO ₃ ⁻ , N-NO ₂ ⁻).	58
Tabela 14 – Resultados da extração de proteína.	61
Tabela 15 – Representação dos extratos	61
Tabela 16 – Propriedades tecno-funcionais do extrato proteico.	63
Tabela 17 – Limite de patógenos.	65
Tabela 18 – Concentração (mg.L ⁻¹) de metais pesados na entrada e saída da lagoa.	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC – *Association of Official Analytical Chemists*

ATP – Adenosina Trifosfato

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente

CONSEMA – Conselho Estadual de Meio Ambiente de Santa Catarina

DBO – Demanda Biológica de Oxigênio

DQO – Demanda Química de Oxigênio

EAI – Índice de atividade de emulsão

ESI – Índice de estabilidade de emulsão

FC – Capacidade de espuma

FSt – Estabilidade de espuma no tempo t

GESAD – Grupo de Estudos em Saneamento Descentralizado

Nbm – Nitrogênio removido pela biomassa

N2 – Nitrogênio removido via desnitrificação

OD – Oxigênio Dissolvido

ODS – Objetivos do Desenvolvimento Sustentável

OECD – *Organization for Economic Co-Operation and Development*

pH – Potencial hidrogeniônico

PV – Poço de visita

PVC – Policloreto de vinila

RNA – Ácido ribonucleico

RuBisCO – ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase

SbN – Soluções Baseadas na Natureza

TCR – Taxa de crescimento relativo

TDH – Tempo de detenção hidráulica

TP – Teor Proteico

UFC – Unidade formadora de colônia

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

UV – Ultravioleta

WC – *Wetland* Construído

λs – carga de aplicação superficial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	OBJETIVOS	12
1.1.1	Objetivo geral	12
1.1.2	Objetivos específicos	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	PROBLEMÁTICA	13
2.1.1	Tratamento de efluentes e a recuperação de recursos	13
2.1.2	Fertilizantes e a escassez de recursos	14
2.2	AS LEMNAS	14
2.2.1	Aspectos gerais e biologia	14
2.3	LAGOAS DE LEMNAS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES	16
2.3.1	Mecanismos de remoção de nitrogênio	16
2.3.2	Mecanismo de remoção de fósforo	17
2.3.3	Mecanismos de remoção de matéria orgânica	18
2.3.4	Eficiência de remoção de nutrientes em efluente doméstico	18
2.3.5	Aspectos de engenharia	19
2.4	LEMNAS COMO ALIMENTO PROTEICO	20
2.4.1	Características nutricionais das lemnas	20
2.4.2	Teor de proteína na biomassa de lemna	21
2.4.3	Processos de extração da proteína de lemnas	24
2.4.3.1	Pré-tratamento da biomassa	25
2.4.3.2	Separação da proteína	26
2.4.3.3	Isolamento da proteína	27
2.4.4	Propriedades tecno-funcionais da proteína	28
2.4.4.1	Solubilidade	28
2.4.4.2	Capacidade de emulsificação	28
2.4.4.3	Capacidade de formação de espuma	29
2.4.4.4	Formação de gel	29
2.4.4.5	Outras propriedades	30
2.5	PATÓGENOS EM EFLUENTES DOMÉSTICOS	30
2.5.1	Remoção de patógenos em <i>Wetland</i> Construído	31
2.5.2	Remoção de patógenos em lagoa de lemnas	32
2.5.3	Métodos auxiliares de inativação de patógenos	32
3	METODOLOGIA	33
3.1	TRATAMENTO DO EFLUENTE	33
3.1.1	Tratamento do efluente bruto	34
3.1.2	Lagoa de lemnas	35
3.1.2.1	Aspectos construtivos da lagoa	35
3.1.2.2	Espécie de lemna utilizada	36
3.1.3	Delineamento experimental	37
3.1.3.1	Alimentação de efluente	37

3.1.3.2	Aspectos operacionais	37
3.1.3.3	Análises físico-químicas	39
3.1.3.4	Eficiência de remoção de nutrientes na lagoa	39
3.2	EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA A PARTIR DA BIOMASSA DE LEMNAS	41
3.2.1	Preparo da biomassa	41
3.2.2	Extração da proteína	41
3.2.3	Rendimento de extração	42
3.2.4	Propriedades tecno-funcionais do extrato proteico	43
3.3	PRESENÇA DE PATÓGENOS NA BIOMASSA	44
3.3.1	Coleta e preparo das amostras	44
3.3.2	Identificação dos micro-organismos patogênicos	44
3.3.2.1	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella enterica</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	44
3.3.3	Segurança sanitária do concentrado proteico	45
4	RESULTADOS	47
4.1	POLIMENTO DO EFLUENTE	47
4.1.1	Alimentação de efluente na lagoa	47
4.1.2	Produtividade da biomassa e teor de proteína	49
4.1.3	Remoção e recuperação de nutrientes	50
4.1.3.1	Remoção de DQO	50
4.1.3.2	Remoção e recuperação de fósforo	52
4.1.3.3	Remoção e recuperação de nitrogênio	54
4.1.3.4	Correlação entre as variáveis de operação e os resultados obtidos	59
4.2	EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA	60
4.2.1	Teor proteico (TP) do extrato	61
4.2.2	Propriedades tecno-funcionais	62
4.3	SEGURANÇA SANITÁRIA	64
5	CONCLUSÃO	67
6	RECOMENDAÇÕES	68
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
	APÊNDICE I – CONTAGEM DE <i>Salmonella enterica</i>	79
	APÊNDICE II – CONTAGEM DE <i>E. coli</i>	80
	APÊNDICE III – CONTAGEM DE <i>Enterococcus faecalis</i>	81

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que a população mundial atinja seu pico até o ano de 2050, quando pode chegar à 8,6 bilhões de seres humanos (Callegari; Stoknes, 2023). Esse valor corresponde a um crescimento de 7,5 % nos próximos 25 anos. Para que isso ocorra, a estimativa leva em consideração mudanças positivas na economia, saúde e educação, como equidade de gênero e combate à fome, que refletem na diminuição da taxa de fecundidade (Callegari; Stoknes, 2023). Em contrapartida, sem as mudanças necessárias, a população mundial pode chegar, no ano de 2100, à 10 bilhões de habitantes no planeta (UN, 2022), que devem enfrentar problemas como escassez de recursos, superconcentrações urbanas e precarização da qualidade de vida.

Esse crescimento populacional causa uma pressão sobre os recursos levando a uma escassez de alimento, uma vez que na atualidade cerca de 735 milhões de pessoas estão na faixa da subnutrição, o que corresponde a 9,2 % da população mundial de 2022 (FAO, 2023). Devido à pandemia de COVID-19 e conflitos políticos, o Objetivo do Desenvolvimento Sustentável (ODS) nº 2 está distante de ser atendido, principalmente nos países da África, Ásia Ocidental e Caribe (FAO, 2023). Os extremos climáticos e as crises econômicas se somam ao crescimento desigual e à dificuldade de acesso a alimentos nutritivos como obstáculos para atingir o objetivo de erradicação da fome nos próximos anos.

No contexto do saneamento básico, mais de 50 % da população mundial não é atendida por sistema de tratamento de esgoto e 40 % não tem acesso a água tratada (UN, 2020), sem mencionar a coleta de resíduos sólidos e drenagem urbana. Esses dados vão em contraponto ao ODS nº 6, que tem como meta o acesso à água e esgoto tratados para todos até o ano de 2030. Para isso, seria necessário mais que duplicar os sistemas de tratamento existentes nos próximos anos, seja em vazão atendida ou número de plantas instaladas.

A coleta e o tratamento inadequado de esgoto aumentam o risco de contaminação por nutrientes dos corpos hídricos (Suresh et al., 2023). Aumentar os sistemas de tratamento de efluentes e aplicar o seu reuso colabora para a disponibilidade de água doce e a diminuição da carga de nutrientes (Suresh et al., 2023). Nesse sentido, as plantas de tratamento de efluentes e recuperação de recursos podem ser uma opção estratégica, dentre elas as Soluções baseadas na Natureza (SbN), que mimetizam processos naturais a fim de atingir as eficiências necessárias no tratamento de efluentes. O Programa Ambiental das Nações Unidas traz alguns exemplos de SbN e os desafios em que atuam (UNEP, 2022). Por exemplo, os *Wetland* Construídos (WC) atuam na redução do risco de desastres, segurança da água e perda da biodiversidade (UNEP, 2022).

Componentes dos WC, as macrófitas são largamente estudadas, pois removem nutrientes, fixam gás carbônico e produzem uma biomassa de valor agregado. Apesar disso, sua eficiência na remoção de fósforo não é permanente, devido à saturação desse nutriente no substrato através da adsorção (Zou et al., 2024). Quando isso ocorre, o substrato carregado de fósforo pode passar a liberar esse nutriente no efluente (Zou et al., 2024) e afetar o sistema de tratamento. Nos corpos hídricos, a presença de fósforo pode levar à eutrofização, o que faz necessário implementar um pós-tratamento nesses WC cuja remoção de fósforo não seja eficiente.

Como opção para o pós-tratamento, tem-se as lagoas de lemnas (macrófitas flutuantes), que são uma configuração de lagoa de estabilização com comprovada eficiência na remoção de nutrientes, superando 90% (Mohedano et al., 2019; Teles et al., 2017; Tonon et al., 2017). Diferentemente de outros sistemas de lagoas de estabilização, as lagoas de lemnas podem gerar uma grande quantidade de biomassa, passível de valorização, agregando valor ao sistema. Essa biomassa pode atingir teores de proteína bruta próximos a 45% da base seca (Gaur; Suthar, 2017), a depender da espécie e nutrientes presentes no meio de cultura, além de outros fatores. Os estudos com lemnas podem envolver até mesmo um sistema de suporte à vida para estações espaciais, onde essas plantas atuam como componente de um sistema aquático em equilíbrio (Bluem; Paris, 2001). Além disso, sistemas baseados em fotossíntese podem recuperar nutrientes simultaneamente à promoção do sequestro de gás carbônico (CO₂) (Femeena; House; Brennan, 2022), de modo que as lagoas de lemnas podem fixar três vezes mais CO₂ do que emitirem (Mohedano et al., 2019).

Sistemas que favorecem o crescimento de lemnas, assim como de microalgas, em efluentes podem compor um conceito de bioeconomia circular, onde é gerada uma biomassa de valor agregado (Femeena; House; Brennan, 2022). Na geração de biocombustível, as lemnas possuem potencial de 75 a 170 mL.g⁻¹ de produção de biohidrogênio (Nawaj Alam; Singh; Guldhe, 2021), o que pode contribuir com a descarbonização da matriz energética. Ainda, seu teor de proteína pode servir como uma alternativa às proteínas *plant-based* mais comuns (soja e ervilha) e uma opção *cruelty-free* (Xu et al., 2023), além do uso em ração animal (De Matos et al., 2014).

A partir do que foi apresentado, esse estudo tem o objetivo de avaliar o potencial de lagoas de lemnas para recuperação de nutrientes em efluente doméstico e produção de uma biomassa proteica, como uma alternativa de polimento de efluente e fonte de alimento. De modo que a pesquisa se justifica na falta de estudos que: i) integram o uso de lemnas para polimento de efluentes e a extração de proteína de sua biomassa; ii) utilizam a espécie *Landoltia punctata*

para extração de proteína, e, ainda: iii) avaliam a lagoa de lemnas como polimento de efluente doméstico de *Wetland* Construído.

Esse estudo está relacionado positivamente com as metas dos ODS da Organização das Nações Unidas (UN, 2015): ODS-2) combater a fome e fomentar a agricultura sustentável através da extração de uma proteína alternativa e uso de efluentes como fonte de recursos. ODS-6) garantir a disponibilidade e gerenciamento sustentável da água e saneamento por meio da recuperação de nutrientes que seriam despejados nos corpos hídricos. ODS-8) promover um crescimento econômico sustentável e equilibrado a partir da promoção da eficiência de consumo de recursos e diminuição da degradação ambiental. ODS-12) diminuir a geração de resíduos através do reciclo de nutrientes e garantia de padrões de produção sustentáveis. ODS-14) conservar a vida marinha através da diminuição da poluição por nutrientes que são despejados nos cursos d'água e desaguam em mares e oceanos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial de produção de uma biomassa proteica e sua segurança sanitária, utilizando nutrientes recuperados a partir do polimento de efluente doméstico desempenhado por uma lagoa de lemnas (*Landoltia punctata*).

1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar a eficiência de lagoas de lemnas no polimento de efluente doméstico e na recuperação de nutrientes.
- Verificar a recuperação de proteínas da biomassa de lemnas, por meio de extração e as propriedades do produto extraído.
- Analisar a viabilidade sanitária da utilização da biomassa de lemnas obtida durante o polimento de efluente para alimentação humana.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PROBLEMÁTICA

O crescimento populacional provoca reações nos recursos hídricos, onde ocorre o aumento de nutrientes provenientes do despejo de efluente e escoamento superficial (Pereira; Mulligan, 2023), que fazem disto o principal problema na qualidade das águas (Suresh et al., 2023). A presença em excesso desses poluentes nos corpos d'água leva a eutrofização (Pereira; Mulligan, 2023), de modo que Pannard et al. (2024) sugerem o uso do termo *poluição por nutrientes* como uma forma de comunicação social melhor que a definição científica do processo. Todavia, o termo *eutrofização* vai além: é utilizado para definir o efeito causado pela presença de nutrientes em excesso nos corpos hídricos, que leva à proliferação de algas e fitoplânctons, e provoca a perda da qualidade da água para uso e papel ecológico (Suresh et al., 2023), assim como a diminuição de oxigênio disponível para outros organismos (EPA, 2021).

2.1.1 Tratamento de efluentes e a recuperação de recursos

Em muitas bacias hidrográficas, a emissão de nutrientes nos corpos d'água ocorre em estações de tratamento de efluentes, de modo que melhorar as unidades existentes pode resultar no aumento de custo e da liberação de gases do efeito estufa (EPA, 2021). Todavia, é necessário adotar sistemas terciários que removam esses poluentes (Pereira; Mulligan, 2023), já que um dos efeitos da eutrofização é a proliferação de algas nocivas, e isso eleva o custo de tratamento de água devido à presença de toxinas liberadas (EPA, 2021).

A remoção biológica de fósforo resulta na geração de um lodo, que necessita de um sistema paralelo de recuperação desse nutriente (Di Capua et al., 2022) e é atrativo pela alta concentração de recurso (Chrispim; Scholz; Nolasco, 2019). Apesar disso, existe um esforço em desenvolver pesquisas que recuperam o fósforo no contexto de uma economia circular (Di Capua et al., 2022), onde recursos necessários para o cultivo de plantas são removidos do efluente sanitário e reutilizados na agricultura (Magwaza et al., 2020). A recuperação de recursos de efluentes tem se tornado atrativa pelo aumento da demanda de fósforo e o rótulo de sustentabilidade como uma ferramenta de marketing verde (Chrispim; Scholz; Nolasco, 2019).

2.1.2 Fertilizantes e a escassez de recursos

Principal nutriente causador da eutrofização (EPA, 2021), o fósforo é um nutriente de origem não renovável, e a produção de fertilizantes é dependente dos países detentores dessas jazidas, como é o caso da Rússia (FAO, 2023). Os conflitos políticos vivenciados por Rússia e Ucrânia influenciam diretamente o preço de mercado desse produto (FAO, 2023). A dependência político-econômica na produção de fertilizantes e a poluição por nutrientes causada por esse produto são, de certa forma, contraditórias, já que um recurso finito é despejado em corpos hídricos quando poderia ser aproveitado. Os fertilizantes, bem como os dejetos de animais, são as principais fontes de poluentes provenientes da agropecuária (EPA, [s.d.]).

O consumo de alimentos proteicos é responsável, significativamente, pelo despejo de nitrogênio e fósforo nos corpos hídricos, por meio de fezes e excretas humanas (Suresh et al., 2023). Mas seu impacto ambiental já ocorre na produção. Líder de mercado, o gado consome mais de 75% das terras agrícolas como pastagens e na produção de ração (UNEP, 2021), de modo que 72% da soja produzida no Brasil é utilizada como farelo bovino (Hirakuri; Lazzarotto, 2014). Apesar da produção de soja consumir nove vezes menos água que a produção de carne bovina, segundo o *Water Footprint Calculator* (watercalculator.org), o uso dessa oleaginosa como uma proteína alternativa é prejudicado pelo próprio mercado de carnes que o utiliza como instrumento de engorda.

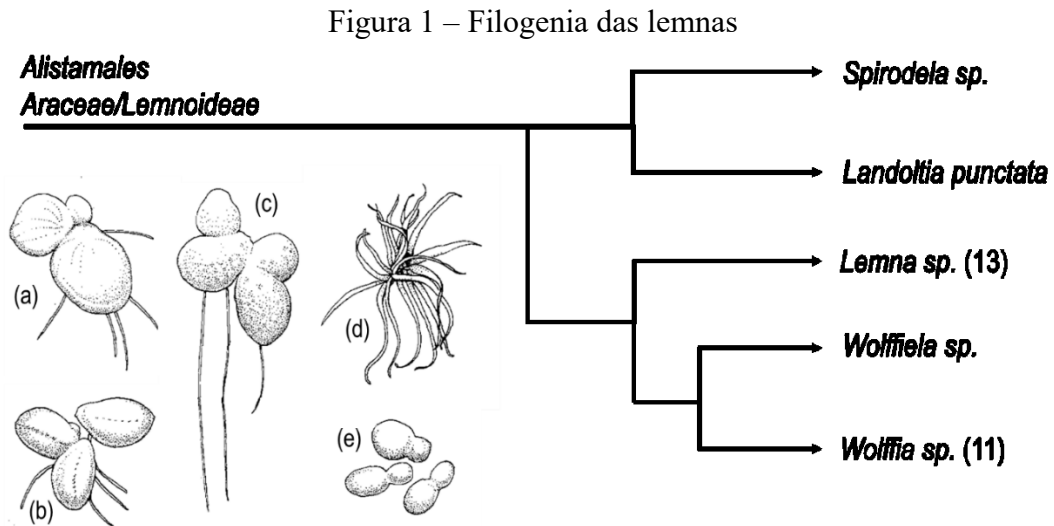
Dessa forma, as lemnas podem ser uma alternativa de recuperação de nutrientes e produção de alimentos, devido a sua capacidade de fitorremediação e o alto teor de proteína para alimentação humana e fibras para a ração animal. Além disso, essas plantas têm potencial de geração de biocombustíveis e sequestro de gás carbônico, que contribui para um sistema de economia circular. A seguir, serão discutidos esses itens.

2.2 AS LEMNAS

2.2.1 Aspectos gerais e biologia

As plantas geralmente conhecidas como lemnas, compõem um grupo pertencente à subfamília Lemnoideae, família Araceae. A subfamília Lemnoideae está representada por cinco gêneros, sendo eles: Spirodela, Lemna, Landoltia, Wolffia, e Wolffia (APG 2017) conforme apresentado na Figura 1. Como nomenclatura popular, o termo *lentilha d'água* é bastante

difundido em português, já para a língua inglesa, o termo mais utilizado para referenciar este grupo botânico é *duckweed*, ou *watermeal* no caso das plantas do gênero *Wolffia*. Todavia, o termo *lemna* é também utilizado para referenciar o grupo, apesar de ser o nome de um de seus gêneros.



Nota: a) *Spirodela* sp. b) *Landoltia punctata* c) *Lemna* sp. d) *Wolffiella* sp. e) *Wolffia* sp.

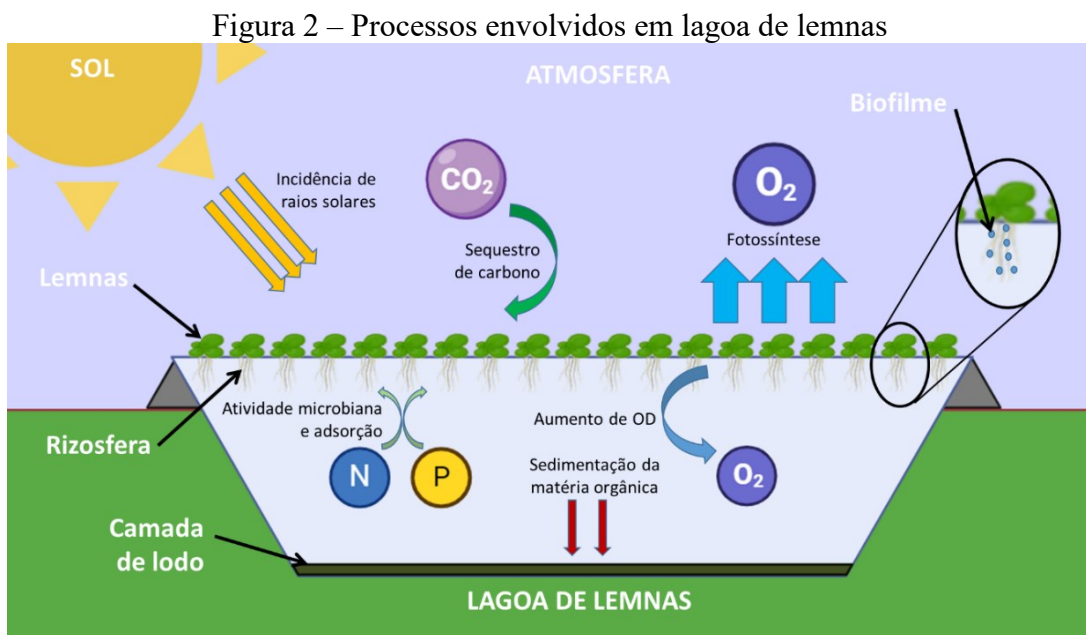
Fonte: Adaptado de Les, Landolt e Crawford (1997).

As lemnas são plantas aquáticas de flutuação livre estruturadas em forma de frondes (junção de folha e caule) e raízes, cujas quantidades dependem da espécie (Cao; Fourounjian; Wang, 2020). *Wolffiella* e *Wolffia* não possuem raiz, enquanto que *Lemna* possui uma raiz por fronde, e a *Landoltia* e *Spirodela* são compostas por agrupamentos de vários frondes e raízes (Cao; Fourounjian; Wang, 2020). Além disso, as lemnas são as menores plantas florescentes conhecidas e seu tamanho diminuto pode servir para aderir em animais, o que proporciona uma dispersão entre territórios (Cao; Fourounjian; Wang, 2020), e, em unidades de cultivo de lemnas, devem ser tomadas medidas mitigatórias para evitar a propagação indesejada dessas plantas (Ceschin; Crescenzi; Iannelli, 2020).

Largamente encontradas em ambientes lânticos, as lemnas servem como fonte de alimento para muitos organismos presentes nesses ecossistemas (Zhao et al., 2015), ao mesmo tempo que impedem que outros cresçam devido a sua necessidade de nutrientes e luz. Essas plantas podem se duplicar dentro de dois a três dias sob condições ótimas de cultivo (Xu et al., 2023), de modo que sua reprodução predominantemente assexuada e a facilidade de cultivo em laboratório fazem das lemnas um bioindicador utilizado em estudos de toxicologia (Zhao et al., 2015).

2.3 LAGOAS DE LEMNAS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES

As lagoas de lemnas, representadas na Figura 2, podem ser aplicadas para tratamento de efluentes de diversas origens, mas, quanto à etapa, são predominantemente empregadas para a remoção de nutrientes. O uso dessa configuração de tratamento se dá pelo rápido crescimento das lemnas, sua capacidade de acumular nutrientes e facilidade de colheita da biomassa (Caicedo Bejarano, 2005) além dessas plantas tolerarem variações de temperatura e pH do efluente (Femeena; House; Brennan, 2022).



Fonte: O autor (2025).

2.3.1 Mecanismos de remoção de nitrogênio

Em uma lagoa de lemnas, o principal mecanismo de remoção de nutrientes é a acumulação nas plantas (Teles et al., 2017). As lemnas absorvem nitrogênio, seja na forma de nitrato ou N-amoniacal, e o armazenam internamente na forma de compostos orgânicos (Pasos-Panqueva; Baker; Camargo-Valero, 2024), o que permite que essas macrófitas continuem a crescer após a diminuição da concentração de nitrogênio no efluente (Cheng; Stomp, 2009). Apesar de toda a estrutura da lemna colaborar para a absorção (Caicedo Bejarano, 2005), as raízes são a principal via quando na escassez de nutrientes (López-Pozo; Adams; Demmig-Adams, 2023). Além disso, as raízes também podem servir como superfície para a fixação de micro-organismos e a formação de um biofilme.

Semelhante ao que ocorre nos sistemas biológicos convencionais, os micro-organismos presentes na lagoa de lemnas também desempenham função na remoção de nitrogênio (Zhou et al., 2023). O nitrogênio orgânico é biodegradado por micro-organismos, que liberam N-amoniaco (Caicedo Bejarano, 2005). Então, parte do N-amoniaco é metabolizado pelas lemnas, enquanto outra parte é oxidada pelas bactérias nitrificantes e ocorre a formação de nitrito e, na sequência, de nitrato (Caicedo Bejarano, 2005). O aumento da disponibilidade de oxigênio no efluente, provocada pela fotossíntese das lemnas, pode inibir a atividade de bactérias desnitrificantes (Caicedo Bejarano, 2005), mas isso pode ser compensado pela absorção de nitrato pelas lemnas (Teles et al., 2017).

Apesar de ser um importante nutriente para as lemnas, em elevadas concentrações o N-amoniaco pode representar toxicidade para o seu crescimento (Pasos-Panqueva; Baker; Camargo-Valero, 2024), principalmente na sua forma não ionizada (NH_3) (Caicedo Bejarano, 2005). Devido ao pH interferir na relação entre NH_4^+ e NH_3 , avaliar a toxicidade individual de cada um deles pode ser inviável (Körner et al., 2001). Körner et al. (2001) concluíram que concentrações de NH_3 no efluente maiores que 1 mg.L^{-1} tornam a toxicidade de NH_4^+ desconsiderável para a espécie *L. gibba*. Além disso, valores de pH entre 6,9 e 8,7 podem afetar apenas relação entre NH_3 e NH_4^+ , sem interferir no crescimento dessa espécie (Körner et al., 2001), enquanto que o pH acima de 8,1 pode favorecer a volatilização da amônia (Körner; Vermaat, 1998).

2.3.2 Mecanismo de remoção de fósforo

Assim como o nitrogênio, o fósforo é um importante nutriente para o crescimento das plantas, e é a partir dele que ocorre a síntese da adenosina trifosfato (ATP), que serve como energia para diversas reações intracelulares (Pasos-Panqueva; Baker; Camargo-Valero, 2024). Através da absorção, algumas espécies de lemnas podem acumular diversas formas de fosfato como reserva de fósforo, por exemplo a *L. punctata* que armazena fósforo em seus vacúolos (Thingujam; Pajerowska-Mukhtar; Mukhtar, 2024).

As bactérias fixadas nas raízes das lemnas também podem absorver fósforo, assim como pode ocorrer a precipitação e sedimentação desse nutriente no interior das lagoas (Körner; Vermaat, 1998). Entretanto, esses mecanismos são responsáveis por, em média, um quarto da eficiência do sistema (Körner; Vermaat, 1998), o que faz das lemnas a principal via de remoção. O fósforo absorvido pelas lemnas é altamente solúvel, de modo que a morte dessas macrófitas pode levar à liberação desse nutriente na lagoa (Roman; Brennan, 2019) e afetar a eficiência do

sistema. Isso faz necessário que seja realizada a remoção da biomassa e, com ela, a retirada dos nutrientes metabolizados.

2.3.3 Mecanismos de remoção de matéria orgânica

A remoção de DQO (Demanda Química de Oxigênio) em lagoas de lemnas ocorre, majoritariamente, pela atividade microbiológica, onde os organismos aeróbios heterótrofos fixados nas raízes das plantas degradam a matéria orgânica (Al-Nozaily; Alaerts; Veenstra, 2000; Dinh et al., 2020), tal qual auxiliam na remoção de nutrientes. Em condição de carga de DQO inferior a $800 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, o oxigênio fornecido pelas lemnas supre a demanda microbiológica, já que as substâncias consumidoras de oxigênio tendem a estar completamente oxidadas (Al-Nozaily; Alaerts; Veenstra, 2000). Essa atividade pode justificar a utilização das lagoas de lemnas como polimento de efluente, bem como dispensar o uso de um sistema de aeração.

Apesar da degradação direta de matéria orgânica desempenhada pelas lemnas ser mínima (Al-Nozaily; Alaerts; Veenstra, 2000; Körner; Lyatuu; Vermaat, 1998), essas plantas exercem um importante papel na remoção de DQO. Quando comparadas a condições artificiais de disponibilização de oxigênio e de fornecimento de uma superfície de fixação, a presença de lemnas favorece a atividade microbiana (Körner; Lyatuu; Vermaat, 1998).

2.3.4 Eficiência de remoção de nutrientes em efluente doméstico

Na Tabela 1 são apresentadas as eficiências de remoção de alguns parâmetros em lagoas de lemnas utilizadas para polimento de efluente doméstico. Como pode ser observado, a eficiência de remoção de DQO em lagoas de lemnas pode variar entre 36,5 e 79 %, de modo que a eficiência global de remoção desse parâmetro no sistema de tratamento pode ser ainda maior. A pesquisa desenvolvida por Tonon et al. (2017) demonstrou uma eficiência de 92,1 e 93,6 % de remoção de nitrogênio e fósforo totais, respectivamente, no polimento de efluente doméstico com lagoa de lemnas (*Landoltia punctata*) em escala piloto. Ainda, a concentração de nutrientes no efluente final desse estudo foi de 4,5 e 0,2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de nitrogênio e fósforo totais, respectivamente. Por outro lado, em estudo semelhante, De Matos et al. (2014) obtiveram eficiência de 30,8 e 28,7 % de remoção de N-amoniaco e fosfato, respectivamente, mas destacam que um aumento no tempo de detenção ou melhora do período de colheita deveriam ser estudados. Como pode ser observado na Tabela 1, os experimentos que obtiveram as maiores eficiências de remoção de nutrientes foram os que utilizaram os maiores TDH.

Tabela 1 – Eficiência do tratamento de efluente doméstico em lagoas de lemnas.

Espécie	Sistema de Tratamento Afluente	TDH (dias)	Eficiência (%)			Referência
			NT	PT	DQO	
<i>L. punctata</i>	Condomínio residencial com sistema de tratamento não especificado	25	92,1	93,6	70,6	(Tonon et al., 2017)
		34	91,1	92,7	67,0	(Teles et al., 2017)
		34	92,6	84,0	79,0	(Mohedano et al., 2019)
<i>L. valdiviana</i>	1 lagoa anaeróbia e 3 lagoas facultativas em série	04	19,9	28,7	36,5	(De Matos et al., 2014)
<i>L. minor</i>	1 lagoa anaeróbia e 2 lagoas facultativas em série	07	58	57	63	(Akowanou et al., 2023)
<i>L. gibba</i>	Tanque de sedimentação	03	63	65	54	(Al-Hashimi; Joda, 2010)

Nota: ¹ Muller, Bernier e Bazinet (2023); ² Nawaj Alam, Singh e Guldhe (2021)

Fonte: O autor (2025).

Comparar a eficiência de remoção desses nutrientes entre estudos distintos pode ser difícil, devido a condições como tempo de detenção hidráulica, profundidade da lagoa, concentrações iniciais e finais do nutriente, densidade e colheita das lemnas (Körner; Vermaat, 1998).

2.3.5 Aspectos de engenharia

As unidades de cultivo de lemnas são comumente construídas como lagoas escavadas, impermeabilizadas com geomembranas, onde as macrófitas inoculadas se distribuem horizontalmente na superfície. A profundidade útil das lagoas de lemnas pode variar de 40 a 90 cm (De Matos et al., 2014; Mohedano et al., 2014), devido às lemnas serem macrófitas flutuantes com raízes que captam os nutrientes presentes nas camadas superficiais da água. Em grandes profundidades, os nutrientes podem ficar indisponíveis e se criar uma zona anaeróbia, que pode levar a formação de odores.

Semelhante às lagoas de estabilização, as lagoas de lemnas podem assumir os modelos hidráulicos de regime em série, paralelo, fluxo-pistão e fluxo disperso (Caicedo Bejarano, 2005). Já os modelos de mistura completa não são adotados por não manterem uma superfície estável. Em termos de adsorção de nutrientes, as lagoas de fluxo pistão são as mais eficientes, devido ao caminho percorrido pelos nutrientes e as raízes das plantas.

Quanto às dimensões horizontais, as lagoas de lemnas devem ser construídas de forma a reduzir a ação do vento em suas superfícies, com uma relação largura-comprimento que pode ser maior que 1:3 em escala real. Um mecanismo para diminuir a ação do vento é adoção de

estruturas flutuantes, como de bambu utilizada por Mohedano et al. (2014), que previne as lemnas de serem arrastadas pelo vento sem que limite o fluxo de nutrientes.

Em lagoas de lemnas, a carga de nutrientes determina a vazão a ser aplicada, para uma área conhecida, já que esta é a dimensão limitante. Assim, a vazão pode ser obtida pela Equação 1.

$$Q = \frac{V}{TDH} = \frac{\lambda_s * A}{10 * C_0} \quad (1)$$

Q = vazão a ser aplicada (m³.dia⁻¹)

λ_s = carga de aplicação superficial (kg.(ha.d)⁻¹)

V = volume útil (m³)

TDH = tempo de detenção hidráulica (dias)

A = área da lagoa (m²)

C₀ = concentração do nutriente (mg.L⁻¹)

Recomenda-se que o valor máximo da carga de aplicação seja de 50 kg.(ha.d)⁻¹ de N-amoniacal (Mohedano et al., 2012a), mas o valor mais adotado para λ_s é a metade do mencionado, como em Teles et al. (2017) e Tonon et al. (2017). Quanto à concentração desse nutriente, um valor maior que 60 mg.L⁻¹ na lagoa pode ser tóxico para as plantas (Femeena; House; Brennan, 2022).

O tempo de detenção hidráulica do efluente nas lagoas de lemnas pode variar entre 15 a 20 dias (Femeena; House; Brennan, 2022), de modo que um TDH maior aumenta a área da lagoa, que pode aumentar o custo, assim como um TDH menor pode diminuir a capacidade de recuperação dos nutrientes.

2.4 LEMNAS COMO ALIMENTO PROTEICO

2.4.1 Características nutricionais das lemnas

O potencial das lemnas como fonte de proteína as tornam atrativas para consumo humano e animal, apesar de ser necessário pesquisar propriedades funcionais dos extratos e sua palatabilidade (Xu et al., 2023). As lemnas também servem como fonte de ferro e vitamina B12, bem como são utilizadas para ração de bovinos, suínos, peixes e frango (Baek; Saeed; Choi, 2021). Na Tabela 2 são apresentados os componentes nutricionais das lemnas em geral, de modo que esses valores podem variar de acordo com a espécie e o cultivo.

Tabela 2 – Componentes macronutrientes das lemnas.

Nutriente	Descrição	Teor na biomassa seca
Proteína	Apresenta todos os aminoácidos essenciais, com exceção do triptofano para algumas espécies.	16-41,7%
Carboidrato	Majoritariamente representado por amido.	17,6-35%
Fibra alimentar ¹	Celulose, hemicelulose, pectina.	8-47%
Parede celular ²	Celulose (26-30%), hemicelulose (~24%), lignina (1,5-1,8%)	-
Lipídios	Ácido palmítico, ácido linoleico (ômega 6) e ácidos alfa e gama linolênicos (ômega 3 e 6, respectivamente).	3,4-9%
Cinzas e minerais	Sódio, potássio, cálcio e ferro.	3,5-26%
Fitoquímicos e vitaminas	Luteína, betacaroteno, zeaxantina, alfa-tocoferol (vitamina E) e vitamina B12.	-

Nota: ¹ Muller, Bernier e Bazinet (2023); ² Nawaj Alam, Singh e Guldhe (2021)

Fonte: Adaptado de XU et al. (2023).

Devido à capacidade de acumulação de amido, as lemnas podem ser aplicadas na produção de bioetanol, com rendimento de $6,42 \cdot 10^3 \text{ L} \cdot \text{ha}^{-1}$ (Baek; Saeed; Choi, 2021). Seu teor de proteína (TP) pode chegar a 45% da biomassa seca, como será discutido no tópico **2.4.2 - Teor de proteína na biomassa de lemna**, o que favorece o uso como alimento. Mais a fundo, as lemnas também são estudadas na extração de metabólitos de secundários, como compostos fenólicos e carotenoides utilizados na indústria farmacêutica (Baek; Saeed; Choi, 2021). Esses subprodutos são influenciados pelo meio de cultura em que as lemnas são cultivadas.

A alimentação de nutrientes no cultivo de lemnas em meio sintético pode ser regida pelas recomendações da Organização pela Cooperação Econômica e Desenvolvimento – *Organization for Economic Co-Operation and Development* (OECD, 2002), assim como a solução *Hoagland* (Baek; Saeed; Choi, 2021; Tao et al., 2017), meio de cultura *Schenk* e *Hildebrandt* (Baek; Saeed; Choi, 2021), entre outros. Por outro lado, os nutrientes presentes no efluente terciário fazem deste uma opção sustentável para suprir a necessidade de nitrogênio e fósforo para crescimento das lemnas.

2.4.2 Teor de proteína na biomassa de lemna

As lemnas têm sido estudadas no tratamento de efluentes devido à sua facilidade de manejo e capacidade de conversão do nitrogênio em biomassa proteica. Na Tabela 3 são descritas as espécies, o percentual de proteína em base seca e o tipo de efluente de acordo com os estudos realizados nos últimos quinze anos que relacionaram o cultivo de lemna e efluentes/dejetos como fonte de nutrientes.

Tabela 3 – Teor de proteína bruta na biomassa seca de lemnas.

Espécie	Estudo	Teor	Referência
<i>L. gibba</i>	Uso de uma lagoa de lemnas em escala piloto para tratamento de um efluente industrial (poliéster) para remoção de 1,4-dioxano.	35,8%	(Osama et al., 2020)
<i>L. japonica</i>	Efeitos da presença de sedimentos em uma lagoa de lemnas para tratamento de efluente rural.	30%	(Tu et al., 2021)
	Comparação entre lemnas e aguapé no tratamento de efluente doméstico e de agricultura em escala piloto.	36%	(Zhao et al., 2014a)
<i>L. minor</i>	Tratamento de efluente da piscicultura em escala piloto com uma lagoa de lemnas.	25,3%	(Paolacci et al., 2022)
	Uso de uma lagoa de lemnas para tratamento de efluente da piscicultura e produção de ração para peixes.	30%	(Heitzman et al., 2024)
	Lemnas cultivadas em placas de petri utilizando como meio de cultura urina humana e efluente doméstico.	31,6%	(Iatrou; Stasinakis; Aloupi, 2015)
	Uso de efluente da suinocultura como fonte de nutrientes para o cultivo de lemnas em escala laboratorial.	41,7%	(Soñta et al., 2023)
	Uso de dejetos diluídos de frango como fonte de nutriente para cultivo de lemna em condições controladas.	42,8%	(Stadtlander et al., 2023)
<i>L. minuta</i>	Comparação entre espécies de macrófitas flutuantes para fitorremediação de efluente da suinocultura e produção de biomassa.	22,8%	(Coimbra et al., 2023)
	Uso de lemnas para polimento de efluente de uma biorrefinaria de uma fazenda de gado leiteiro.	36%	(Soñta et al., 2020)
<i>L. punctata</i>	Comparação entre espécies de macrófitas flutuantes para fitorremediação de efluente da suinocultura e produção de biomassa.	33,7%	(Coimbra et al., 2023)
	Lagoa de lemnas em escala real para remoção de nutrientes do efluente da suinocultura e produção de biomassa.	35%	(Mohedano et al., 2012b)
	Influência de diluições do efluente da bovinocultura na remoção de amônia e na produção de biomassa.	38%	(Stadtlander et al., 2022)
	Lagoa de lemnas em escala real para remoção de nutrientes do efluente da suinocultura.	41%	(Mohedano et al., 2012a)
<i>S. oligorrhiza</i>	Efluente da suinocultura diluído para produção de biomassa em escala laboratorial.	39,7%	(Xu; Shen, 2011)
<i>S. polyrhiza</i>	Lagoa de lemnas para fitorremediação de matéria orgânica dissolvida do efluente da suinocultura.	20,8%	(Li et al., 2017)
	Lemnas cultivadas em laboratório com efluente da suinocultura para recuperação de nutrientes e produção de biomassa.	30%	(Xu; Cheng; Stomp, 2012)
	Avaliação do cultivo de lemnas em lagoas piloto alimentadas com resíduos do óleo de mostarda, dejetos bovinos e de aves.	35,8%	(Sharma et al., 2019)
	Influência de diluições do efluente da bovinocultura na remoção de amônia e na produção de biomassa.	38%	(Stadtlander et al., 2022)
	Produção de biogás a partir da codigestão anaeróbia de lodo ativado de efluente doméstico e lemnas.	44,3%	(Gaur; Suthar, 2017)

Fonte: O autor (2025).

As espécies mais utilizadas nos estudos encontrados são a *L. minor*, a *S. polyrhiza* e a *L. punctata*. Os teores de proteína bruta na biomassa seca variaram entre 20,8 % e 44,3%, e estudos envolvendo a suíno e bovinocultura representaram a maioria.

Dentre os estudos encontrados, Gaur e Suthar (2017) obtiveram o maior percentual de proteína bruta em lemnas (*S. polyrhiza*), 44,3 % da matéria seca. Com uma concentração inicial de nitrato de 42,9 mg.L⁻¹ no efluente, as lemnas utilizadas nesse estudo foram capazes de remover 76,5 % desse nutriente, assim como de ortofosfato (Gaur; Suthar, 2017). A presença desses nutrientes, assim como o sulfato, desencadeia a biossíntese de compostos como carboidrato, amido e proteína (Gaur; Suthar, 2017).

Em estudo utilizando efluentes diluídos como fonte de nutrientes, Soíta et al. (2023) avaliaram a produção de *L. minor* em efluentes da suinocultura e obtiveram 41,7 % de proteína bruta para uma diluição de 1,5% v/v. Nesse mesmo sentido, Stadlander et al. (2023) obtiveram o maior percentual de proteína (42,80 %) em *L. minor* ao utilizar uma diluição de 1:16 m/v de dejetos de frangos, apesar de destacarem que sejam encontradas taxas de produção de biomassa maiores do que as atingidas em sua pesquisa. Assim, os resultados obtidos em ambos os estudos corroboram na viabilidade do uso de efluentes como fonte de nitrogênio, de modo a produzirem uma biomassa com alto teor proteico e diminuir a emissão de óxido nitroso.

Em se tratando de efluente da suinocultura, Mohedano et al. (2012b) obtiveram uma biomassa com 41 % de proteína ao cultivar lemnas (*L. punctata*) em duas lagoas para polimento de efluente de um biodigestor e uma lagoa de estabilização em escala real. Os autores destacam a tolerância da espécie utilizada às altas concentrações de N-amoniaco (182 mg.L⁻¹) presente no efluente (Mohedano et al., 2012a). Além disso, o estudo obteve uma produtividade de proteína bruta 20 vezes superior à de proteína da soja (Mohedano et al., 2012a). Por outro lado, os efluentes da suinocultura podem apresentar variação na sua composição, que pode ser influenciada pela quantidade e idade de rebanho, bem como dieta e água utilizadas na criação dos animais, e que resultam na oscilação da composição proteica da biomassa de até quatro vezes menor que o valor máximo mencionado (Mohedano et al., 2012a).

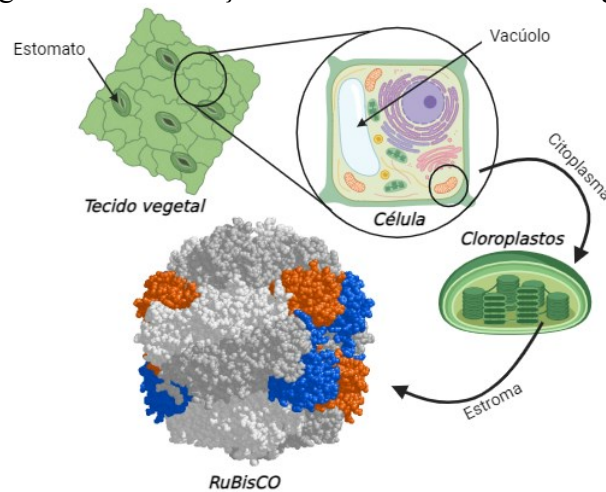
O baixo teor proteico obtido por Li et al. (2017) pode ser justificado pela baixa concentração de N-amoniaco no efluente, de modo que a *S. polyrhiza* utilizada no estudo apresentou percentual de proteína (18,3%) ainda menor do que o destacado na Tabela 3 (20,8%). Esses resultados expressam a interferência do meio de cultura das lemnas na sua composição centesimal, já que essa mesma espécie foi a que apresentou o maior teor proteico relatado por Gaur e Suthar (2017).

Devido à grande quantidade de umidade, o consumo da biomassa fresca não representa aumento significativo de energia e proteína em dietas (Soñta et al., 2020). Por outro lado, a matéria seca se torna atrativa pelo baixo custo de secagem, apesar da quantidade de fibras (até 10%) limitar o consumo a seres ruminantes (Soñta et al., 2020). Para consumo humano, faz-se necessário extrair a proteína para aumentar a sua biodisponibilidade e viabilidade de aplicação em produtos alimentícios.

2.4.3 Processos de extração da proteína de lemnas

Como foi apresentado, as lemnas podem chegar a um teor de proteína de até 45% da matéria seca. Desse percentual, cerca de 50% pode ser da proteína RuBisCO (Nieuwland et al., 2021). A ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO) é uma proteína que atua como enzima na fixação de carbono na fotossíntese (Cocon; Luis, 2024), e por isso está localizada no estroma dos cloroplastos. Isso faz com que sejam necessários processos de extração dessa proteína para facilitar seu consumo, devido aos cloroplastos serem estruturas intracelulares, Figura 3.

Figura 3 – Localização da RuBisCO no tecido vegetal



Fonte: O autor (2025)

A extração de proteína pode ser realizada de diversas formas, mas, em termos de biomassa de lenha, o método convencional da extração alcalina é o mais utilizado. Na Tabela 4 estão relacionados os estudos de extração encontrados na literatura, onde é possível observar que a *L. minor* é a espécie mais utilizada.

Tabela 4 – Estudos de extração da proteína de lemnas.

Espécie	Processo de extração	Rendimento	Teor Proteico	Referência
<i>L. gibba</i>	Tratamento térmico	3,8-14,2%	56,5-67,2%	(Nieuwland et al., 2021)
<i>L. gibba</i>	Solubilização e Ultrassom	13,6-41,3%	48,6-64,5%	(Maag et al., 2025)
<i>L. minor</i>	Hidrólise enzimática e Solubilização alcalina.	15,1-60,9%	-	(Tran et al., 2021)
<i>L. minor</i>	Hidrólise enzimática, Solubilização alcalina e Ultrassom.	30-60%	0,5-3 mg/mL	(Inguanez et al., 2023)
<i>L. minor</i>	Solubilização alcalina e Ultrassom.	30%	41,3%	(Mirón-Mérida et al., 2024)
<i>L. minor</i> e <i>L. turionifera</i>	Solubilização alcalina	-	0,57-21,4%	(Kotamraju; Logan; Lens, 2024)
não especificada	Solubilização alcalina	60%	57%	(Muller; Bernier; Bazinet, 2023)
	Hidrólise enzimática.	27-80%	23-67%	(Bernier; Thibodeau; Bazinet, 2024)
<i>S. polyrhiza</i>	Ácido tricloroacético, acetona e fenol	4,6-7,3 mg/g	-	(Wang et al., 2020)
<i>W. arrhiza</i>	Solubilização alcalina e Ultrassom.	5-10%	64-66%	(Nitiwuttithorn et al., 2024)
<i>W. globosa</i>	Ultrassom seguida de Precipitação ácida.	7,97-57,2%	-	(Duangjarus et al., 2022)

Fonte: O autor (2025).

Os métodos de extração da proteína podem ser divididos em três etapas: pré-tratamento, separação e isolamento da proteína (Nieuwland et al., 2021), de modo que um método pode envolver todas ou apenas algumas dessas etapas.

2.4.3.1 Pré-tratamento da biomassa

Secagem da biomassa: A primeira técnica de pré-tratamento é a secagem da biomassa. De acordo com a *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD, 2002), o peso seco é definido como aquele que é obtido após secagem a 60 °C e atingida a massa constante. Nitiwuttithorn et al. (2024) secaram a biomassa na temperatura de 53 °C durante 15 h para fazer a extração, enquanto Mohedano et al. (2012a) secaram a 55 °C durante 24 h para avaliar a composição centesimal. Em estudo comparando diferentes tempos e temperaturas de secagem, Prosrídee et al. (2023) obtiveram uma umidade de 2,1 % na biomassa após 6 h de secagem a 50 °C, de modo que aumentar o tempo e temperatura reflete no consumo de energia e custo do processo. A influência desse pré-tratamento na extração da proteína é apresentada em Nitiwuttithorn et al. (2024), no qual a extração a partir da biomassa

fresca teve rendimento maior que o pó de lemna, e esse resultado é justificado pela diminuição da capacidade de absorção de água pela matéria seca, apesar da concentração no extrato final não apresentar diferença significativa.

Trituração da biomassa: A trituração da biomassa também pode refletir na extração da proteína, em que o pó de lemna tem rendimento maior do que da lemna seca não triturada, devido ao aumento da área de contato entre a biomassa e a solução de extração (Nitiwuttithorn et al., 2024), assim como a não trituração pode resultar em um extrato não-funcional (Nieuwland et al., 2021). Nesse sentido, Kotamraju, Logan e Lens (2024) utilizaram a lemna fresca moída sem tamanho definido pelo *mesh* da peneira, enquanto Muller, Bernier e Bazinet (2023) utilizaram a lemna em pó adquirida de um fornecedor, também sem *mesh* conhecido. Por outro lado, Duangjarus et al. (2022) utilizaram partículas menores que 1 mm, e Nitiwuttithorn et al. (2024) utilizaram partículas de 250 μm .

Ultrassom: Como uma terceira opção de pré-tratamento, Nitiwuttithorn et al. (2024) avaliaram a influência do uso de ultrassom seguido pela extração alcalina, que resultou no dobro do rendimento de proteína. Apesar disso, a composição proteica do extrato obtido com ultrassom foi menor do que a extração alcalina convencional, com diferença de oito pontos percentuais (Nitiwuttithorn et al., 2024). Um resultado observado no uso de ultrassom como pré-tratamento é a diminuição do tamanho das partículas do extrato, que pode refletir positivamente na aplicação desse produto em alimentos (Nitiwuttithorn et al., 2024).

2.4.3.2 Separação da proteína

Solubilização: A maior solubilização da proteína ocorre em pH alcalino, onde são quebradas as interações entre íons de hidrogênio, carbono e sulfato para se obter uma proteína de compostos alimentares (Mirón-Mérida et al., 2024). Isso faz da solubilização alcalina o procedimento mais utilizado na extração de proteína de lemnas, como apresentado na Tabela 4. Muller, Bernier e Bazinet (2023) concluíram que pH próximo de 11 apresenta a melhor solubilização da proteína. Nesse mesmo sentido, em uma extração alcalina auxiliada por ultrassom, Mirón-Mérida et al. (2024) obtiveram o ponto ótimo de solubilização em pH de 11,5. Entretanto, vale ressaltar que, para obter valores extremos de pH, é necessário adicionar uma maior quantidade de ácido/base, o que gera um aumento no consumo de reagentes e pode afetar a funcionalidade da proteína.

A solubilização alcalina é um procedimento fácil e barato de ser transferido do nível de bancada ao industrial (Tran et al., 2021), porém, envolve o consumo de reagentes e geração

de resíduos. Desse modo, tem se pesquisado cada vez mais tecnologias emergentes *eco-friendly* para a recuperação de proteínas vegetais como alternativas sustentáveis e de menor impacto ambiental (Teixeira et al., 2024b).

Hidrólise enzimática: Como apresentado na Tabela 4, foram encontrados três estudos realizados a partir da hidrólise enzimática, nos quais foram utilizadas as enzimas pepsina, tripsina, α -quimotripsina, alcalase, *flavourzyme*, papaína e celulase (Bernier; Thibodeau; Bazinet, 2024; Inguanez et al., 2023; Tran et al., 2021).

Assim como a solubilização alcalina, a hidrólise enzimática também envolve o controle de temperatura e pH ótimos, que dependem da enzima utilizada, e essa etapa é denominada de incubação. Bernier, Thibodeau e Bazinet (2024) utilizaram a menor temperatura de incubação, equivalente à 37 °C. Apesar disso, essa temperatura pode variar entre 50 °C e 60 °C (Inguanez et al., 2023; Tran et al., 2021). Referente à inativação da enzima, que procede a incubação, a temperatura utilizada é geralmente entre 85 °C e 90 °C (Bernier; Thibodeau; Bazinet, 2024; Inguanez et al., 2023). Esse aquecimento pode refletir na desnaturação da proteína obtida e afetar suas propriedades tecno-funcionais e nutricionais.

A eficiência do processo enzimático pode variar conforme a enzima utilizada. Em experimento realizado com a celulase, Inguanez et al. (2023) obtiveram um rendimento inferior à extração realizada com água pura, e justificaram esse resultado devido à insolubilidade do sobrenadante extraído. Por outro lado, Tran et al. (2021) utilizaram a alcalase e a *flavourzyme* e obtiveram rendimento cinco vezes maior que a extração alcalina, de modo que o resultado pode estar relacionado com a interação enzima-parede celular.

2.4.3.3 Isolamento da proteína

A última etapa da extração é a obtenção da proteína isolada. Dentre os estudos apontados na Tabela 4, o método de secagem mais utilizado para obter um concentrado proteico é a liofilização, exceto Wang et al. (2020), que utilizou secagem em estufa. Antes de efetuar a secagem, Nieuwland et al. (2021) realizaram três etapas de filtração: microfiltração em membrana de 0.45 μ m, seguida de ultrafiltração e diafiltração, que removeram matéria verde residual, micro-organismos, sais e fenóis. Nitiwuttithorn et al. (2024) foram os únicos a especificar as condições de secagem, os quais utilizaram temperatura de -30 °C com uma pressão a vácuo de 20 Pa durante 30 h, e obtiveram um concentrado com 5 % de umidade. Já Muller, Bernier e Bazinet (2023) realizaram a purificação do produto obtido após a solubilização alcalina através da precipitação pelo ponto isoelétrico, com alteração do pH após

a etapa da solubilização para 4.

Além dos procedimentos descritos nos subitens anteriores, diferentes tecnologias emergentes de extração podem ser exploradas como alternativas sustentáveis e eficientes para obtenção de proteína de leguminosas, como a extração por fluido subcrítico (Sulaiman et al., 2025) e extração assistida por micro-ondas. Até então, não foram encontrados estudos que utilizem essa técnica para extração de proteína de leguminosas. Porém, essa técnica tem sido utilizada para extração da proteína do feijão e da cevada (González-García; Marina; García, 2021; Teixeira et al., 2024a, 2024b).

2.4.4 Propriedades tecno-funcionais da proteína

Uma forma de aplicar os concentrados proteicos obtidos do processo de extração é através da avaliação das propriedades tecno-funcionais desse produto. Entre as propriedades, citam-se: solubilidade, capacidade e estabilidade de emulsificação, capacidade de formação de espuma e formação de gel (Duangjarus et al., 2022; Mirón-Mérida et al., 2024; Muller; Bernier; Bazinet, 2023; Nieuwland et al., 2021; Nitiwuttithorn et al., 2024).

2.4.4.1 Solubilidade

A solubilidade da proteína está relacionada com os agrupamentos polares e apolares que a formam, e geralmente associada a solventes fortemente polares, como a água (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009). Além do solvente, o seu pH e a concentração de sais também influenciam na solubilidade da proteína (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009).

Como já foi apresentado, o pH alcalino colabora com o aumento da solubilidade da proteína de leguminosas (Duangjarus et al., 2022; Nitiwuttithorn et al., 2024), mas é comum a neutralização do pH de concentrados proteicos *plant-based* para aplicação em alimentos (Muller; Bernier; Bazinet, 2023). Estudos relataram que a proteína extraída de leguminosas teve entre 70 e 80% de solubilidade em pH neutro (Duangjarus et al., 2022; Nitiwuttithorn et al., 2024).

2.4.4.2 Capacidade de emulsificação

Emulsificantes são compostos que favorecem a dispersão em sistemas formados por fluidos imiscíveis, como água e óleo, e permitem que permaneçam dispersos (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009). As proteínas são largamente utilizadas com essa finalidade na indústria de

alimentos, e essa característica é influenciada pelo agrupamento de aminoácidos que as compõem e o pH (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009).

Em comparação à proteína do leite, a capacidade de emulsificação da proteína de lemnas é inferior em pH maior que 6, de modo que a primeira proteína atinge valores acima de 90 % de emulsificação, enquanto a segunda fica entorno de 70 % (Duangjarus et al., 2022). Por outro lado, a estabilidade de emulsão da proteína de lemnas é melhor que a do leite, e não apresenta variações significativas com a mudança de pH (Duangjarus et al., 2022). Além disso, o pré-tratamento com ultrassom pode refletir positivamente na estabilidade da emulsão devido ao desdobramento da estrutura da proteína de lemna, e ao aumento da interação superficial que isso provoca (Mirón-Mérida et al., 2024).

2.4.4.3 Capacidade de formação de espuma

Espuma é a dispersão de gases em líquidos, e está relacionada com a adsorção de moléculas de proteínas em interfaces de vias hidrofóbicas, assim como a capacidade de desnaturação (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009). Geralmente, essa propriedade da proteína é favorecida quando se tem baixo peso molecular, hidrofobicidade superficial alta e boa solubilidade, entre outros (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009).

As proteínas de lemnas dissolvidas podem apresentar melhor capacidade de espuma até mesmo que a proteína de ovo, com aumento de volume de 278% em concentração de 1,8% e independente do pH (Muller; Bernier; Bazinet, 2023). Em contrapartida, a estabilidade dessa propriedade é menor quando comparada à proteína do ovo, mas pode estar relacionada à concentração de proteína na solução (Muller; Bernier; Bazinet, 2023).

2.4.4.4 Formação de gel

O gel é um sistema disperso formado por dois ou mais componentes, no qual uma fase do dispersante forma algo coeso, além de ser caracterizado pela falta de fluidez e deformabilidade elástica (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009). A gelificação pode ser influenciada pelo pH, a temperatura e a presença de sais na solução, bem como a concentração proteica (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009).

Medida pelo módulo de elasticidade, que é influenciado pela viscosidade, a capacidade de gelificação da proteína de lemnas pode ser um substituto para a proteína de ovo em condições de pH neutro e mesma concentração (Nieuwland et al., 2021). Por outro lado, quando

comparada à proteína de soja, a proteína de lemnas pode adquirir um módulo de elasticidade em ordem de grandeza superior a três log em um pH neutro (Nieuwland et al., 2021). Além disso, em pH ácido, a proteína de lemnas apresenta melhor gelificação que a soja e o ovo (Nieuwland et al., 2021), tornando-se uma possível substituta para essas proteínas.

2.4.4.5 Outras propriedades

Outra propriedade importante na produção de proteínas é a atividade antimicrobiana, que é a capacidade de inativação de patógenos transmissíveis por alimentos (Duangjarus et al., 2022). No caso das lemnas, só foi encontrado um estudo, Duangjarus et al. (2022), que obtiveram uma inibição de 66 % e quase 100 % dos micro-organismos *V. parahaemolyticus* e *C. albicans*, respectivamente, em uma solução de 10 mg de concentrado hidrolisado por cada mililitro de água.

Finalmente, a digestibilidade da proteína de lemnas é um fator limitante para a comercialização desse bioproduto, de modo que essa propriedade irá influenciar na atratividade de mercado para consumo humano. Em estudo *in vitro*, Dhamaratana, Methacanon e Charoensiddhi (2025) simularam o trato intestinal humano e obtiveram baixa digestibilidade para um concentrado proteico devido ao grau de hidrólise de 10 %. O estudo ressalta que produtos *plant-based* não purificados têm baixa digestibilidade devido a fatores antinutricionais e dificuldade de quebra da parede celular (Dhamaratana; Methacanon; Charoensiddhi, 2025).

2.5 PATÓGENOS EM EFLUENTES DOMÉSTICOS

Patógenos são micro-organismos que apresentam potencial em causar doenças (Markou et al., 2018). Existem cerca de 60 tipos de patógenos para o ser humano que são transmissíveis pela água, sejam vírus, bactérias ou protozoários, assim como parasitas eucariontes multicelulares (Wu et al., 2016). A quantificação rotineira da presença de todos esses micro-organismos em efluentes é intensa e economicamente inviável, de modo que são adotados indicadores de contaminação fecal para avaliar a eficiência de remoção em processos sanitários (Wu et al., 2016). Para isso, os principais indicadores utilizados são *Escherichia coli*, coliformes totais e coliformes fecais, que podem atingir a ordem de 8 log de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por 100 mL em efluentes domésticos (Wu et al., 2016).

Outros patógenos mais resistentes, como estreptococos, estafilococos e *Clostridium perfringens* podem se manifestar em concentrações de até 5 log UFC.100 mL⁻¹ de efluente

doméstico (Wu et al., 2016). Ainda, a *Salmonella* também é utilizada como indicador de contaminação fecal e patogênica (Moyo; Dalu; Ndamba, 2003) e aparece em efluentes domésticos na mesma ordem de grandeza que os mencionados anteriormente (Wu et al., 2016).

Devido à população de patógenos presentes no efluente doméstico, o seu uso para a produção de uma biomassa proteica para fins alimentícios está relacionado com a eficiência de inativação desses micro-organismos. Desse modo, é importante conhecer o sistema de tratamento de efluentes e seu impacto na remoção de patógenos.

2.5.1 Remoção de patógenos em *Wetland* Construído

A remoção de patógenos em WC pode ocorrer por vias físicas, químicas e/ou biológicas, além de depender de fatores como tempo de detenção, condições climáticas locais e configuração do sistema de tratamento (Wu et al., 2016). Entre os processos físicos, a filtração desempenha importante papel na remoção de micro-organismos em *wetlands* de fluxo subsuperficial (Wu et al., 2016), e a granulometria menor pode aumentar a eficiência (Shingare et al., 2019). A configuração hidráulica também pode influenciar na remoção de patógenos, de modo que, considerados *wetlands* de fluxo subsuperficial, os sistemas híbridos tendem a apresentar melhor desempenho, pois possuem o efeito sinérgico das configurações horizontal e vertical (Shingare et al., 2019), assim como foi obtido por Nunes et al. (2025).

A retenção dos patógenos nas raízes das macrófitas plantadas pode ser efetivo no decaimento de patógenos na fase inicial de operação, mas esse efeito diminui a longo prazo (Wu et al., 2016). A presença de organismos predadores, como protozoários e bacteriófagos, também pode ser um mecanismo de remoção de coliformes (Karimi; Ehrampoush; Jabary, 2014). Também são mencionados na literatura a sedimentação, morte natural, fotoinativação e exposição a biocidas (Arden et al., 2024).

Por depender de diversos fatores, a remoção de patógenos é variável ao comparar diferentes estudos. Kadam et al. (2008) obtiveram uma remoção de 3 log e 2 log para coliformes totais e *E. coli*, respectivamente, a partir de concentrações iniciais de 10^6 UFC.mL⁻¹ e 10^4 UFC.mL⁻¹, nessa ordem. Nunes et al. (2025), assim como García, Paredes e Cubillos (2013), observaram uma redução de 4 log de *E. coli* em um *wetland* híbrido, que resultou em um efluente com grandeza de 10^1 UFC.mL⁻¹.

2.5.2 Remoção de patógenos em lagoa de lemnas

As principais vias de remoção de patógenos em lagoa de lemnas são a sedimentação e a adsorção nas raízes (Papadopoulos; Tsihrintzis; Zdragas, 2011), já que a existência de uma camada superficial coberta que impede a incidência de raios solares nas camadas inferiores (Markou et al., 2018) e não existe um leito filtrante para adesão dos micro-organismos. Além disso, bactérias patogênicas podem se fixar no espaço intracelular do tecido vegetal das lemnas (Clack et al., 2019; Markou et al., 2018), que faz necessário conhecer o decaimento de patógenos quando se busca o reuso dessa biomassa para fins alimentares.

Animais alimentados com lemnas estão mais expostos ao risco de contaminação de patógenos devido às condições ambientais e de manuseio do que à dieta imposta (Moyo; Dalu; Ndamba, 2003). Ainda, assume-se que a carga microbiana diminua na cadeia alimentar com o aumento dos níveis tróficos (Moyo; Dalu; Ndamba, 2003). Entretanto, é necessário avaliar o risco microbiológico do uso de lemnas para consumo humano direto, mesmo que como um bioproduto.

2.5.3 Métodos auxiliares de inativação de patógenos

No processamento da biomassa, a secagem da lemna colhida é tida como um importante mecanismo para inativação de patógenos, apesar desse processo resultar em custos financeiros (Moyo; Dalu; Ndamba, 2003). Ao secar lemnas em condições ambientais, Clack et al. (2019) obtiveram um decaimento de *E. coli* de 4 log de UFC por grama de biomassa seca após 24 h, quando a contagem passou a aumentar. Isso se deve à capacidade dos raios Ultravioletas (UV) em removerem de 2 a 5 log de bactérias entéricas e protozoários (Markou et al., 2018). Os processos de inativação de patógenos na produção de biomassa cultivada em efluentes são focados no líquido, sendo a cloração o processo mais economicamente efetivo, apesar de poder resultar em subprodutos tóxicos (Markou et al., 2018).

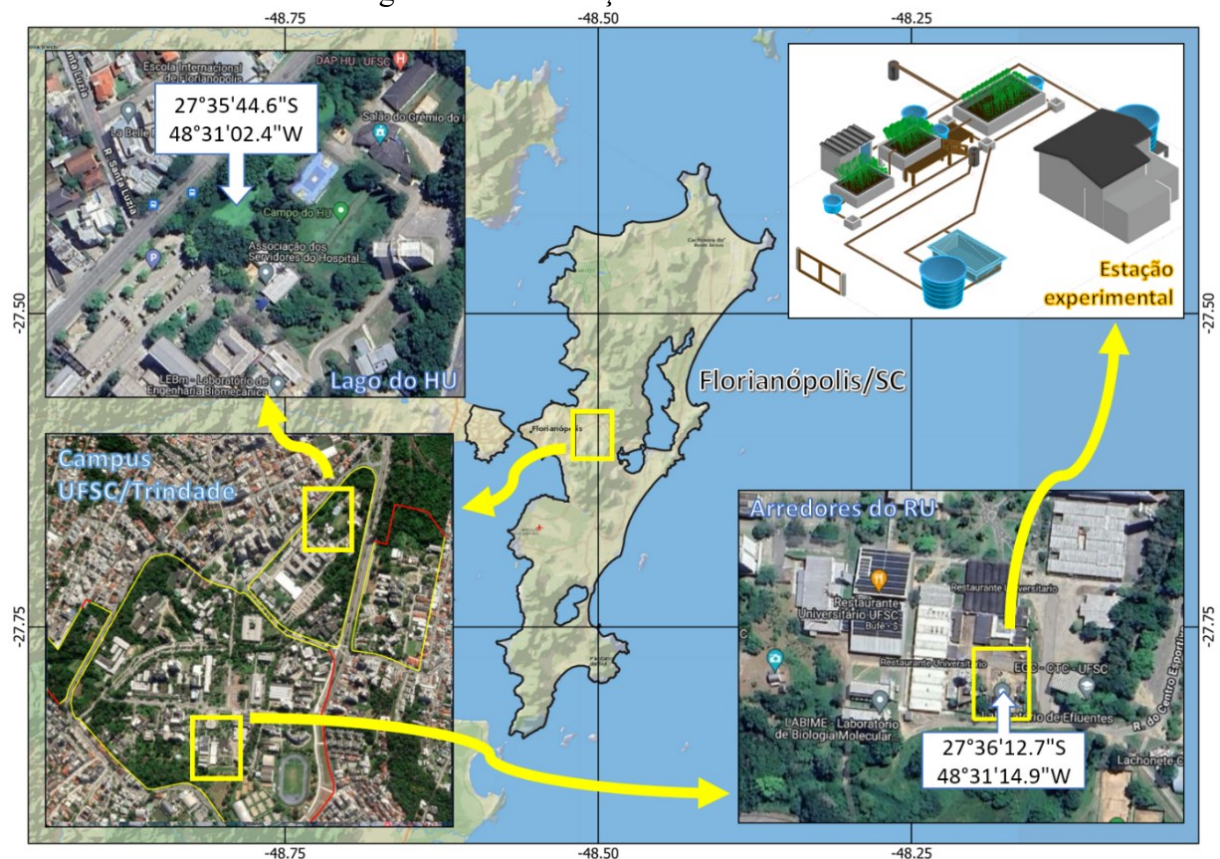
Em se tratando de alimentos, a *Salmonella* e a *E. coli* são os principais patógenos transmissíveis por esta via (Ge; Wang; Zhao, 2022), principalmente devido à sua resistência a antibióticos. Como mecanismo de defesa, essas bactérias utilizam enzimas, diminuem a permeabilidade celular e sofrem mutação para tornarem ineficaz a ação de antibióticos (Ge; Wang; Zhao, 2022). Com isso, pode ser importante conhecer a persistência desses micro-organismos na cadeia produtiva da proteína extraída de lemnas cultivadas em efluentes.

3 METODOLOGIA

3.1 TRATAMENTO DO EFLUENTE

Para avaliar a capacidade de recuperação de nutrientes na lagoa de lemnas, foi utilizado um sistema piloto de tratamento de efluente doméstico, localizado nas coordenadas $27^{\circ}36'12,7''\text{S}$ e $48^{\circ}31'14,9''\text{W}$ e representado na Figura 4. O sistema é alimentado pela rede coletora que atende o bairro Pantanal, no município de Florianópolis/SC, e o esgoto é direcionado à estação experimental por um *by-pass* no poço de visita (PV) mais próximo.

Figura 4 – Localização da área de estudo



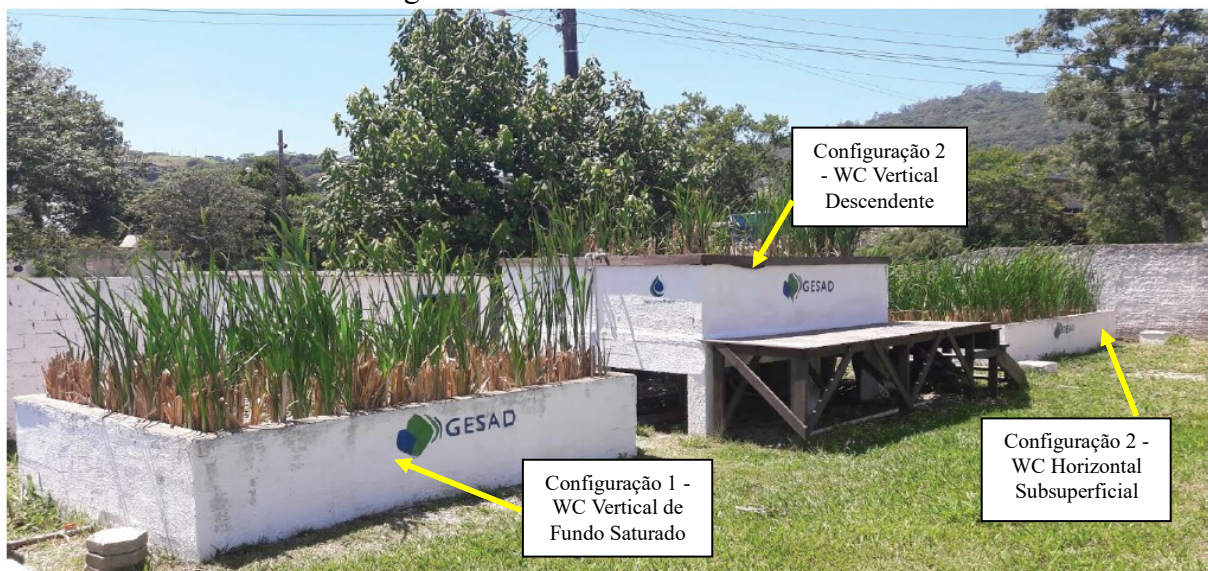
Fonte: O autor (2025)

É importante mencionar que, após a sua utilização, todo o efluente desviado para os experimentos retorna à rede coletora na jusante do PV, o que dispensa a emissão de laudos e licenças de operação. Isso ocorre devido a finalidade puramente científica, e possibilita que a estação seja utilizada para experimentos e exposição acadêmica sem comprometer o meio ambiente.

3.1.1 Tratamento do efluente bruto

Para tratamento do efluente bruto, uma unidade elevatória bombeia o esgoto proveniente da rede municipal até um tanque séptico, onde ocorre o tratamento primário. Na sequência, o tratamento secundário é realizado em um sistema de WC, representado na Figura 5, que é composto por duas configurações. Cada configuração funciona com ciclo de alimentação em pulsos das segundas às quintas-feiras e possui uma vazão de projeto de 600 L por dia de operação, ou média de 300 L.d⁻¹, que equivale a uma população de cinco habitantes.

Figura 5 – Sistema de WC GESAD.



Fonte: Brasil (2019).

A estação experimental tem mais de 90 % de eficiência em ambas as configurações, seja na remoção de DBO ou de DQO, conforme apresentado na Tabela 5. Além desses parâmetros, a Configuração 2 também é eficiente na remoção de fósforo e N-amoniacal, com valores superiores a 85 % e 95 %, respectivamente.

Tabela 5 – Parâmetros do efluente.

Parâmetro	Unidade	Efluente		
		Bruto	Configuração 1	Configuração 2
Vazão	L.dia ⁻¹	-	600	600
DBO	mg.L ⁻¹	329±80	29±13	21±11
DQO	mg.L ⁻¹	762±267	49±38	20±16
Fósforo Total	mg.L ⁻¹	34±8	10±6	2±3
Nitrogênio Amoniacal	mg.L ⁻¹	114±32	48±18	17±14
Sólidos Suspensos	mg.L ⁻¹	157±60	-	-

Fonte: Análise laboratorial do GESAD.

Por outro lado, o efluente tratado na Configuração 1 pode apresentar valores de N-amoniacal e fósforo acima dos limites regulamentados pelas resoluções vigentes (BRASIL, 2011; SANTA CATARINA, 2021). A presença desses nutrientes pode favorecer o uso do efluente como água de reuso para o crescimento das lemnas.

3.1.2 Lagoa de lemnas

3.1.2.1 Aspectos construtivos da lagoa

O efluente dos WC é bombeado por outra elevatória até um reservatório com capacidade de 4.500 L, que funciona como tanque de equalização da vazão e da carga de nutrientes. Por gravidade, o esgoto tratado é direcionado até a lagoa de lemnas, representada na Figura 6, para que seja feito o polimento. A lagoa é executada em piscina de fibra de vidro, com dimensões de 2,40 m de largura, 4,20 m de comprimento, 1,10 m de altura total e 0,45 m de lâmina d'água útil (4.500L de volume útil).

Figura 6 – Lagoa de lemnas e reservatório de água de reuso.



Fonte: O autor (2025)

Para as características de projeto, o TDH na lagoa de lemnas seria de 15 dias para a Configuração 1 e de 7 dias para as duas Configurações, como pode ser calculado através da Equação 2.

$$TDH = \frac{V}{Q} \quad (2)$$

TDH = tempo de detenção hidráulica (dias)

V = volume útil da lagoa de lemnas (L)

Q = vazão afluente na lagoa de lemnas (L.d⁻¹)

3.1.2.2 Espécie de lemna utilizada

A espécie de lemna utilizada nos experimentos é a *Landoltia punctata*, inoculada a partir de exemplares coletados no lago do Hospital Universitário da UFSC, representado na Figura 4 e localizado nas coordenadas 27°35'44,6''S e 48°31'02,4''W. Essa espécie se diferencia das demais pela formação de dois frondes ligados, que são o conjunto de raiz e folha (Baek; Saeed; Choi, 2021), apesar de, raramente, poderem ser encontrados clones com uma ou até 12 raízes (Bog et al., 2015). Provável originária da África do Sul, a *Landoltia punctata* também pode ser encontrada em outros continentes, principalmente no hemisfério sul, devido à atividade humana (Bog et al., 2015). Essa espécie recebe esse nome em homenagem à Elias Landolt (Cao; Fourounjian; Wang, 2020), importante pesquisador de lemnas.

Como agente de fitorremediação, a *L. punctata* pode ser utilizada para remoção de amônia, nitrato, fósforo, cobalto e níquel (Baek; Saeed; Choi, 2021). Mohedano et al., (2012b) utilizaram essa espécie no polimento de efluente da suinocultura e obtiveram uma produtividade de proteína bruta 20 vezes superior à de produtividade de soja do Brasil. Em estudo sobre o meio de cultura, Tao et al., (2017) concluíram que a deficiência de nutrientes no cultivo dessa espécie pode favorecer a acumulação de amido e flavonoides, de modo que este primeiro componente beneficia a geração de biocombustível por fermentação.

Em termos nutritivos, a composição centesimal dessa espécie pode variar, como: 16,3% a 38,3% de proteína; 16,7% a 47,8% de amido, e: 47,0% a 52,5% de fibras, além de poder apresentar de 13,3% a 14,3% de celulose e 1,16% a 5,55% de lignina (Chen et al., 2012; Pagliuso et al., 2022; Su et al., 2014; Zhao et al., 2014b).

3.1.3 Delineamento experimental

A inoculação das lemnas foi iniciada no mês de abril de 2024, para que a espécie coletada atingisse uma densidade de 600 g.m^{-2} de biomassa fresca na superfície da lagoa de lemnas. A aclimação da lemna ocorreu até agosto do mesmo ano, quando o efluente dos WC foi armazenado no reservatório e direcionado para alimentação da lagoa, de modo que a espécie estivesse acostumada com o ambiente no início do monitoramento. As análises do polimento do efluente foram realizadas de setembro de 2024 a maio de 2025, com um intervalo entre dezembro de 2024 e janeiro de 2025, quando os WC se encontravam inativos.

3.1.3.1 Alimentação de efluente

A alimentação da lagoa foi realizada em regime de batelada e dividida em dois Blocos experimentais, sendo que o Bloco 1 recebeu o efluente da Configuração 1 do WC, enquanto o Bloco 2 recebeu o efluente das duas Configurações devido às oscilações na operação dos WC. O início de cada batelada, aqui denominadas de Ciclos, deu-se ao direcionar o efluente armazenado no reservatório até a lagoa de lemnas, de modo que os parâmetros físico-químicos analisados na saída do reservatório foram considerados como valores de entrada. Já o final de cada Ciclo corresponde ao instante anterior à alimentação de efluente, e os parâmetros dentro da lagoa foram considerados como valores de saída. Durante o monitoramento, foram anotados os volumes de alimentação e o tempo entre Ciclos.

3.1.3.2 Aspectos operacionais

Por se tratar de um sistema em escala piloto e estar sobre condições reais, a sua operação esteve sujeita a interferências ambientais. Além disso, o foco da dissertação foi a lagoa de lemnas, de modo que a operação e o monitoramento do sistema de WC estiveram sobre responsabilidade do GESAD. Desse modo, para avaliar o funcionamento da lagoa de lemnas, foram monitoradas a carga superficial de nutrientes e as taxas de crescimento da biomassa.

A taxa de crescimento relativo da biomassa fresca foi calculada através da Equação 3

$$TCR = \frac{\log (D_M / D_O)}{\Delta T} \quad (3)$$

TCR = Taxa de Crescimento Relativo (g.(g.dia)⁻¹)

D_M = densidade de lemnas medida antes da colheita atual (g.m⁻²)

D_O = densidade de lemnas obtida após colheita anterior (g.m⁻²)

ΔT = intervalo de tempo entre as colheitas (dias)

A densidade obtida D_O após a colheita foi calculada através da Equação 4

$$D_O = D_M - \frac{M_C}{A_L} \quad (4)$$

D_O = densidade de lemnas obtida após a colheita (g.m⁻²)

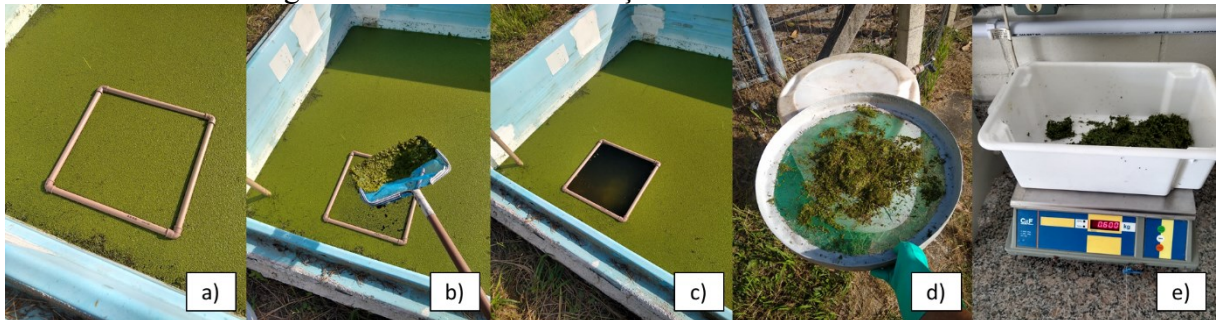
D_M = densidade de lemnas medida (g.m⁻²)

M_C = massa fresca de lemnas (g) retirada na colheita

A_L = área da lagoa de lemnas (10 m²)

Para medir a densidade D_M, foi lançado um quadrado flutuante, fabricado em tubo de PVC (25 mm) e com área interna de ¼ de m², aleatoriamente em 4 pontos diferentes na lagoa. A biomassa no interior foi coletada, escorrida e pesada, conforme procedimento representado na Figura 7.

Figura 7 – Processo de medição da densidade de lemna



Nota: a) quadrado flutuante em PVC Ø25 mm com 0,25 m². b) colheita da lemna no interior do quadrado flutuante. c) retirada de toda a lemna no interior do quadrado flutuante. d) tela para escorrer água superficial da biomassa. e) pesagem da biomassa colhida para cálculo da densidade.

Fonte: O autor (2025).

Com isso, a densidade medida D_M foi calculada através da Equação 5

$$D_M = \frac{\sum_{i=1}^n M_{Qi}}{n * A_Q} \quad (5)$$

D_M = densidade de lemnas medida (g.m⁻²)

M_{Qi} = massa fresca de lemnas (g) no interior do quadrado flutuante no lançamento *i*

n = número de lançamentos do quadrado flutuante, nesse caso é igual a 4 vezes

A_Q = área do quadrado flutuante (1/4 de m²)

A densidade superficial foi mensurada ao menos uma vez por semana, a depender da taxa de crescimento das lemnas. A biomassa excedente foi removida para manter a densidade após colheita em um intervalo de 600 a 1000 g.m⁻²,

Além da densidade, foi monitorada a carga de nutrientes na lagoa, pois, segundo Caicedo Bejarano (2005), a carga de amônia pode ser um fator limitante para o funcionamento de lagoas de lemnas e valores muito elevados podem causar efeito tóxico nas macrófitas. Para isso, foram realizadas análises físico-químicas do efluente na entrada e saída da lagoa.

3.1.3.3 Análises físico-químicas

Durante a operação do sistema de tratamento, o efluente do WC e o efluente da saída da lagoa foram analisados de acordo com a metodologia apresentada na Tabela 6.

Tabela 6 – Metodologia de análise dos parâmetros do efluente.

Parâmetro	Metodologia	Periodicidade
DQO	Colorimétrico - SMWW 5220 D	Semanal
Nitrogênio Amoniacal	Colorimétrico - Método <i>Nessler</i>	Semanal
Nitrito, Nitrato e Fosfato	Cromatografia Iônica (Dionex DX 120)	Semanal

Fonte: O autor (2025).

Durante oito meses, a contar de setembro de 2024, foram coletadas amostras do efluente no ponto de entrada e saída da lagoa de lemnas, preferencialmente às quartas-feiras no Bloco 1, e às quintas-feiras no Bloco 2, às 8:00 da manhã. As análises físico-químicas foram realizadas em duplicata.

3.1.3.4 Eficiência de remoção de nutrientes na lagoa

A eficiência de remoção de um determinado parâmetro em um sistema de tratamento foi calculada em função da concentração de entrada e a concentração de saída, conforme a Equação 6.

$$E (\%) = \frac{C_E - C_S}{C_E} \times 100 \quad (6)$$

E = eficiência de remoção (%)

C_E = concentração de entrada (mg.L⁻¹)

C_S = concentração de saída (mg.L⁻¹)

Também foram calculadas as eficiências de remoção de nitrogênio (N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, N-NO₂⁻) e fósforo (P-PO₄⁻³).

A carga de nutriente foi calculada pela Equação 7.

$$\text{Carga}_{\text{Nut}} = \sum_{i=1}^n C_i * V_i \quad (7)$$

Carga_{Nut} = carga de nutriente no Bloco (g)

C_i = concentração do nutriente (mg.L⁻¹)

V_i = volume de efluente aplicado (m³) no ciclo de ordem *i* de cada Bloco

n = número de Ciclos no Bloco

A taxa de nutriente foi calculada pela Equação 8.

$$\text{Taxa}_{\text{Nut}} = \frac{0,365 * \text{Carga}_{\text{Nut}}}{A * \Delta T} \quad (8)$$

Taxa_{Nut} = taxa de nutriente no Bloco (ton.(ha.ano)⁻¹)

Carga_{Nut} = carga de nutriente no Bloco (kg)

A = área da lagoa (0,001 ha)

ΔT = duração do Bloco (dias)

A concentração de nitrogênio na biomassa seca foi quantificada de acordo com o método de *Kjeldahl* (AOAC, 2023) com macrotubos. Para análise, realizada em triplicata, foram coletadas amostras no início e fim de cada Bloco, e calculado o valor médio.

A produtividade de biomassa foi calculada pela Equação 9, em função da massa de lemna colhida e a duração de cada Bloco.

$$P_{\text{BL}} = \frac{W_{\text{BL}}}{A * \Delta T} \quad (9)$$

P_{BL} = produtividade de biomassa de lemna (ton.(ha.ano)⁻¹)

W_{BL} = massa de lemna fresca colhida (ton)

A = área da lagoa (0,001 ha)

ΔT = intervalo de tempo (ano)

Os dados de monitoramento coletados nas análises foram armazenados em planilha eletrônica para tratamento estatístico. As concentrações de entrada e saída foram coletadas semanalmente, mas foram utilizados apenas os valores de cada Ciclo, assim como identificados a média, desvio padrão e relação entre os blocos experimentais.

3.2 EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA A PARTIR DA BIOMASSA DE LEMNAS

A avaliação da conversão de nutrientes das lagoas em biomassa proteica envolveu uma etapa de caracterização da biomassa e outra etapa de extração. Na primeira etapa, foi calculado o teor de proteína bruta presente na biomassa seca e a relação com a carga de nutriente aplicada. Enquanto que na segunda etapa, a biomassa foi submetida a um processo físico-químico de extração.

3.2.1 Preparo da biomassa

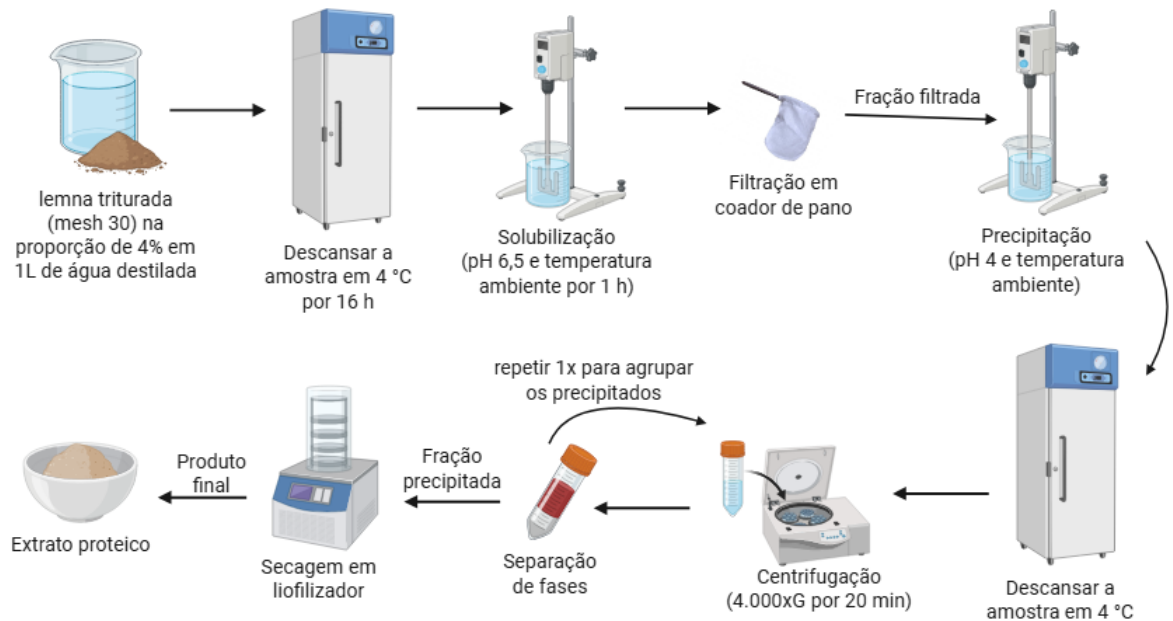
Para diminuir a influência da variação da concentração de nutrientes no efluente em relação ao teor de proteína na biomassa, foram utilizados 2 kg de biomassa fresca retirados na mesma colheita. Essa quantidade corresponde a 200 g de base seca, a qual foi triturada e homogeneizada para caracterização do teor proteico bruto e realização da extração da proteína.

Antes de iniciar o processo de extração, a lemna colhida foi submetida à secagem em estufa a 55 °C durante 24 h, para retirada da umidade. Então, a amostra foi triturada em liquidificador doméstico até que o pó obtido passasse por peneira de *mesh* 30, para aumentar a região de contato com os reagentes químicos utilizados na extração.

3.2.2 Extração da proteína

A extração da proteína foi realizada por processo físico-químico de quebra da parede celular, devido a proteína das lemnas ser uma biomolécula intracelular. Como referência, foi adaptado o processo apresentado por Maag et al. (2025), representado na Figura 8.

Figura 8 – Fluxograma da extração da proteína



Fonte: O autor (2025)

Primeiramente, foram hidratados 40 g do pó de lemna em 960 mL de água destilada durante 16 h, em uma relação de 4% m/v, em temperatura de 4 °C. No processo de solubilização da proteína, a mistura foi mantida em temperatura ambiente e um pH 6,5, com agitação mecânica por um período de 1 h.

Após solubilizada, a amostra foi filtrada para separação da parcela líquida, que foi submetida a precipitação em pH 4 durante 20 min com agitação mecânica e temperatura ambiente. Na sequência, a mistura foi dividida em tubos tipo *falcon* de 50 mL e refrigeradas a 4 °C por 16 h para realizar a centrifugação em 4.000 *xG* durante 20 min.

Os precipitados foram submetidos a uma centrifugação adicional e armazenados em placa pet para liofilização, que após 24 h foi obtido o extrato proteico em pó.

3.2.3 Rendimento de extração

O rendimento da extração da proteína foi calculado em função dos teores de proteína e das massas, conforme Equação 10.

$$RP (\%) = \frac{m_{CP} * TP_{CP}}{m_{LS} * TP_{LS}} \times 100 \quad (10)$$

RP = rendimento proteico da extração (%)

TP_{LS} = teor de proteína na lemna seca (%)

TP_{CP} = teor de proteína no extrato (%)

m_{LS}, m_{CP} = massa (g) do pó de lemna e do extrato proteico, respectivamente

O teor de proteína da lezna seca e do extrato foi determinado pelo método de *Kjeldahl* (AOAC; 2023) em macrotubos, utilizando o fator de conversão de nitrogênio de 5,80. Esse fator de conversão foi o mesmo utilizado por Maag et al. (2025); Muller, Bernier e Bazinet (2023); e Nieuwland et al. (2021), que levam em consideração a contagem de aminoácidos.

Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados calculados e expressos como média e desvio padrão.

3.2.4 Propriedades tecno-funcionais do extrato proteico

O extrato proteico foi submetido a avaliação das propriedades tecno-funcionais conforme metodologia descrita em Gundogan e Karaca (2020) para capacidade e estabilidade de emulsificação e formação de espuma, com pequenas modificações. As condições de avaliação foram de 1% de teor proteico do extrato em água destilada a pH 7. Para a emulsificação foi utilizado óleo de soja comercial.

A capacidade e a estabilidade de espuma foram calculadas pelas equações 11 e 12.

$$FC (\%) = \frac{V_1 - V_0}{V_0} \times 100 \quad (11)$$

$$FSt (\%) = \frac{V_t}{V_1} \times 100 \quad (12)$$

FC = capacidade de espuma (%)

FSt = estabilidade de espuma (%) nos tempos t = 10, 30 e 60 minutos

V₀ = volume inicial da amostra (15 mL)

V₁ = volume da amostra após formação de espuma (mL)

V_t = volume da amostra após formação de espuma (mL) nos tempos t = 10, 30 e 60 minutos

Os índices de atividade e estabilidade de emulsão foram calculados pelas equações 13 e 14.

$$EAI (m^2 \cdot g^{-1}) = \frac{2 \times 2,303 \times 100 \times A_0}{c \times 0,25 \times 10.000} \times 100 \quad (13)$$

$$ESI (min) = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} \times 10 \quad (14)$$

EAI = Índice de atividade de emulsão (m².g⁻¹)

ESI = índice de estabilidade de emulsão (min)

c = concentração proteica na solução (1 %)

A₀ = absorvância da emulsão no tempo zero (mL)

A₁₀ = absorvância da emulsão transcorridos 10 minutos

As análises do teor proteico da biomassa seca e do extrato, assim como as propriedades tecno-funcionais foram realizadas em triplicata, com o cálculo da média e do desvio padrão.

3.3 PRESENÇA DE PATÓGENOS NA BIOMASSA

O uso de lemnas para polimento de esgoto sanitário pode resultar na presença de patógenos na biomassa, o que tende a representar risco microbiológico no manejo e consumo. Desse modo, essa etapa do estudo teve como objetivo a avaliação de patógenos na lagoa de lemnas e na biomassa. Para isso, foi avaliada a presença dos micro-organismos *E. coli*, *Salmonella sp.* e *Enterococcus faecalis*.

3.3.1 Coleta e preparo das amostras

Para analisar a presença de patógenos, foram coletadas amostras da cobertura de lemnas e do efluente na entrada e na saída da lagoa. Foram seguidos os protocolos para evitar contaminação cruzada entre as amostras, através do uso de material autoclavado e esterilizado, bem como o armazenamento em recipiente igualmente higienizado.

Como as análises microbiológicas foram realizadas em amostras líquidas, foi necessário solubilizar a lemna fresca em um meio líquido representativo. Para isso, 1 g de lemna fresca foi macerada em 9 mL de água peptonada até que se obtivesse uma mistura homogênea.

3.3.2 Identificação dos micro-organismos patogênicos

Para identificação dos patógenos, as alíquotas foram diluídas em 9 mL de solução salina peptonada em tubos de ensaio de 25 mL. As análises da biomassa foram realizadas em diluições 10^1 , 10^2 e 10^3 , enquanto as do efluente na entrada e na saída da lagoa foram realizadas em diluições 10^0 , 10^1 e 10^2 . Então, a amostra foi homogeneizada em *vórtex*, e foi realizado o plaqueamento em meio de cultura específico e incubação para cada patógeno.

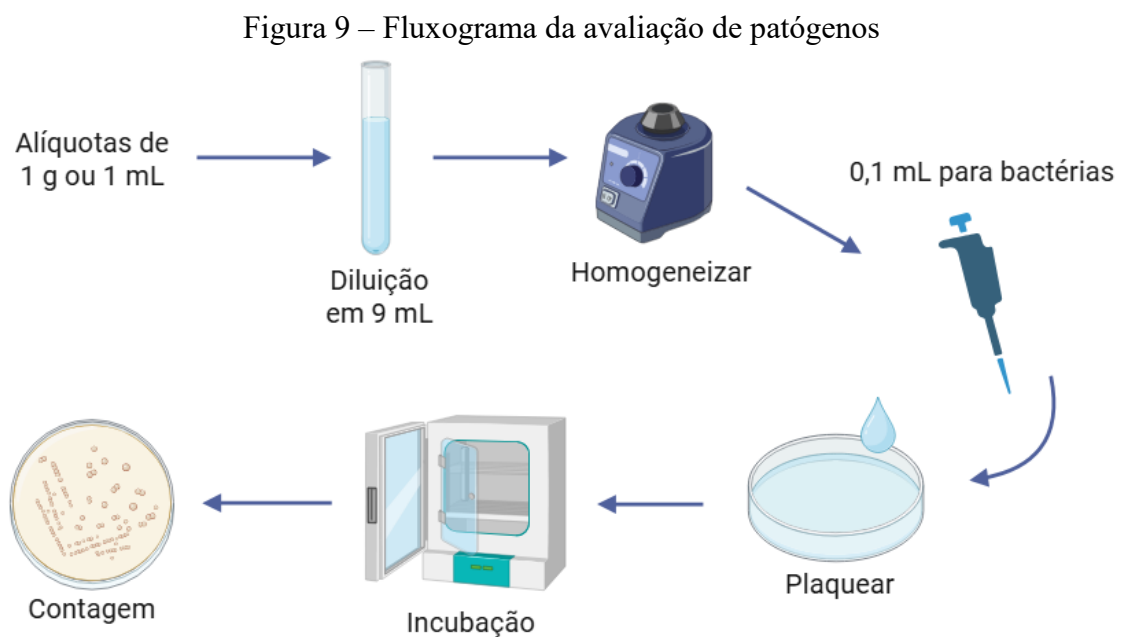
3.3.2.1 *E. coli*, *Salmonella enterica* e *Enterococcus faecalis*

O plaqueamento para quantificação das bactérias foi realizado com a adição de 0,1 mL de amostra diluída em placas de MacConkey, XLD (Xylose Lysine Deoxycholate) e SlaBa (Slanetz and Bartley Agar). As condições de incubação foram as seguintes:

- MacConkey: para identificar *E. coli*, foi incubada a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h;
- XLD: para identificar *Salmonella enterica*, com as mesmas condições anteriores;
- SlaBa: para identificar *Enterococcus faecalis*, incubação a $41\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 h.

Os resultados foram expressos em $\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$. Todo o procedimento de análise microbiológica foi realizado respeitando as condições sanitárias e de segurança microbiológica.

A Figura 9 representa, resumidamente, o processo de identificação dos patógenos, conforme metodologia apresentada anteriormente.



Fonte: O autor (2025)

3.3.3 Segurança sanitária do concentrado proteico

No contexto da viabilidade para consumo do concentrado proteico, a legislação brasileira utiliza a contagem de *E. coli* e *Salmonella sp.* como padrões microbiológicos a serem atendidos, RDC 724/2022 e IN 161/2022 (Brasil, 2022). Assim, a segurança sanitária foi avaliada em relação à contagem desses micro-organismos e os valores permitidos pelas legislações mencionadas.

Adicionalmente, foi realizada a análise de metais pesados através de Espectrômetro de Absorção Atômica por chama Varian, modelo SpectrAA 50B. Para isso, foi coletada uma amostra de 20 mL do efluente da entrada e da saída da lagoa e 10 g da biomassa seca ao fim do

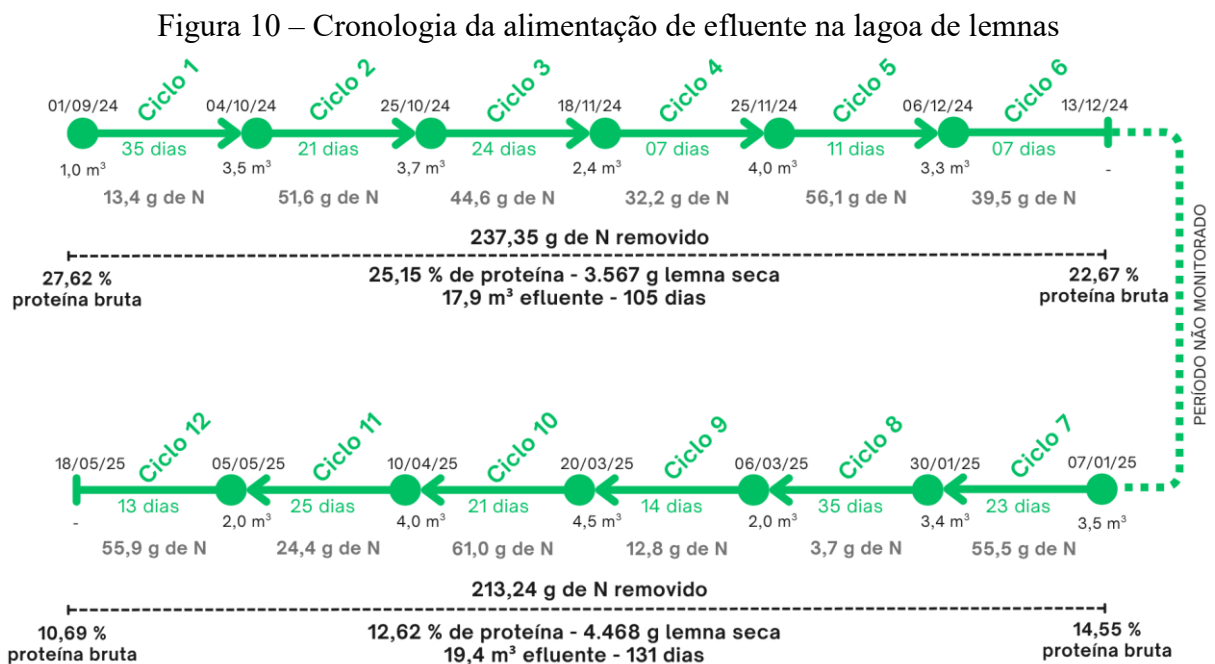
período de operação. Foi analisada a presença de Cd, Cu, Cr, Fe, Mg, Mn e Zn no efluente. Para a biomassa foi verificada apenas a presença de Mg devido a necessidade de digestão da amostra. As análises foram realizadas em apenas uma réplica, devido à precisão do sistema. Os valores foram comparados com a legislação vigente.

4 RESULTADOS

4.1 POLIMENTO DO EFLUENTE

4.1.1 Alimentação de efluente na lagoa

O principal parâmetro de operação da lagoa de lemnas foi o TDH, ou o tempo de duração de cada ciclo, uma vez que o experimento foi operado em bateladas. Na Figura 10 é apresentada a cronologia da alimentação de efluente na lagoa de lemnas, onde a circunferência de cada segmento representa o início de um ciclo, com a data e volume de efluente aplicado; já a seta ou traço indicam o final do ciclo, que corresponde ao início do próximo; além da indicação do tempo de duração.



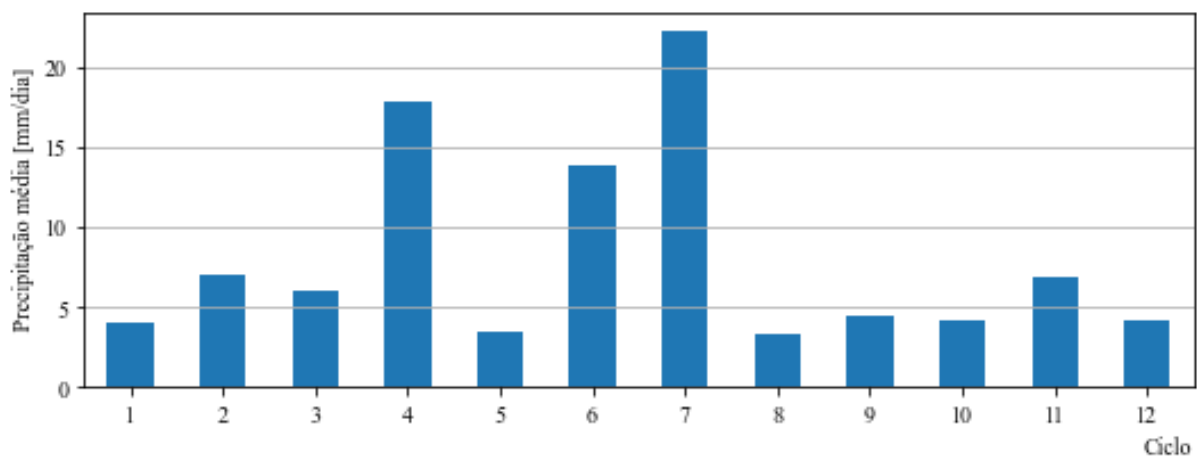
Fonte: O autor (2025)

Os ciclos não apresentaram padrão de TDH, assim como volume de efluente alimentado, devido a intercorrências inerentes à unidade piloto utilizando o esgoto real da rede municipal, como entupimento de bombas por material grosseiro, problemas de operação no sistema a montante e variações de carga. Esses fatores, junto às questões ambientais também influenciaram no desenvolvimento das macrófitas. Por exemplo, os Ciclos 1 e 8 duraram 35 dias, e foram interrompidos para que a biomassa não ficasse sem nutrientes. Por outro lado, os

Ciclos 4 e 6 tiveram um TDH de 7 dias, mas o primeiro foi interrompido pelo alto volume de efluente no reservatório ($4,0 \text{ m}^3$) e o segundo pela pausa no período de monitoramento. Apesar do TDH em lagoas de lemnas recomendado ser entre 15 a 20 dias (Femeena; House; Brennan, 2022), os valores utilizados estão próximos dos encontrados na literatura, de 7 dias (Tu et al., 2021) e 30 dias (Mohedano et al., 2014).

O curto período dos ciclos do Bloco 1 também pode ser justificado pelo aumento de vazão do *wetland* devido à precipitação, que está representada na Figura 11. A precipitação média dos Ciclos 4 e 6 foram acima de 10 mm.dia^{-1} , valor inferior apenas ao do Ciclo 7 ($22,19 \text{ mm.dia}^{-1}$), quando a região foi afetada por uma precipitação de 300 mm em 24 horas (EPAGRI/CIRAM, [S.d.]). Esse evento climático desencadeou adversidades na operação dos WC, como quebra de tubulação e danificação de bombas, que, mesmo ao utilizar o efluente das duas configurações, atingiram vazão inferior. A vazão média de efluente tratado no Bloco 1 ($170,5 \text{ L.dia}^{-1}$) foi 15,1% superior à no Bloco 2 ($148,1 \text{ L.dia}^{-1}$), e nenhuma esteve próxima da vazão de projeto (300 L.dia^{-1}).

Figura 11 – Gráfico da precipitação média por ciclo



Fonte: Adaptado de EPAGRI/CIRAM ([S.d.]).

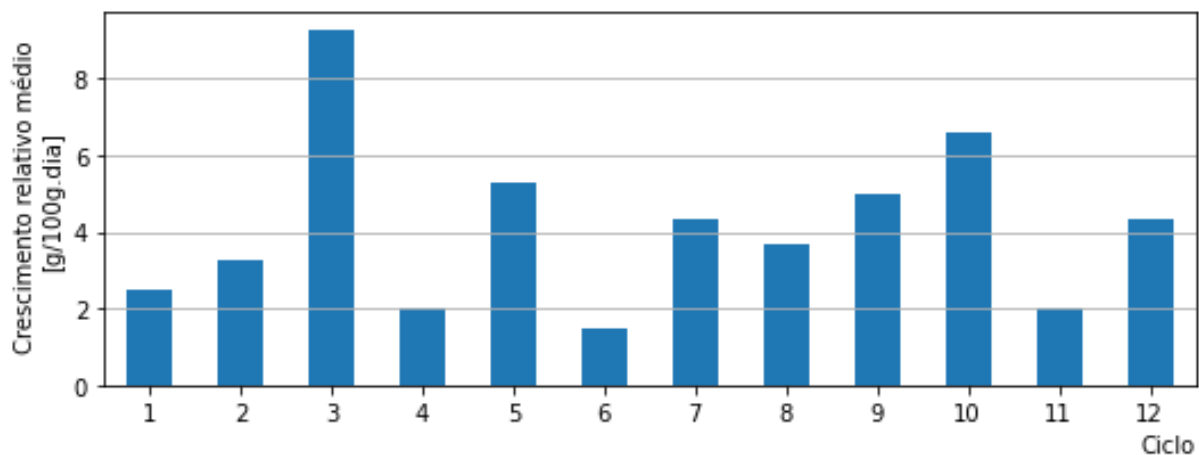
Como as chuvas podem modificar a dinâmica hidráulica de WC (De Andrade Moraes et al., 2019), a área dos filtros plantados ($7,5 \text{ m}^2$ cada) e a área da lagoa (10 m^2) contribuíram para o aumento da vazão dos Ciclos 4, 6 e 7 de, respectivamente, 311 L.d^{-1} , 242 L.d^{-1} e 721 L.d^{-1} . Os demais períodos tiveram média de precipitação próxima de 5 mm.dia^{-1} , que não representaram impacto na vazão. Além disso, foi observado que as chuvas proporcionam uma melhor distribuição das lemnas na superfície da lagoa, o que é útil principalmente após colheita.

4.1.2 Produtividade da biomassa e teor de proteína

A produtividade da biomassa, medida em peso seco, para ambos os blocos experimentais foi de $12,4 \text{ ton.}(\text{ha.ano})^{-1}$. Apesar de ser uma produtividade baixa para lagoa de lemnas, comparando-se com cultivares proteicos tradicionais, como a soja, a produtividade de proteína pelas lemnas foi cerca de 4 vezes maior (Embrapa, 2023), importante ingrediente proteico de rações. A proteína bruta na biomassa seca produzida no Bloco 1 (25,15%) foi, aproximadamente, o dobro da produzida no Bloco 2 (12,62%), como apresentado anteriormente na Figura 10. Esses valores convergem em uma produtividade de $3,12 \text{ ton.}(\text{ha.ano})^{-1}$ e de $1,56 \text{ ton.}(\text{ha.ano})^{-1}$ de proteína bruta nos Blocos 1 e 2, respectivamente. Esses resultados podem estar relacionados com as cargas de nutrientes aplicadas na lagoa, como será comentado mais adiante.

Em termos de crescimento relativo, os Ciclos 4 e 6, novamente, apresentaram os menores valores médios, abaixo de 2 g para cada 100 g de lemna ao dia. Apesar disso, o Bloco 1 e o Bloco 2 tiveram médias próximas, $3,97 \pm 2,92 \text{ g.}(\text{100g.dia})^{-1}$ e $4,33 \pm 1,51 \text{ g.}(\text{100g.dia})^{-1}$, respectivamente, que corresponde a um crescimento relativo de $4,14 \pm 2,22 \text{ g.}(\text{100g.dia})^{-1}$ para o período experimental completo ($p\text{-valor} = 0,79$).

Figura 12 – Gráfico do crescimento relativo da biomassa fresca



Fonte: O autor (2025)

O Ciclo 3 apresentou o maior crescimento relativo médio ($9,26 \text{ g.}(\text{100g.dia})^{-1}$), quando as concentrações de N-amoniaco e fósforo no afluente foram de $12,12 \text{ mg.L}^{-1}$ e $10,3 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente. Esse valor foi bem próximo do máximo obtido por Tonon et al. (2017) ($9,7 \text{ g.}(\text{100g.dia})^{-1}$), com N-amoniaco de alimentação de $45,7 \text{ mg.L}^{-1}$ e fósforo de $6,4 \text{ mg.L}^{-1}$. Ambos os resultados estão abaixo dos obtidos por Mohedano et al. (2012b) e Petersen et al. (2021),

mas o primeiro utilizou efluente da suinocultura com cargas, aproximadamente, dez vezes maiores de nutrientes, enquanto o segundo utilizou meio de cultura sintético.

O crescimento das lemnas está sujeito a luminosidade, temperatura e disponibilidade de nutrientes, assim como a espécie cultivada, densidade e pH (Femeena; House; Brennan, 2022). Desse modo, em uma unidade piloto exposta às condições reais de operação, o único parâmetro controlável é a carga de nutrientes, que foi trabalhada com a variação de TDH mencionada.

4.1.3 Remoção e recuperação de nutrientes

Por se tratar de um efluente de tratamento secundário, não foram observadas diferenças na coloração aparente entre a entrada e a saída da lagoa de lemnas durante o monitoramento, como é apresentado na Figura 13. Apenas nos períodos em que as lemnas estavam em fase de aclimatação e ausência de nutrientes na lagoa, ocorreu o surgimento de microalgas, mas esses períodos foram excluídos das análises. Na sequência estão apresentados os resultados de remoção de DQO, fósforo e nitrogênio na lagoa de lemnas.

Figura 13 – Amostras do efluente na lagoa de lemnas



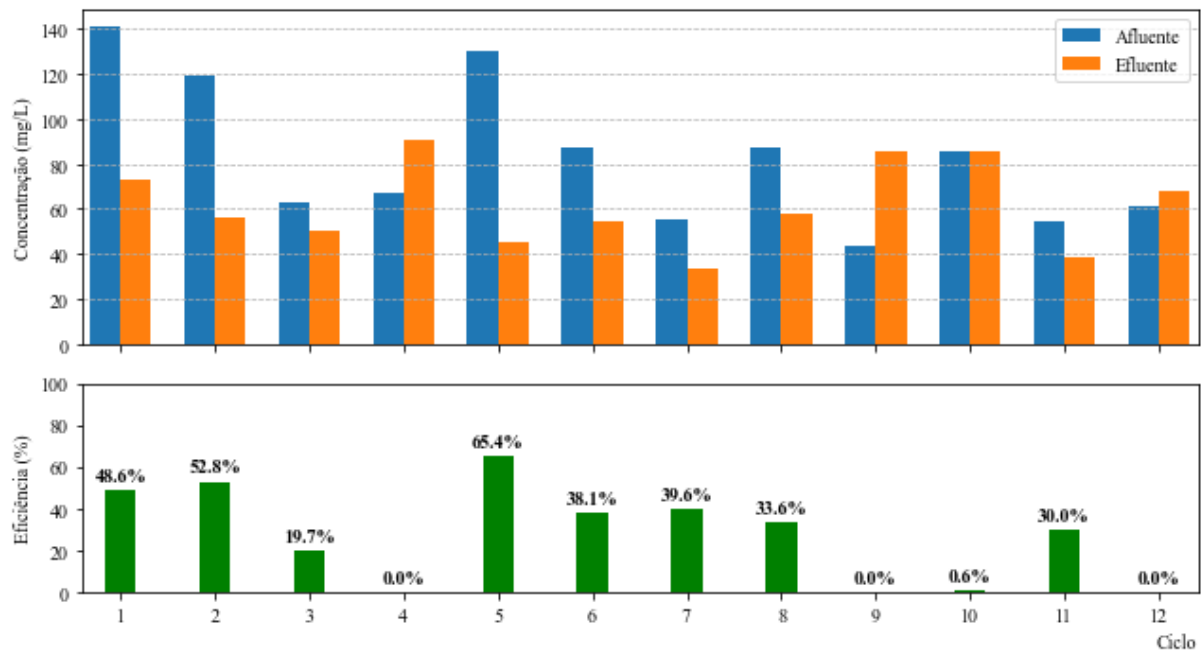
Nota: P6 – Entrada. P7 – Saída
Fonte: O autor (2025).

4.1.3.1 Remoção de DQO

A lagoa de lemnas adotada no experimento foi empregada no polimento de efluente de WC, o que faz da remoção de DQO um parâmetro secundário. Como pode ser observado na

Figura 14, o maior valor desse parâmetro ($141,37 \text{ mg.L}^{-1}$) na alimentação das lagoas foi no início do monitoramento, e a lagoa obteve uma eficiência de remoção próxima de 50% para um TDH superior a 30 dias. No Bloco 1, a menor eficiência foi no Ciclo 4, onde a concentração de saída foi superior à de alimentação, fato que se repetiu nos Ciclos 9 e 12 do Bloco 2. De qualquer forma, o maior valor de DQO na saída da lagoa foi de $91,04 \text{ mg.L}^{-1}$, que, quando comparado ao efluente bruto ($762+267 \text{ mg.L}^{-1}$), corresponde a uma eficiência global de mais de 90%.

Figura 14 – Gráfico da concentração e remoção de DQO



Fonte: O autor (2025)

Ao comparar a concentração de saída, assim como a eficiência de remoção, dos dois Blocos experimentais, conforme Tabela 7, a lagoa de lemnas não apresentou diferença significativa ($p\text{-valor} > 0,05$) entre utilizar a alimentação da Configuração 1 ou das duas configurações. Desse modo, a eficiência média da lagoa na remoção de DQO em todo o período monitorado foi de $27,37 \pm 23,12\%$.

Tabela 7 – Eficiência de remoção de DQO por bloco.

Bloco	$C_E (\text{mg.L}^{-1})$	$C_S (\text{mg.L}^{-1})$	Eficiência (%)
1	$101,33 \pm 33,41$	$61,57 \pm 17,18$	$37,43 \pm 23,91$
2	$64,66 \pm 17,93$	$61,43 \pm 22,55$	$17,31 \pm 19,00$
<i>p</i> -valor	0,039	0,99	0,14
<i>t</i> -valor	2,37	0,01	1,61
Média	$82,99 \pm 31,94$	$61,50 \pm 19,11$	$27,37 \pm 23,12$

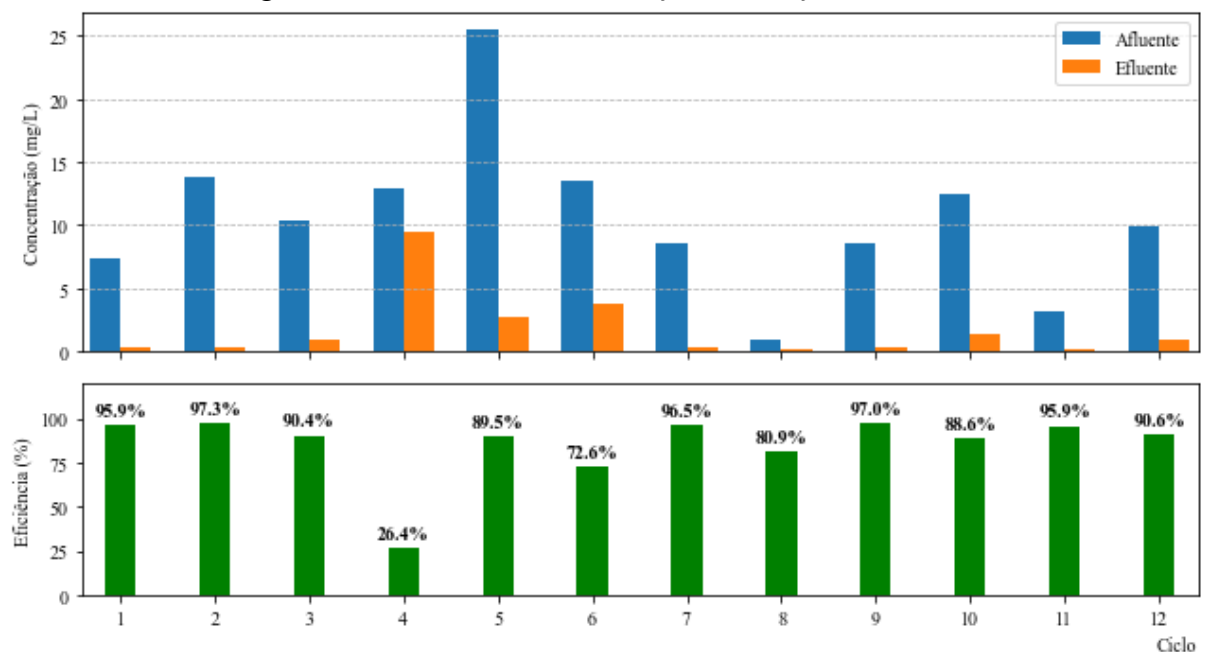
Fonte: O autor (2025).

Apesar de assumir uma eficiência média baixa, os ciclos com as maiores cargas de DQO tiveram as maiores eficiências, entre 48,6% e 65,4%. Além disso, a lagoa de lemnas foi empregada para o polimento do efluente de WC precedido por tanque séptico, que fazem da eficiência de remoção de DQO um parâmetro de baixa preocupação. Além disso, baixas concentrações afluentes, próximas de 60 mg.L^{-1} , tiveram baixa eficiência, já que atingem a capacidade do sistema.

4.1.3.2 Remoção e recuperação de fósforo

Por ser o principal nutriente causador da eutrofização (EPA, 2021), é necessário controlar a concentração de fósforo no efluente. No caso da lagoa de lemnas operada, a eficiência de remoção do fosfato variou de 72,6% a 97,3% durante todo o período de monitoramento, com exceção do Ciclo 4, que apresentou 26,4%, como é apresentado na Figura 15. Os dois menores valores podem estar relacionados com o curto TDH dos respectivos ciclos (7 dias), tendo em vista que os demais ciclos tiveram eficiência superior a 80%. Outro parâmetro que pode ter influenciado é o baixo crescimento relativo, exibido na Figura 12, já que a principal via de remoção desse nutriente nas lagoas de lemnas é pelas plantas. O Ciclo 5 recebeu a maior alimentação, mas teve eficiência de 89,5%.

Figura 15 – Gráfico da concentração e remoção de fosfato



Fonte: O autor (2025)

Apesar de o Ciclo 4 provocar um desvio padrão alto, os dois blocos experimentais juntos tiveram uma eficiência média de 85,13%, como é possível observar na Tabela 8. O Bloco 2 apresentou a maior eficiência média, mas esse resultado pode estar relacionado à mistura do efluente da Configuração 1 com o efluente da Configuração 2, que apresenta concentrações de nutrientes mais baixas. Esses resultados são positivos, se comparados à precipitação química da estruvita, por exemplo, que necessita de concentrações afluente de fosfato superiores a 50 mg.L⁻¹ (Chrispim; Scholz; Nolasco, 2019) para ser economicamente atrativa, além da biomassa de lemnas também poder ser utilizada como biofertilizante.

Tabela 8 – Eficiência de remoção de fosfato por bloco.

Bloco	C _E (mg.L ⁻¹)	C _S (mg.L ⁻¹)	Eficiência (%)
1	13,92 ±6,20	2,93 ±3,51	78,69 ±27,09
2	7,24 ±4,35	0,54 ±0,52	91,56 ±6,25
<i>p</i> -valor	0,055	0,13	0,28
<i>t</i> -valor	2,16	1,65	-1,13
Média	10,58 ±6,19	1,73 ±2,70	85,13 ±19,92

Fonte: O autor (2025).

Considerando a carga, foi possível remover 84,9% dos 133,75 g de fósforo (P-PO₄⁻³) aplicados durante o experimento, que resulta em uma taxa superficial de remoção de 500 g de fósforo por hectare ao dia, Tabela 9. Mesmo que a eficiência do Bloco 1 tenha sido inferior à do Bloco 2, o primeiro foi responsável por remover quase 75% a mais de fósforo que o último. Como já mencionado, o TDH do Ciclo 4 também pode ter influenciado negativamente nesse resultado, de modo que a diferença entre a carga removida dos blocos poderia ser ainda maior se o TDH desse ciclo fosse maior, uma vez que a concentração do fosfato na saída da lagoa ainda estava alta no fim do ciclo.

Tabela 9 – Carga e Taxa Superficial de fósforo (P-PO₄⁻³).

Bloco	Vazão média (L.dia ⁻¹)	Carga de fósforo (g)			Eficiência	Taxa Superficial (kg.(ha.dia) ⁻¹)	
		Aplicada	Removida	Residual		Aplicada	Removida
1	170,5	88,68	72,01	16,67	81,2%	0,84	0,69
2	148,1	45,07	41,51	3,56	92,1%	0,34	0,32
Total	158,1	133,75	113,52	20,23	84,9%	0,57	0,48

Fonte: O autor (2025).

Comparativamente, a cultura de soja no Brasil consome, aproximadamente, 0,11 kg.(ha.dia)⁻¹ de fósforo proveniente de fertilizante inorgânico (Roy et al., 2016). Assim, a lagoa de lemnas consumiu o equivalente a cerca de cinco vezes mais fósforo que a soja, mas com a diferença que foi removido do efluente e não aplicado no solo. A taxa de remoção

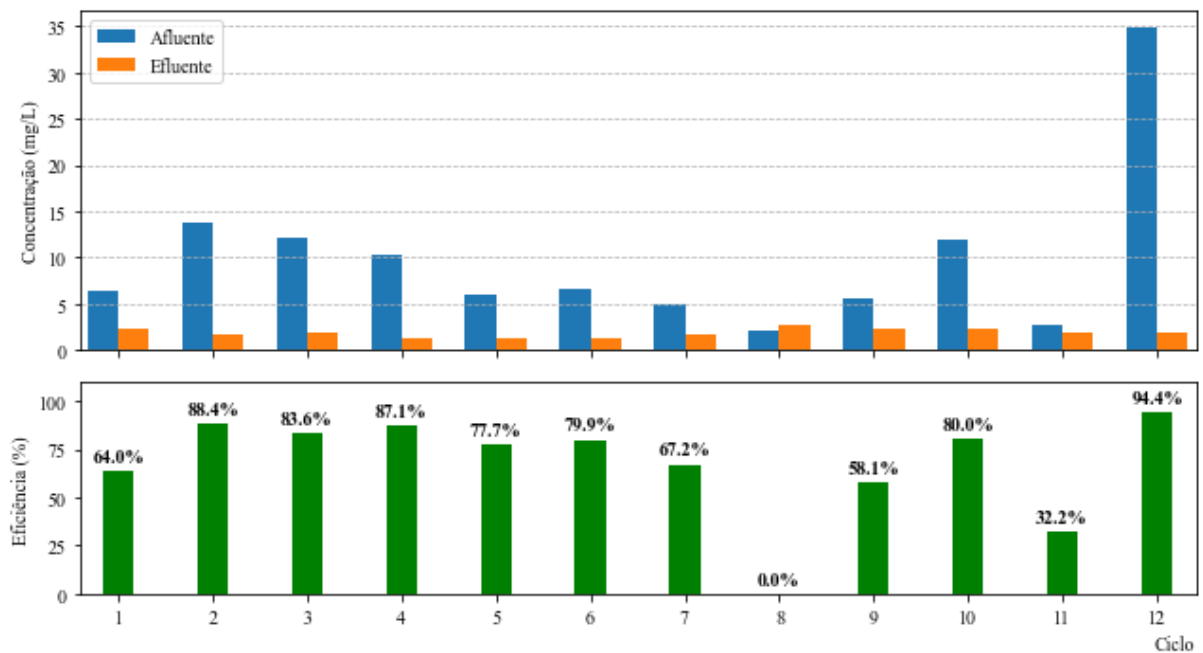
superficial obtida nos experimentos está dentro da faixa obtida por Tu et al. (2021), que é de $0,44 \text{ kg} \cdot (\text{ha} \cdot \text{dia})^{-1}$ a $1,08 \text{ kg} \cdot (\text{ha} \cdot \text{dia})^{-1}$ em diversas estações do ano. Apesar de não ter sido quantificado o teor de fósforo, esse nutriente pode corresponder de 1% a 3% da biomassa seca das macrófitas (Shilton; Powell; Guieysse, 2012; Tu et al., 2021), o que tornaria as lemnas responsáveis por pelo menos 70% do fósforo removido (80,35 g).

4.1.3.3 Remoção e recuperação de nitrogênio

Como efluente de um sistema de tratamento secundário, o esperado é que as concentrações de N-amoniaco sejam baixas. Nesse sentido, o Ciclo 12 foi o único que apresentou concentração alta desse parâmetro na entrada da lagoa de lemnas (quase $35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), mas que, ainda assim, a carga de aplicação superficial do N-amoniaco foi quase dez vezes inferior ao valor recomendado de $50 \text{ kg} \cdot (\text{ha} \cdot \text{dia})^{-1}$ (Mohedano et al., 2012a).

Apesar de não ter sido realizado o acompanhamento do pH na lagoa de lemnas, Bassani et al. (2021) já haviam identificado que o efluente da estação de WC era variavelmente neutro. Com a constatação desse valor nas medições de início e fim de operação, o N-amoniaco não apresentou risco para as lemnas, além da baixa concentração na alimentação da lagoa, já que a sua forma tóxica (NH_3) passa a ser predominante em pH 9,5 (Sperling, 1970).

Figura 16 – Gráfico da concentração e remoção de N-amoniaco



Fonte: O autor (2025)

Referente ao efluente da lagoa de lemnas, todos os ciclos apresentaram concentração inferior a 5 mg.L^{-1} , muito abaixo dos 20 mg.L^{-1} permitidos pela legislação vigente (CONAMA, 2011), e na Tabela 10 pode ser observado um baixo valor de desvio padrão desse parâmetro. O Ciclo 8 foi o único a apresentar concentração na entrada menor do que na saída, mas esse fato pode estar relacionado ao período pós-chuva, que, como já foi mencionado, desencadeou problemas na estação experimental, e a repercussão pode ser observada na baixa concentração de todos os nutrientes nesse período.

Tabela 10 – Eficiência de remoção de N-amoniaco por bloco.

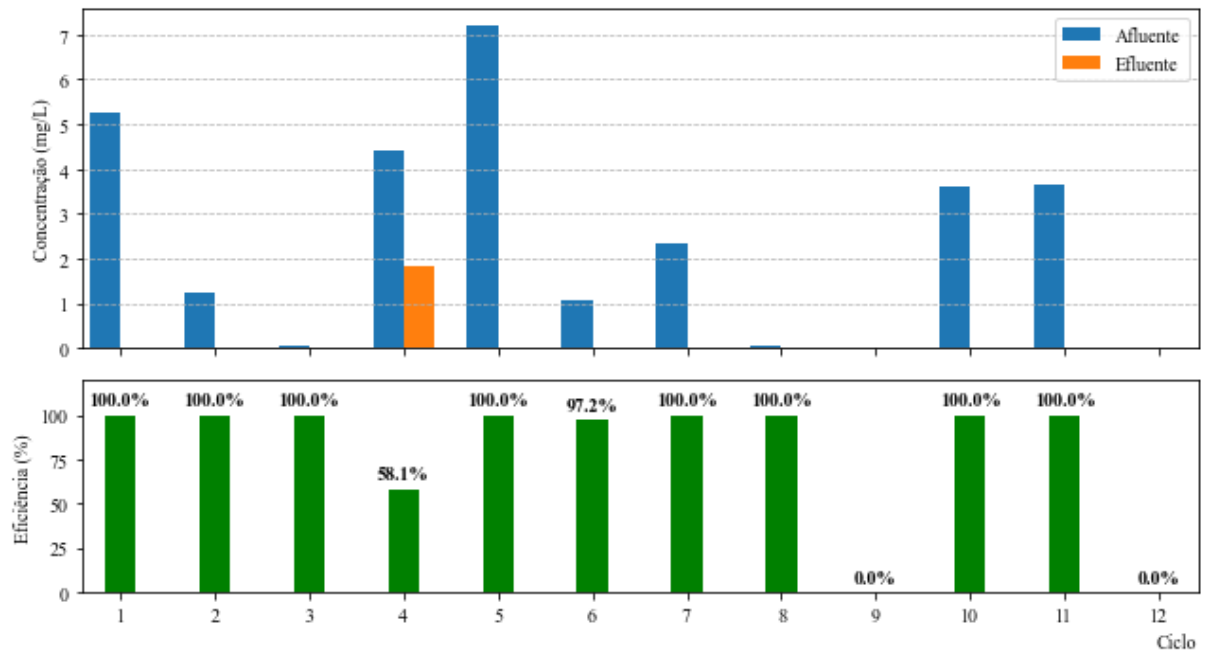
Bloco	C_E (mg.L⁻¹)	C_S (mg.L⁻¹)	Eficiência (%)
1	9,23 ±3,32	1,66 ±0,42	80,10 ±8,89
2	10,37 ±12,52	2,14 ±0,40	55,35 ±34,30
p-valor	0,83	0,067	0,12
t-valor	-0,22	-2,05	1,71
Média	9,80 ±8,76	1,90 ±0,47	65,12 ±34,69

Fonte: O autor (2025).

Comparar os resultados obtidos com outros estudos pode ser improdutivo, já que de acordo com Körner e Vermaat (1998) são influenciados por condições como configuração da lagoa, características do efluente e manejo das lemnas. Além disso, a concentração de N-amoniaco na saída da lagoa foi baixa, e de acordo com Caicedo Bejarano (2005) essa é a fonte preferencial de nitrogênio para as lemnas.

No ciclo do nitrogênio, o nitrito é obtido a partir da oxidação do N-amoniaco, e no caso de um efluente secundário, valores elevados podem indicar a nitrificação incompleta (Sperling, 1970). Na Figura 17 é possível observar que o Bloco 1 apresentou as três maiores concentrações de nitrito na entrada da lagoa de lemnas, mais de 4 mg.L^{-1} . Apesar disso, quase todos os ciclos apresentaram remoção total desse parâmetro (100% de eficiência), ou conversão para nitrato. Novamente, o Ciclo 4 foi o que apresentou divergências em comparação aos demais, 58,15% de eficiência e concentração da saída da lagoa acima próxima de 2 mg.L^{-1} , mas que ainda assim são resultados satisfatórios, considerada a redução do TDH.

Figura 17 – Gráfico da concentração e remoção de nitrito



Fonte: O autor (2025)

Os dois blocos apresentaram alta eficiência na remoção de nitrito, de modo que a média de todo o período analisado foi de 95,54%, sendo que poderia ser mais próxima de 100% se o Ciclo 4 não tivesse sido interrompido em 7 dias. Por outro lado, o Ciclo 6 também foi interrompido, mas teve eficiência superior, que pode estar relacionada com uma concentração afluente menor. Ainda, os Ciclos 9 e 12 não foram considerados nos cálculos da média por não apresentarem nitrito na entrada ou na saída da lagoa.

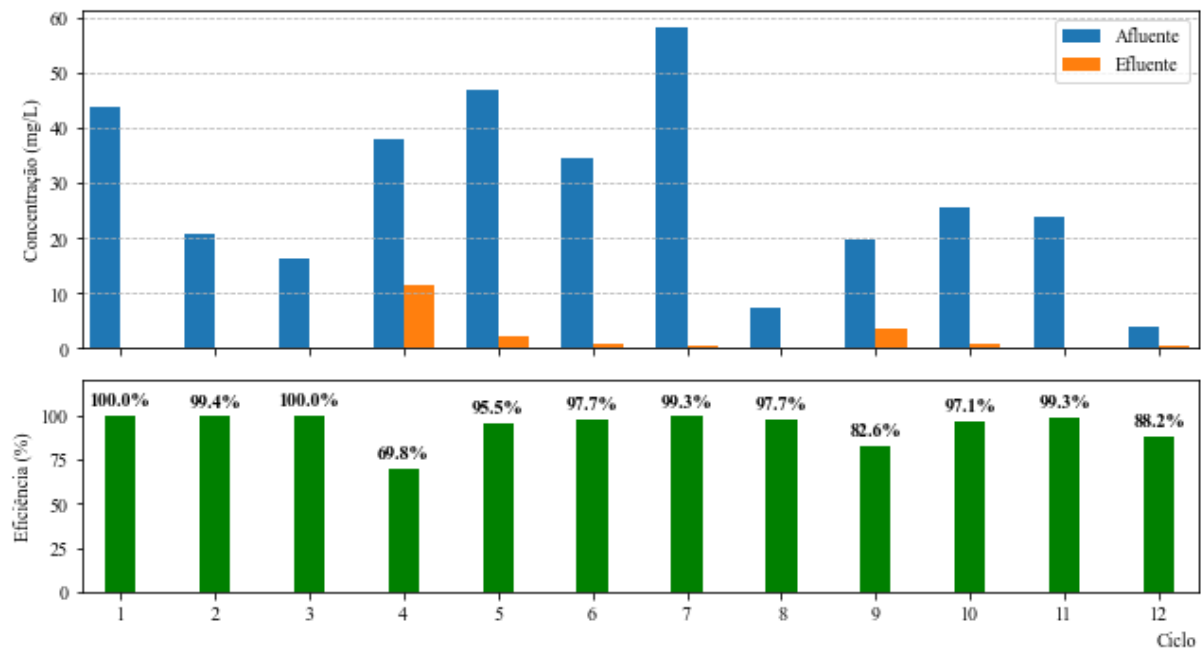
Tabela 11 – Eficiência de remoção de nitrito por bloco.

Bloco	C_e (mg.L ⁻¹)	C_s (mg.L ⁻¹)	Eficiência (%)
1	3,21 ±2,83	0,31 ±0,75	92,56 ±16,90
2	2,41 ±1,68	0,00 ±0,00	100 ±0,00
<i>p</i> -valor	0,63	0,44	0,41
<i>t</i> -valor	0,51	0,82	-0,86
Média	2,89 ±2,36	0,19 ±0,58	95,54 ±13,17

Fonte: O autor (2025).

O nitrato, que é a última fase da oxidação da amônia antes da desnitrificação na forma de N₂, repetiu os mesmos padrões da remoção de nitrito, com o Ciclo 4 apresentando cerca de 10 mg.L⁻¹ na saída da lagoa, mesmo que tenha sido o quarto ciclo a apresentar maior concentração desse parâmetro na alimentação. O Ciclo 7, apesar de ter sido alimentado com quase 60 mg.L⁻¹ de nitrato, teve aproximadamente 100% de eficiência.

Figura 18 – Gráfico da concentração e remoção de nitrato



Fonte: O autor (2025)

No geral, a lagoa apresentou $93,87 \pm 9,26\%$ de eficiência na remoção de nitrato, Tabela 12, com diferença entre as médias dos Blocos de 0,32 pontos percentuais. Considerado o nitrogênio do nitrato ($N-NO_3^-$), a saída da lagoa esteve próxima de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, que, adicionados nitrogênio do nitrito ($N-NO_2^- = 0,06 \text{ mg.L}^{-1}$) e do N-amoniaco ($N-NH_4^+ = 1,56 \text{ mg.L}^{-1}$), somam $2,12 \text{ mgN.L}^{-1}$ em média no efluente.

Tabela 12 – Eficiência de remoção de nitrato por bloco.

Bloco	$C_E (\text{mg.L}^{-1})$	$C_S (\text{mg.L}^{-1})$	Eficiência (%)
1	$33,47 \pm 12,34$	$2,42 \pm 4,49$	$93,72 \pm 11,84$
2	$23,21 \pm 19,38$	$0,90 \pm 1,26$	$94,04 \pm 6,96$
<i>p</i> -valor	0,30	0,44	0,95
<i>t</i> -valor	1,09	0,80	-0,057
Média	$28,34 \pm 16,39$	$1,66 \pm 3,24$	$93,87 \pm 9,26$

Fonte: O autor (2025).

Ao longo do período experimental, foram aplicados, aproximadamente, $0,55 \text{ kg}$ de nitrogênio ($N-NH_4^+$, $N-NO_3^-$, $N-NO_2^-$) proveniente de efluentes domésticos na lagoa de lernas, dos quais foram removidos $87,1\%$, de acordo com valores apresentados na Tabela 13. A taxa de remoção de nitrogênio ($2,02 \text{ kg} \cdot (\text{ha} \cdot \text{dia})^{-1}$) está próxima da menor taxa obtida por Tu et al. (2021) de $2,1 \text{ kg} \cdot (\text{ha} \cdot \text{dia})^{-1}$. A eficiência das lagoas de lernas em removerem nutrientes está relacionada com a colheita da biomassa, já que a principal via é a absorção dos nutrientes pelas plantas, e ao morrer contribuem para o aumento da concentração no efluente (Hasaballah;

Hegazy; Elemam, 2024). A quantidade removida de nitrogênio equivale a uma relação de 6 g N por 1 kg de biomassa fresca colhida no período, ou 6 g por 100 g de biomassa seca, se considerados 90% de remoção de umidade. Entretanto, não é assegurada a conversão desse valor em proteína nas lemnas.

Tabela 13 – Taxa Superficial e Carga de nitrogênio (N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, N-NO₂⁻).

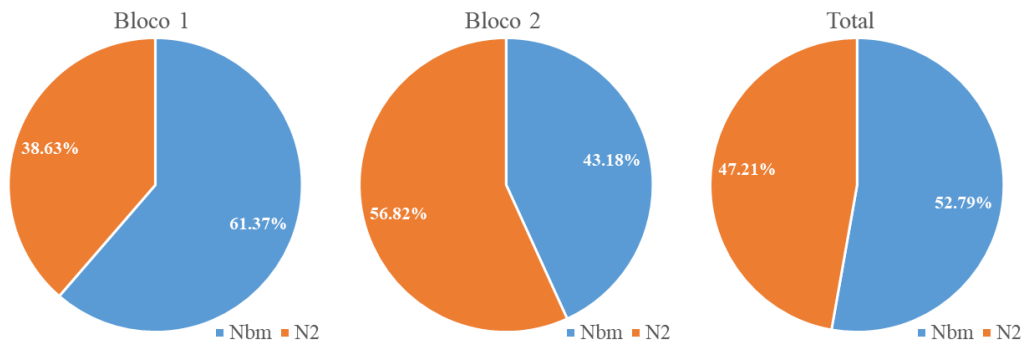
Bloco	Vazão média (L.dia ⁻¹)	Carga de nitrogênio (g)			Eficiência	Taxa Superficial (kg.(ha.dia) ⁻¹)	
		Aplicada	Removida	Residual		Aplicada	Removida
1	170,5	285,56	252,05	33,51	88,3%	2,72	2,40
2	148,1	262,50	225,14	37,36	85,8%	2,00	1,72
Total	158,1	548,06	477,19	70,87	87,1%	2,32	2,02

Fonte: O autor (2025).

Mesmo que não tenha sido realizado o acompanhamento do Oxigênio Dissolvido (OD) durante o período experimental, as leituras do início e fim do monitoramento apontaram para, aproximadamente, 6,0 mg.L⁻¹ na superfície e 5,0 mg.L⁻¹ no fundo da lagoa de lemnas. A baixa demanda de oxigênio e a fotossíntese realizada pelas lemnas, assim como o regime turbulento provocado pelos pulsos de alimentação dos *wetlands*, pela bomba de alimentação da elevatória e pela tubulação de alimentação da lagoa, são características descritas por Sperling (1970) que favorecem o aumento da disponibilidade de oxigênio. A presença de OD tende a inibir a formação de zonas anóxicas propriamente ditas, cuja ausência contribui para a remoção de nitrogênio através da absorção pela biomassa.

Na Figura 19 é apresentada a contribuição das duas principais vias de remoção e recuperação de nitrogênio na lagoa de lemnas, considerado o teor de N medido na biomassa que foi apresentado na Figura 10. A maior parte do nitrogênio do Bloco 1 foi retirada devido à absorção pela biomassa e utilizado para a síntese da proteína e outras biomoléculas (N_{bm}). Mas no período total, a diferença entre as vias foi pequena. Teles et al. (2017) obtiveram apenas 27% de remoção de nitrogênio através da biomassa, mas utilizaram um efluente com cerca de 50 mg.L⁻¹ de N-amoniaco, que pode ter favorecido a desnitrificação (N₂). A desnitrificação em lagoa de lemnas pode ocorrer devido ao biofilme, onde os microorganismos desnitrificantes (Teles et al., 2017) presentes na rizosfera se favorecem de pequenas zonas livres de oxigênio para converter o nitrato em nitrogênio gasoso.

Figura 19 – Percentual de remoção (N2) e recuperação de nitrogênio pela biomassa (Nbm).

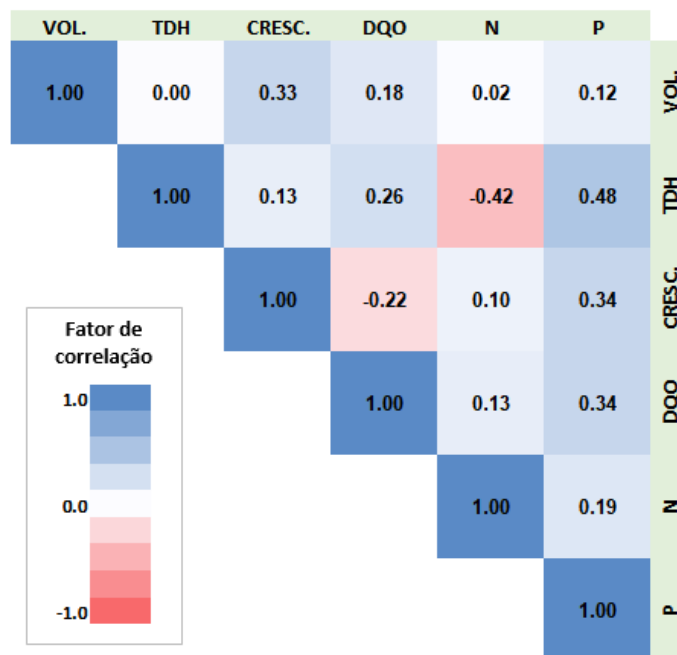


Fonte: O autor (2025)

4.1.3.4 Correlação entre as variáveis de operação e os resultados obtidos

Apesar do estudo não envolver condições controladas de operação, pode ser interessante verificar se existe correlação desses parâmetros e os resultados obtidos em uma lagoa de lemnas piloto exposta às condições reais. A Figura 20 apresenta as correlações obtidas no programa Statistica, onde foram analisados: o volume de alimentação (VOL.), o TDH, a TCR (CRESC.), a eficiência de remoção de DQO, remoção de nitrogênio (N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, N-NO₂⁻) e fósforo (P-PO₄⁻³). Valores próximos de 1 indicam forte correlação positiva, próximos de 0 indicam baixa correlação, e próximos de -1 indicam forte correlação negativa (Vargas, 1996).

Figura 20 – Fator de correlação entre as variáveis de operação e os resultados obtidos



Fonte: O autor (2025)

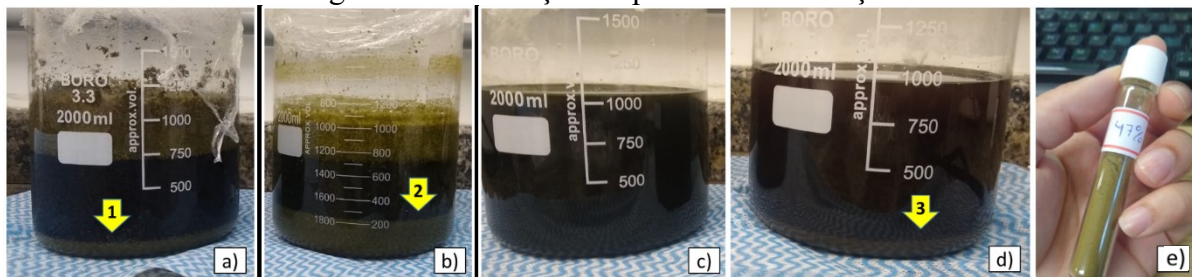
As principais interpretações da Figura 20, referente à remoção de nutrientes, podem ser que:

- a remoção de fósforo foi influenciada positivamente pelo TDH e o TCR, que corrobora a ideia de que a principal via de remoção é a acumulação desse nutriente nas lemnas, e quanto maior o TDH, mais lemnas acumularam o nutriente;
- a remoção de nitrogênio teve uma correlação negativa com o TDH, que vai em contrapartida ao pressuposto de que maior o TDH maior a eficiência de remoção.

4.2 EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA

Como mencionado na metodologia, foi necessário alterar o processo de extração utilizado por Maag et al. (2025), de modo que a Figura 21 ilustra os resultados obtidos em cada etapa da extração. Na hidratação ocorreu a formação de três frações, um precipitado indicado pela seta 1, uma fração líquida e um acúmulo de células na superfície. Já na solubilização, houve um aumento do precipitado, seta 2, e ainda havia células na superfície. Como na etapa de precipitação ácida deveria estar presente apenas a fração líquida da solubilização, todos os sólidos foram removidos pelo filtro de pano, sendo essa a principal alteração em relação a metodologia de Maag et al. (2025). Após a precipitação, ocorreu a sedimentação das proteínas, indicado pela seta 3, mas o volume aparente foi reduzido após a centrifugação. Na liofilização ocorreu a expansão do volume devido ao processo de sublimação da água, e foi necessário macerar o extrato para obter um pó homogêneo.

Figura 21 – Ilustração do processo de extração



Nota: a) hidratação. b) solubilização. c) sobrenadante filtrado.
d) precipitação. e) extrato proteico homogeneizado.

Fonte: O autor (2025).

4.2.1 Teor proteico (TP) do extrato

A biomassa escolhida para extração foi a produzida em setembro de 2024, que atingiu um TP bruto de $27,62 \pm 0,16\%$ na base seca. O resultado das três extrações realizadas pode ser observado na Tabela 14. O TP médio das extrações variou de 45,74% na terceira extração e 48,50% na segunda. Por sua vez, a primeira extração apresentou o menor desvio padrão (DP $\pm 0,29\%$), o que pode caracterizá-la como a mais homogênea.

Tabela 14 – Resultados da extração de proteína.

Extração	TP	R	RP	F-valor	p-valor
1	48,10% $\pm 0,29\%$	3,68%	6,40%		
2	48,50% $\pm 2,30\%$	3,91%	6,87%		
3	45,74% $\pm 1,51\%$	3,03%	5,02%		
Média	47,45% $\pm 1,49\%$	3,54%	6,10%	2,62	0,152

Nota: TP – teor proteico, R – rendimento, RP – rendimento proteico

Fonte: O autor (2025).

A Tabela 15 apresenta o pó de lenha triturada e os extratos obtidos após liofilização. Apesar das réplicas apresentarem diferenças de coloração entre si, o TP não apresentou diferença significativa entre as extrações (p -valor $> 0,05$). Desse modo, pode-se afirmar que o TP médio obtido da solubilização em pH 6,5, e após a purificação em pH 4, para a *Landoltia punctata*, foi de 47,45 g de proteína a cada 100 g de extrato, assim como um rendimento proteico médio de 6,10%. Isso significa que, para cada 40 g iniciais utilizados na extração, foram obtidos 1,42 g de extrato, e dos 11,05 g de proteína bruta, 0,67 g de proteína extraída.

Tabela 15 – Representação dos extratos



Fonte: O autor (2025).

Na literatura, Maag et al. (2025) obtiveram um extrato com 64,5% de proteína e rendimento de 13,6% nas mesmas condições de extração, exceto a concentração inicial de pó de lenha (0,5% m/v, e não 4%) e a espécie utilizada foi a *L. gibba*. Apesar do TP no pó de lenha utilizado por Maag et al. (2025) ter sido próximo de 40,0%, o aumento no TP do extrato

foi de 61,3%, enquanto o aumento obtido nesse estudo foi de 71,8%. A falta de estudos que utilizam as mesmas condições de extração pode limitar as relações entre os resultados. No entanto, em seus estudos, Mirón-Mérida et al. (2024) e Muller, Bernier e Bazinet (2023) utilizaram pH para solubilização de lemnas entre 11 e 11,5 e obtiveram um TP no extrato de 42,2% e 57%, respectivamente, além de terem utilizado adicionalmente ultrassom e aquecimento à 80 °C. Essa diferença de pH e ausência de processos complementares pode ser um atrativo do uso da metodologia adotada, já que o pH 6,5 é próximo do pH natural da solução de 6,3 (Maag et al., 2025), o que diminui o consumo de reagentes e energia.

Em um balanço hídrico simples, apesar de serem consumidos 1,49 m³ de água para extração de 1 kg de proteína, foram tratados 0,64 m³ de efluente a cada 1 kg de proteína extraída, que resulta em um saldo na demanda de água de 0,85 m³ por 1 kg de proteína extraída. Outras fontes proteicas como a soja e a carne bovina consomem, respectivamente, cerca de 11 m³ e 28 m³ de água por 1 kg de proteína (Damerou; Waha; Herrero, 2019).

Os resultados indicam que 93,9% da proteína bruta foi perdida no processo de extração. Para as configurações utilizadas na extração desse estudo, Maag et al., (2025) modelaram uma solubilização de, aproximadamente, 30% da proteína bruta. Com essa porcentagem é possível estimar que 70% da proteína continuou presente na parcela sólida da etapa de solubilização e 23,9% da proteína bruta foi descartada na fração líquida da purificação. Os resíduos gerados na extração ainda são ricos em amido, fibra, proteína e outros compostos nutricionais, de modo que pode ser interessante caracterizá-los para estimar diferentes valorizações além do uso como extrato proteico para alimentação humana.

4.2.2 Propriedades tecno-funcionais

A solução com 1% de proteína de lemna apresentou uma capacidade de espuma de 133,3% em relação ao volume inicial, como é apresentado na Tabela 16. Aos 60 min após a formação de espuma, a solução praticamente retornou ao volume inicial de 15 mL. Muller, Bernier e Bazinet (2023) obtiveram um FC de 194%, mas as condições de extração foram de pH 11 com precipitação em pH 4, e a estabilidade ficou próxima dos 60% do volume de espuma inicial aos 60 min. A estrutura das proteínas e a concentração na solução podem influenciar tanto a capacidade quanto a estabilidade da espuma (Muller; Bernier; Bazinet, 2023).

Tabela 16 – Propriedades tecno-funcionais do extrato proteico.

Réplica	FC (%)	FS ₁₀ (%)	FS ₃₀ (%)	FS ₆₀ (%)	EAI (m ² .g ⁻¹)	ESI (min)
1	133,3	64,29	50,00	42,86	8,22 ±0,07	18,23 ±0,54
2	133,3	64,29	57,14	50,00	8,40 ±0,07	17,87 ±0,10
<i>p</i> -valor					0,0047	0,24
<i>t</i> -valor					-4,08	1,29
Média	133,3	64,29	53,57 ±5,05	46,43 ±5,05	8,30 ±0,12	18,07 ±0,43

Nota: FC – capacidade de formação de espuma, FS_x – estabilidade de espuma aos x minutos.

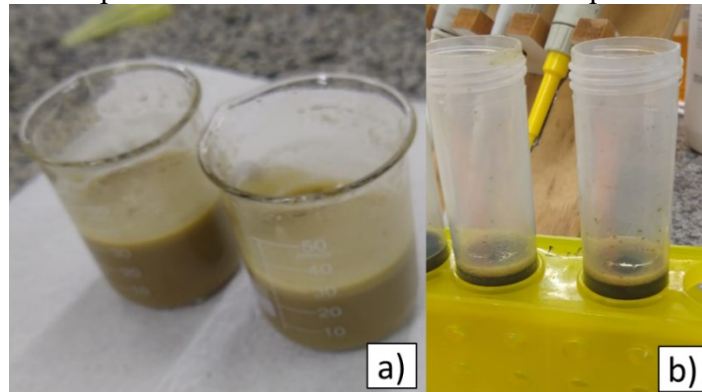
EAI – índice de atividade de emulsificação, ESI – índice de estabilidade de emulsificação

Fonte: O autor (2025).

As proteínas podem assumir papel de agente emulsificante e agregarem sabor e caráter nutritivo aos produtos (Xie et al., 2024). Nesse estudo, apesar das duplicatas terem apresentado diferença significativa entre os valores de EAI (*p*-valor < 0,05), cada grama da proteína extraída possui a capacidade de criar uma interface de 8,30 m² entre as fases de emulsão. Comparar estudos diferentes pode ser desafiador, devido às variações metodológicas de determinação, além das condições de extração (Burger; Zhang, 2019). Para uma proteína vegetal mais convencional, o extrato de ervilha pode variar seu EAI entre 10 e 180 m².g⁻¹ (Burger; Zhang, 2019). As condições de análise também podem influenciar nas propriedades funcionais, como demonstrado por Duangjarus et al. (2022), no qual houve um aumento da atividade emulsificante do extrato proteico de lemna ao diminuir o pH da solução para 4, igualando a capacidade da proteína do leite bovino, que diminuiu em pH ácido.

Enquanto a espuma tem aplicação em bolos e sobremesas, a emulsão envolve produtos que necessitam de uma boa interação entre água e óleos (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009), como linguiças e hambúrgueres. Essas propriedades podem ser influenciadas pelas condições de extração, que nesse estudo podem não ter desnaturado as estruturas das proteínas o suficiente, uma vez que o valor obtido de EAI foi inferior ao menor valor encontrado na literatura para a proteína de ervilha. Se o objetivo da extração for para aplicação em produtos comerciais, processos de hidrólise enzimática podem favorecer a diminuição do peso molecular e quebra das proteínas (Belitz; Grosch; Schieberle, 2009) e aprimorar as propriedades tecno-funcionais. Na Figura 22 estão ilustradas as propriedades tecno-funcionais do extrato obtido.

Figura 22 – Propriedades tecno-funcionais do extrato proteico de lemna



Nota: a) Emulsão formada após 10 minutos; b) espuma após 60 minutos.
Fonte: O autor (2025).

As baixas variações de pH e ausência de processo térmico na extração da proteína nesse estudo são menos agressivas ao extrato e ao meio ambiente quando comparados ao pH alcalino de 11 e temperatura de 70 °C utilizado por Muller, Bernier e Bazinet (2023), o que pode facilitar o aumento de escala a nível industrial. O próprio uso de uma farinha proteica, como é feito com a semente de abóbora, pode ter potencial, já que produtos farináceos inteiramente naturais estão em expansão no mercado (Fatima et al., 2025). Além disso, elevar o TP em mais de 70% em uma biomassa com menos de um terço de proteína bruta pode ser um atrativo para o combate à fome como complemento alimentar, e pode se aliar à proteína de semente de girassol que possui até 66% de TP (Hadidi; Aghababaei; McClements, 2024).

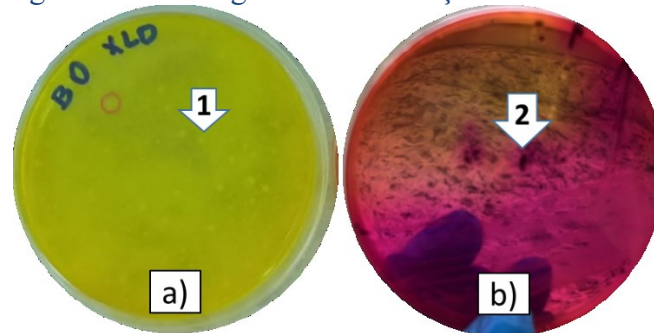
4.3 SEGURANÇA SANITÁRIA

Dos APÊNDICE I – CONTAGEM DE *Salmonella enterica* ao APÊNDICE III – CONTAGEM DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, são apresentadas as contagens do plaqueamento realizado para patógenos.

Não foi identificada a presença de *E. coli*, *Salmonella enterica* e *Enterococcus faecalis* em nenhuma das diluições, tanto para a biomassa bruta quanto para o efluente na entrada e na saída da lagoa de lemnas. Entretanto, as amostras de biomassa nas diluições 10^1 e 10^2 apresentaram formação de colônias de coloração amareladas, indicadas pela seta 1 na Figura 23a, no meio específico da metodologia da *Salmonella*, onde deveriam ser formadas colônias escuras caso positivo, como indicado pela seta 2 na Figura 23b. De acordo com Corry, Curtis e Baird (2003), essas colônias podem indicar a presença de “*Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Kluyvera*, *Klebsiella*, *Hafnia*, *Serratia* e *Proteus*, e a espécie *Yersinia enterocolitica*”. Como foi realizado o plaqueamento em meio de cultura de *E. coli* e não foi

identificada a sua presença, restam as demais possibilidades, de modo que seria necessário realizar testes bioquímicos para obter um resultado mais preciso (Corry; Curtis; Baird, 2003).

Figura 23 – Divergências na detecção de *Salmonella*



Nota: a) colônia formada na amostra da biomassa.
b) colônia que deveria ser formada para indicar presença de *Salmonella*.
Fonte: O autor (2025).

Assim, utilizar as lemnas produzidas nas condições similares a desse experimento pode não apresentar risco sanitário esperado pela contaminação de patógenos, como é regulamentado pela legislação vigente (RDC 724/2022 e IN 161/2022), e os limites são apresentados na Tabela 17. É importante destacar que os itens foram escolhidos de acordo com as prováveis aplicações comerciais do extrato, mas os limites são aplicados ao produto final comercializado.

Tabela 17 – Limite de patógenos.

Item	Descrição	<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacter</i>
4d)	Proteínas vegetais texturizadas com ou sem adição de outros ingredientes	25 g n = 5, c = 0 m = aus.	1 g n = 5, c = 2 m = 10, M = 10 ²	-
15a)	Suplementos em pó*	25 g n = 10, c = 0 m = aus.	-	1 g n = 5, c = 0 m = 10.
23b)	Alimentos a serem consumidos após adição de líquido sem emprego de calor	25 g n = 5, c = 0 m = aus.	1 g n = 5, c = 2 m = 10, M = 10 ²	-

Nota: n = número de amostras, c = número de amostras permissíveis acima do limite mínimo e abaixo do limite máximo, m = limite mínimo, M = limite máximo

* deve ser avaliado *Estafilococcus coagulase* e bolores e levedura

Fonte: O autor (2025).

Como não foram detectados os microorganismos patogênicos indicados no efluente na entrada e na saída, assim como na biomassa de lenna produzida, assume-se que a eficiência de remoção tenha ocorrido pelo tratamento nos WC. Mesmo que o estabelecimento dos patógenos nas raízes das macrófitas plantadas possa diminuir ao longo do período de operação (Wu et al., 2016), as plantas e o leito filtrante (Kadam et al., 2008) da estação utilizada continuam a

remover *E. coli*, *Salmonella* e *Enterococcus* presentes no esgoto.

A concentração de metais pesados no efluente também não representa risco, já que na medição realizada foram encontradas concentrações relativamente baixas, como apresentado na Tabela 18, se comparadas a resolução vigente. Além disso, esses metais podem servir como nutrientes para o crescimento das lemnas, como é indicado pela OECD (2002) para testes toxicológicos, e os valores no efluente foram próximos dos recomendados no meio de cultura.

Tabela 18 – Concentração (mg.L^{-1}) de metais pesados na entrada e saída da lagoa.

Réplica	Cu	Fe	Mg	Mn	Zn
Entrada	0,079	0,142	3,430	0,118	0,0258
Saída	0,075	N/D	1,809	0,013	0,0210
Eficiência (%)	5,1%	-	47,3%	88,9%	18,6%
Meio de cultura (OECD, 2002)	0,0013	0,17	7,4	0,056	0,011
CONAMA 430/2011 (Brasil, 2011)	1,0	15,0	-	1,0	5,0

Nota: Não foram detectadas as presenças de Cd e Cr
Fonte: O autor (2025).

Como a presença de magnésio no efluente não é estabelecida pela resolução ambiental vigente, e esse foi o metal mais abundante, foi verificada a presença na biomassa conforme metodologia de Tedesco et al. (1985). Foram detectados apenas 0,24 % de magnésio na base seca de lemnas, que possuem a tendência de diminuir o valor no extrato, mas podem servir como potencial nutritivo.

5 CONCLUSÃO

Através dos experimentos realizados, do monitoramento do sistema, a análise dos resultados obtidos e da leitura de referências bibliográficas, foi possível concluir que, referente:

- Ao polimento de efluente doméstico:
 - As lagoas de lemnas atingiram alta eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo proveniente do efluente doméstico tratado no WC, para as duas configurações;
 - Consequentemente, a Configuração 1 dos WC forneceu a quantidade de nutrientes necessária para a biomassa atingir crescimento específico e teor proteico próximos do valor da literatura;
 - Períodos de chuvas podem impactar na vazão e na operação de um Sistema baseado na Natureza;
 - A principal via de remoção de nitrogênio foi a recuperação na biomassa, que pode estar relacionada à ausência de uma zona anóxica bem definida e a redução das demandas de oxigênio, bem como a oxigenação do efluente.
- À extração do concentrado proteico:
 - O efluente doméstico tratado por WC foi suficiente para produzir uma biomassa com teor proteico próximo das lemnas cultivadas em meio de cultura próprio;
 - O método de extração utilizado resultou em um aumento do TP no extrato maior do que o obtido pela referência metodológica, na qual foi utilizada uma lemna com TP bruto maior;
 - A *Landoltia punctata* apresentou resultados próximos aos das demais espécies quando utilizada para extrair proteína;
 - As propriedades tecno-funcionais analisadas do extrato foram semelhantes às proteínas de outras matrizes vegetais.
- À segurança sanitária:
 - A biomassa de lemnas pode ser alternativa segura como matéria prima para a extração de proteína destinada ao consumo quando cultivada em efluente de *wetland* construído;
 - A presença de metais pesados na biomassa pode não representar perigo ao consumo humano;

- As concentrações desses metais no efluente dos WC pode favorecer o crescimento de lemnas, já que são uma necessidade nutritiva dessas plantas.

6 RECOMENDAÇÕES

Para estudos futuros, recomenda-se:

- No polimento de efluente doméstico:
 - Executar um melhor controle do TDH na lagoa de lemnas, inclusive com o dimensionamento da influência da água da chuva no enchimento do reservatório de alimentação;
 - Quantificar a emissão de nitrogênio gasoso e óxido nitroso para compreender melhor o balanço de massa da remoção de nitrogênio;
 - Diminuir o intervalo de quantificação do teor proteico e incluir a medição de fósforo na biomassa para avaliar a contribuição das lemnas na recuperação desses nutrientes;
 - Manter cargas mais elevadas de nutrientes no afluente do sistema para uma maior produção de proteína
- Na extração do concentrado proteico:
 - Analisar a influência de diferentes TP bruto na extração da proteína;
 - Otimizar a quebra das células das lemnas visando eliminar ou reduzir a cobertura flutuante após a etapa de solubilização;
 - Caracterizar os resíduos gerados na extração para aproveitamento da biomassa e diminuição do impacto ambiental;
 - Avaliar diferentes propriedades tecno-funcionais, como a digestibilidade proteica *in vitro* do extrato;
- Na segurança sanitária:
 - Avaliar o decaimento de patógeno na biomassa submetida ao processo de extração da proteína, através da inoculação de microorganismos;
 - Verificar a presença de fármacos, microplástico ou outros poluentes de preocupação emergente;
 - Analisar a toxicidade do extrato proteico;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKOWANOU, Akuemaho Virgile Onésime *et al.* The combined effect of three floating macrophytes in domestic wastewater treatment. **Scientific African**, v. 20, p. e01630, jul. 2023.
- AL- HASHIMI, Mohammed Ali; JODA, Rasha Azeez. Treatment of Domestic Wastewater Using Duckweed Plant. **Journal of King Saud University - Engineering Sciences**, v. 22, n. 1, p. 11–18, jan. 2010.
- AL-NOZAILY, F.; ALAERTS, G.; VEENSTRA, S. Performance of duckweed-covered sewage lagoons—I. Oxygen balance and COD removal. **Water Research**, v. 34, n. 10, p. 2727–2733, jul. 2000.
- AOAC (ORG.). **Official methods of analysis of AOAC International: OMA**. 22nd edition ed. Oxford New York, NY: AOAC International, 2023.
- ARDEN, Sam *et al.* Towards the definition of treatment wetland pathogen log reduction credits. **Science of The Total Environment**, v. 957, p. 177613, dez. 2024.
- BAEK, GahYoung; SAEED, Maham; CHOI, Hyung-Kyoon. Duckweeds: their utilization, metabolites and cultivation. **Applied Biological Chemistry**, v. 64, n. 1, p. 73, dez. 2021.
- BASSANI, Leandro *et al.* Feeding mode influence on treatment performance of unsaturated and partially saturated vertical flow constructed wetland. **Science of The Total Environment**, v. 754, p. 142400, fev. 2021.
- BELITZ, Hans-Dieter; GROSCHE, Werner; SCHIEBERLE, Peter. **Food chemistry**. 4th rev. and extended ed ed. Berlin: Springer, 2009.
- BERNIER, Marie-Ève; THIBODEAU, Jacinthe; BAZINET, Laurent. Enzymatic Hydrolysis of Water Lentil (Duckweed): An Emerging Source of Proteins for the Production of Antihypertensive Fractions. **Foods**, v. 13, n. 2, p. 323, 19 jan. 2024.
- BLUEM, V.; PARIS, F. Aquatic food production modules in bioregenerative life support systems based on higher plants. **Advances in Space Research**, v. 27, n. 9, p. 1513–1522, jan. 2001.
- BOG, Manuela *et al.* Genetic characterization and barcoding of taxa in the genera *Landoltia* and *Spirodela* (Lemnaceae) by three plastidic markers and amplified fragment length polymorphism (AFLP). **Hydrobiologia**, v. 749, n. 1, p. 169–182, maio 2015.
- BRASIL; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Resolução RDC Nº 724, DE 1º DE JULHO DE 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. . 1 jul. 2022.
- BRASIL; CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-CONAMA. Resolução 357 de 13/05/2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. . 13 maio 2011.
- BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE; FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Wetlands construídos aplicados no tratamento de esgoto sanitário**. [S.l.]: Copiart, 2019.

BURGER, Travis G.; ZHANG, Yue. Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, p. 25–33, abr. 2019.

CAICEDO BEJARANO, Julia Rosa. **Effect of operational variables on nitrogen transformations in duckweed stabilization ponds**. London: Taylor & Francis [u.a.], 2005.

CALLEGARI, Ben; STOKNES, Per Espen. **People and Planet: 21st century sustainable population scenarios and possible living standards within planetary boundaries**. Earth4All, , 2023.

CAO, Xuan Hieu; FOUROUNJIAN, Paul; WANG, Wenqin (ORGS.). **The Duckweed Genomes**. Cham: Springer International Publishing, 2020.

CESCHIN, Simona; CRESCENZI, Marco; IANNELLI, Maria Adelaide. Phytoremediation potential of the duckweeds *Lemna minuta* and *Lemna minor* to remove nutrients from treated waters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 13, p. 15806–15814, maio 2020.

CHEN, Qian *et al.* Improving Production of Bioethanol from Duckweed (*Landoltia punctata*) by Pectinase Pretreatment. **Energies**, v. 5, n. 8, p. 3019–3032, 10 ago. 2012.

CHENG, Jay J.; STOMP, Anne-M. Growing Duckweed to Recover Nutrients from Wastewaters and for Production of Fuel Ethanol and Animal Feed. **CLEAN – Soil, Air, Water**, v. 37, n. 1, p. 17–26, jan. 2009.

CHRISPIM, Mariana Cardoso; SCHOLZ, Miklas; NOLASCO, Marcelo Antunes. Phosphorus recovery from municipal wastewater treatment: Critical review of challenges and opportunities for developing countries. **Journal of Environmental Management**, v. 248, p. 109268, out. 2019.

CLACK, Kevin *et al.* Transfer of coliform bacteria to duckweed harvested from anaerobic baffled reactor effluent. **Bioresource Technology Reports**, v. 8, p. 100314, dez. 2019.

COCON, Kamyll Dawn; LUIS, Patricia. The potential of RuBisCO in CO₂ capture and utilization. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 105, p. 101184, nov. 2024.

COIMBRA, Eder Carlos Lopes *et al.* Using wastewater treatment performance, biomass and physiological plant characteristics for selection of a floating macrophyte for phytoremediation of swine wastewater through the integrative Entropy-Fuzzy AHP-TOPSIS method. **Journal of Water Process Engineering**, v. 53, p. 103793, jul. 2023.

CORRY, Janet E. L.; CURTIS, G. D. W.; BAIRD, R. M. (ORGS.). **Handbook of culture media for food microbiology**. Rev. ed ed. Amsterdam : Boston: Elsevier, 2003.

DAMERAU, Kerstin; WAHA, Katharina; HERRERO, Mario. The impact of nutrient-rich food choices on agricultural water-use efficiency. **Nature Sustainability**, v. 2, n. 3, p. 233–241, 4 mar. 2019.

DE ANDRADE MORAES, Mirene Augusta *et al.* Outflow dynamics in a French system of vertical wetlands operating with an extended feeding cycle. **Water Science and Technology**, v. 79, n. 4, p. 699–708, 15 fev. 2019.

DE MATOS, Flávia Tavares *et al.* Duckweed Bioconversion and Fish Production in Treated Domestic Wastewater. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 26, n. 1, p. 49–59, 2 jan. 2014.

DHAMARATANA, Sirajit; METHACANON, Pawadee; CHAROENSIDDHI, Suvimol. Chemical composition and in vitro digestibility of duckweed (*Wolffia globosa*) and its polysaccharide and protein fractions. **Food Chemistry Advances**, v. 6, p. 100867, mar. 2025.

DI CAPUA, Francesco *et al.* Phosphorous removal and recovery from urban wastewater: Current practices and new directions. **Science of The Total Environment**, v. 823, p. 153750, jun. 2022.

DINH, Thi To Uyen *et al.* Nutrient removal by duckweed from anaerobically treated swine wastewater in lab-scale stabilization ponds in Vietnam. **Science of The Total Environment**, v. 722, p. 137854, jun. 2020.

DUANGJARUS, Natchaya *et al.* Antimicrobial and Functional Properties of Duckweed (*Wolffia globosa*) Protein and Peptide Extracts Prepared by Ultrasound-Assisted Extraction. **Foods**, v. 11, n. 15, p. 2348, 5 ago. 2022.

EMBRAPA. **Soja. Embrapa Soja**, 2023. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1#:~:text=O%20Brasil%20%C3%A9%20o%20maior,foi%20de%203.508%20kg%2Fha.>>. Acesso em: 14 jul. 2025

EPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECT AGENCY. **Life Cycle and Cost Assessments of Nutrient Removal Technologies in Wastewater Treatment Plants**. Estados Unidos da América: [S.n.].

EPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECT AGENCY. **Nutrient Pollution**. , [S.d.]. Disponível em: <https://19january2017snapshot.epa.gov/nutrientpollution_.html>

EPAGRI/CIRAM. **Agroconnect**. , [S.d.]. Disponível em: <<https://ciram.epagri.sc.gov.br/agroconnect/>>. Acesso em: 24 jun. 2025

FATIMA, Haya *et al.* Pumpkin seeds; an alternate and sustainable source of bioactive compounds and nutritional food formulations. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 137, p. 106954, jan. 2025.

FEMEENA, Pandara Valappil; HOUSE, Gregory R.; BRENNAN, Rachel A. Creating a Circular Nitrogen Bioeconomy in Agricultural Systems through Nutrient Recovery and Upcycling by Microalgae and Duckweed: Past Efforts and Future Trends. **Journal of the ASABE**, v. 65, n. 2, p. 327–346, 2022.

FOOD AND AGRICULTURE ORGTANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **The State of Food Security and Nutrition in the World 2023**. [S.l.]: FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO;, 2023.

GARCÍA, Jenny A.; PAREDES, Diego; CUBILLOS, Janneth A. Effect of plants and the combination of wetland treatment type systems on pathogen removal in tropical climate conditions. **Ecological Engineering**, v. 58, p. 57–62, set. 2013.

GAUR, Rubia Zahid; SUTHAR, Surindra. Nutrient scaling of duckweed (*Spirodela polyrhiza*) biomass in urban wastewater and its utility in anaerobic co-digestion. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 107, p. 138–146, abr. 2017.

GE, Hengwei; WANG, Yizhe; ZHAO, Xihong. Research on the drug resistance mechanism of foodborne pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 162, p. 105306, jan. 2022.

GONZÁLEZ-GARCÍA, E.; MARINA, M. L.; GARCÍA, M. C. Impact of the use of pressurized liquids on the extraction and functionality of proteins and bioactives from brewer's spent grain. **Food Chemistry**, v. 359, p. 129874, out. 2021.

GUNDOGAN, Rukiye; CAN KARACA, Asli. Physicochemical and functional properties of proteins isolated from local beans of Turkey. **LWT**, v. 130, p. 109609, ago. 2020.

HADIDI, Milad; AGHABABAEI, Fatemeh; MCCLEMENTS, David Julian. Sunflower meal/cake as a sustainable protein source for global food demand: Towards a zero-hunger world. **Food Hydrocolloids**, v. 147, p. 109329, fev. 2024.

HASABALLAH, A. F.; HEGAZY, T. A.; ELEMAM, D. A. Performance evaluation of *Pistia stratiotes* and *Lemna minor* for wastewater phytoremediation: optimum conditions for pilot-scale. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 21, n. 1, p. 467–480, jan. 2024.

HEITZMAN, Beatriz S. *et al.* Duckweed application in nature-based system for water phytoremediation and high-value coproducts at family agrisystem from a circular economy perspective. **Science of The Total Environment**, v. 919, p. 170714, abr. 2024.

HIRAKURI, Marcelo Hiroshi; LAZZAROTTO, Joelsio José. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro [recurso eletrônico]**. 1. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014.

IATROU, Evangelia I.; STASINAKIS, Athanasios S.; ALOUPI, Maria. Cultivating duckweed *Lemna minor* in urine and treated domestic wastewater for simultaneous biomass production and removal of nutrients and antimicrobials. **Ecological Engineering**, v. 84, p. 632–639, nov. 2015.

INGUANEZ, Lara *et al.* Extractions of Protein-Rich *Alaria esculenta* and *Lemna minor* by the Use of High-Power (Assisted) Ultrasound. **Sustainability**, v. 15, n. 10, p. 8024, 15 maio 2023.

KADAM, Avinash M. *et al.* Pathogen removal from municipal wastewater in Constructed Soil Filter. **Ecological Engineering**, v. 33, n. 1, p. 37–44, maio 2008.

KARIMI, Behrooz; EHRAMPOUSH, Mohammad Hassan; JABARY, Hossin. Indicator pathogens, organic matter and LAS detergent removal from wastewater by constructed subsurface wetlands. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 12, n. 1, p. 52, dez. 2014.

KÖRNER, S.; LYATUU, G. B.; VERMAAT, J. E. The influence of *Lemna gibba* L. on the degradation of organic material in duckweed-covered domestic wastewater. **Water Research**, v. 32, n. 10, p. 3092–3098, out. 1998.

KÖRNER, S.; VERMAAT, J. E. The relative importance of *Lemna gibba* L., bacteria and algae for the nitrogen and phosphorus removal in duckweed-covered domestic wastewater. **Water Research**, v. 32, n. 12, p. 3651–3661, dez. 1998.

KÖRNER, Sabine *et al.* The effect of pH variation at the ammonium/ammonia equilibrium in wastewater and its toxicity to *Lemna gibba*. **Aquatic Botany**, v. 71, n. 1, p. 71–78, set. 2001.

KOTAMRAJU, Amulya; LOGAN, Mohanakrishnan; LENS, Piet N. L. Coupling protein recovery to methane and lactic acid production to valorize duckweed used in selenate remediation. **Environmental Technology & Innovation**, v. 33, p. 103515, fev. 2024.

LES, Donald H.; LANDOLT, E.; CRAWFORD, D. J. Systematics of the Lemnaceae (duckweeds): Inferences from micromolecular and morphological data. **Plant Systematics and Evolution**, v. 204, n. 3–4, p. 161–177, 1997.

LI, Lei *et al.* Effects of duckweed (*Spirodela polyrrhiza*) remediation on the composition of dissolved organic matter in effluent of scale pig farms. **Journal of Environmental Sciences**, v. 55, p. 247–256, maio 2017.

LÓPEZ-POZO, Marina; ADAMS, William W.; DEMMIG-ADAMS, Barbara. Lemnaceae as Novel Crop Candidates for CO₂ Sequestration and Additional Applications. **Plants**, v. 12, n. 17, p. 3090, 28 ago. 2023.

MAAG, Patricia *et al.* Optimization of Protein Extraction from Duckweed Using Different Extraction Processes. **Food and Bioprocess Technology**, 24 fev. 2025.

MAGWAZA, Shirly Tentile *et al.* Hydroponic technology as decentralised system for domestic wastewater treatment and vegetable production in urban agriculture: A review. **Science of The Total Environment**, v. 698, p. 134154, jan. 2020.

MARKOU, Giorgos *et al.* Using agro-industrial wastes for the cultivation of microalgae and duckweeds: Contamination risks and biomass safety concerns. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 4, p. 1238–1254, jul. 2018.

MIRÓN-MÉRIDA, Vicente Antonio *et al.* The Effect of Ultrasound on the Extraction and Functionality of Proteins from Duckweed (*Lemna minor*). **Molecules**, v. 29, n. 5, p. 1122, 1 mar. 2024.

MOHEDANO, R. A. *et al.* Nutrient recovery from swine waste and protein biomass production using duckweed ponds (*Landoltia punctata*): Southern Brazil. **Water Science and Technology**, v. 65, n. 11, p. 2042–2048, 1 jun. 2012a.

MOHEDANO, R. A. *et al.* Using full-scale duckweed ponds as the finish stage for swine waste treatment with a focus on organic matter degradation. **Water Science and Technology**, v. 69, n. 10, p. 2147–2154, 1 maio 2014.

MOHEDANO, Rodrigo A. *et al.* High nutrient removal rate from swine wastes and protein biomass production by full-scale duckweed ponds. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 98–104, maio 2012b.

- MOHEDANO, Rodrigo A. *et al.* Does duckweed ponds used for wastewater treatment emit or sequester greenhouse gases? **Science of The Total Environment**, v. 691, p. 1043–1050, nov. 2019.
- MOYO, S.; DALU, J. M.; NDAMBA, J. The microbiological safety of duckweed fed chickens: a risk assessment of using duckweed reared on domestic wastewater as a protein source in broiler chickens. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C**, v. 28, n. 20–27, p. 1125–1129, jan. 2003.
- MULLER, Tristan; BERNIER, Marie-Ève; BAZINET, Laurent. Optimization of Water Lentil (Duckweed) Leaf Protein Purification: Identification, Structure, and Foaming Properties. **Foods**, v. 12, n. 18, p. 3424, 14 set. 2023.
- NAWAJ ALAM, Shahrukh; SINGH, Bhaskar; GULDHE, Abhishek. Aquatic weed as a biorefinery resource for biofuels and value-added products: Challenges and recent advancements. **Cleaner Engineering and Technology**, v. 4, p. 100235, out. 2021.
- NIEUWLAND, Maaïke *et al.* Isolation and Gelling Properties of Duckweed Protein Concentrate. **ACS Food Science & Technology**, v. 1, n. 5, p. 908–916, 18 jun. 2021.
- NITIWUTTITHORN, Chotika *et al.* Effects of alkaline and ultrasonication on duckweed (*Wolffia arrhiza*) protein extracts' physicochemical and techno-functional properties. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 8, p. 1343615, 20 fev. 2024.
- NUNES, Amanda Silva *et al.* Removal of pathogens at small-scale constructed wetlands under long-term operation. **Ecological Engineering**, v. 221, p. 107769, dez. 2025.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT - OECD. **OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS: REVISED PROPOSAL FOR A NEW GUIDELINE 221 - Lemna sp. Growth Inhibition Test.** , jul. 2002.
- OSAMA, Rania *et al.* Mechanistic and economic assessment of polyester wastewater treatment via baffled duckweed pond. **Journal of Water Process Engineering**, v. 35, p. 101179, jun. 2020.
- PAGLIUSO, Débora *et al.* Duckweeds as Promising Food Feedstocks Globally. **Agronomy**, v. 12, n. 4, p. 796, 26 mar. 2022.
- PANNARD, Alexandrine *et al.* Why are there so many definitions of eutrophication? **Ecological Monographs**, v. 94, n. 3, p. e1616, ago. 2024.
- PAOLACCI, Simona *et al.* Wastewater valorisation in an integrated multitrophic aquaculture system; assessing nutrient removal and biomass production by duckweed species. **Environmental Pollution**, v. 302, p. 119059, jun. 2022.
- PAPADOPOULOS, Frantzis H.; TSIHRINTZIS, Vassilios A.; ZDRAGAS, Antonios G. Removal of faecal bacteria from septage by treating it in a full-scale duckweed-covered pond system. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 12, p. 3130–3135, dez. 2011.
- PASOS-PANQUEVA, Johan; BAKER, Alison; CAMARGO-VALERO, Miller Alonso. Unravelling the impact of light, temperature and nutrient dynamics on duckweed growth: A meta-analysis study. **Journal of Environmental Management**, v. 366, p. 121721, ago. 2024.

PEREIRA, Antônio Cavalcante; MULLIGAN, Catherine N. Practices for Eutrophic Shallow Lake Water Remediation and Restoration: A Critical Literature Review. **Water**, v. 15, n. 12, p. 2270, 17 jun. 2023.

PETERSEN, Finn *et al.* Influence of the Nitrate-N to Ammonium-N Ratio on Relative Growth Rate and Crude Protein Content in the Duckweeds *Lemna minor* and *Wolffiella hyalina*. **Plants**, v. 10, n. 8, p. 1741, 23 ago. 2021.

PROSRIDEE, Kakanang *et al.* Optimum aquaculture and drying conditions for *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm. **Heliyon**, v. 9, n. 9, p. e19730, set. 2023.

ROMAN, B.; BRENNAN, R. A. A beneficial by-product of ecological wastewater treatment: An evaluation of wastewater-grown duckweed as a protein supplement for sustainable agriculture. **Ecological Engineering**, v. 142, p. 100004, 2019.

ROY, Eric D. *et al.* The phosphorus cost of agricultural intensification in the tropics. **Nature Plants**, v. 2, n. 5, p. 16043, 18 abr. 2016.

SANTA CATARINA; CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE-CONSEMA. Resolução 181 de 02/08/2021. Estabelece as diretrizes para os padrões de lançamento de efluentes. . 2 ago. 2021.

SHARMA, JaiGopal *et al.* Production potential of greater duckweed *Spirodela polyrhiza* (L. Schleiden) and its biochemical composition evaluation. **Aquaculture**, v. 513, p. 734419, nov. 2019.

SHILTON, Andrew N.; POWELL, Nicola; GUIEYSSE, Benoit. Plant based phosphorus recovery from wastewater via algae and macrophytes. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 6, p. 884–889, dez. 2012.

SHINGARE, Rita P. *et al.* Constructed wetland for wastewater reuse: Role and efficiency in removing enteric pathogens. **Journal of Environmental Management**, v. 246, p. 444–461, set. 2019.

SOÑTA, Marcin *et al.* Duckweed from a Biorefinery System: Nutrient Recovery Efficiency and Forage Value. **Energies**, v. 13, n. 20, p. 5261, 10 out. 2020.

SOÑTA, Marcin *et al.* Quantitative and Qualitative Traits of Duckweed (*Lemna minor*) Produced on Growth Media with Pig Slurry. **Agronomy**, v. 13, n. 7, p. 1951, 24 jul. 2023.

SPERLING, Marcos Von. **Introducao a Qualidade Das Aguas E Ao Tratamento De Esgotos**. [S.l.]: Editora UFMG, 1970.

STADTLANDER, T. *et al.* Dilution rates of cattle slurry affect ammonia uptake and protein production of duckweed grown in recirculating systems. **Journal of Cleaner Production**, v. 357, p. 131916, jul. 2022.

STADTLANDER, T. *et al.* Duckweed production on diluted chicken manure. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 33, n. 1, p. 128–138, 14 ago. 2023.

SU, Haifeng *et al.* Use of Duckweed (*Landoltia punctata*) as a Fermentation Substrate for the Production of Higher Alcohols as Biofuels. **Energy & Fuels**, v. 28, n. 5, p. 3206–3216, 15 maio 2014.

SULAIMAN, Nurul Shaera *et al.* Duckweed protein: Extraction, modification, and potential application. **Food Chemistry**, v. 463, p. 141544, jan. 2025.

SURESH, Keerthana *et al.* Recent advancement in water quality indicators for eutrophication in global freshwater lakes. **Environmental Research Letters**, v. 18, n. 6, p. 063004, 1 jun. 2023.

TAO, Xiang *et al.* High flavonoid accompanied with high starch accumulation triggered by nutrient starvation in bioenergy crop duckweed (*Landoltia punctata*). **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 166, dez. 2017.

TEDESCO, M. J. *et al.* **Análises de solo, plantas e outros materiais.** [S.l.]: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Departamento Solos, 1985.

TEIXEIRA, Renata Fialho *et al.* Unveiling the potential of pressurized liquid extraction for recovering protein fractions from broken black beans: Insights into thermal and structural properties. **Food Hydrocolloids**, v. 149, p. 109649, abr. 2024a.

TEIXEIRA, Renata Fialho *et al.* Prospects on emerging eco-friendly and innovative technologies to add value to dry bean proteins. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 64, n. 28, p. 10256–10280, 5 nov. 2024b.

TELES, C. C. *et al.* Ecology of duckweed ponds used for nutrient recovery from wastewater. **Water Science and Technology**, v. 75, n. 12, p. 2926–2934, 28 jun. 2017.

THINGUJAM, Doni; PAJEROWSKA-MUKHTAR, Karolina M.; MUKHTAR, M. Shahid. Duckweed: Beyond an Efficient Plant Model System. **Biomolecules**, v. 14, n. 6, p. 628, 27 maio 2024.

TONON, Gustavo *et al.* Pre treatment of Duckweed Biomass, Obtained from Wastewater Treatment Ponds, for Biogas Production. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 7, p. 2363–2369, out. 2017.

TRAN, Hai Chi *et al.* Effects of Enzyme Types and Extraction Conditions on Protein Recovery and Antioxidant Properties of Hydrolysed Proteins Derived from Defatted *Lemna minor*. **Applied Science and Engineering Progress**, 28 maio 2021.

TU, Qi *et al.* Long-term effect of sediment on the performance of a pilot-scale duckweed-based waste stabilization pond. **Science of The Total Environment**, v. 770, p. 145216, maio 2021.

UN - UNITED NATIONS. **Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development.** , 2015. Disponível em: <<https://sdgs.un.org/2030agenda>>. Acesso em: 4 dez. 2024

UN - UNITED NATIONS. **Mais de 4,2 bilhões de pessoas vivem sem acesso a saneamento básico.** , 2020. Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/101526-mais-de-42-bilh%C3%B5es-de-pessoas-vivem-sem-acesso-saneamento-b%C3%AAsico>>. Acesso em: 4 dez. 2024

UN - UNITED NATIONS. **World Population Prospects 2022: Summary of Results**.
Erscheinungsort nicht ermittelbar: UN - United Nations, 2022.

UNEP - UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME. **Nature-based Solutions: Opportunities and Challenges for Scaling Up**. [S.l.: S.n.].

UNEP - UNITED NATIONS ENVIRONMENTAL PROGRAM. **Sistemas Alimentares são a chave para acabar com a fome no mundo**. , 2021. Disponível em: <<https://www.unep.org/pt-br/noticias-e-reportagens/reportagem/sistemas-alimentares-sao-chave-para-acabar-com-fome-no-mundo>>

VARGAS, Milton. **Metodologia Da Pesquisa Tecnologica**. [S.l.]: Editora Globo, 1996.

WANG, Yibo *et al.* Comparison of protein extraction methods for 2DE-based proteomic analysis of duckweed *Spirodela polyrhiza*, a small aquatic model plant. **Aquatic Botany**, v. 163, p. 103216, abr. 2020.

WU, Shubiao *et al.* Sanitation in constructed wetlands: A review on the removal of human pathogens and fecal indicators. **Science of The Total Environment**, v. 541, p. 8–22, jan. 2016.

XIE, Yufeng *et al.* The Formation of Protein–Chitosan Complexes: Their Interaction, Applications, and Challenges. **Foods**, v. 13, n. 22, p. 3572, 8 nov. 2024.

XU, Jiele; CHENG, Jay J.; STOMP, Anne-M. Growing *Spirodela polyrrhiza* in Swine Wastewater for the Production of Animal Feed and Fuel Ethanol: A Pilot Study. **CLEAN – Soil, Air, Water**, v. 40, n. 7, p. 760–765, jul. 2012.

XU, Jiele; SHEN, Genxiang. Growing duckweed in swine wastewater for nutrient recovery and biomass production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 2, p. 848–853, jan. 2011.

XU, Jingwen *et al.* Duckweed (Lemnaceae) for potentially nutritious human food: A review. **Food Reviews International**, v. 39, n. 7, p. 3620–3634, 25 ago. 2023.

ZHAO, Yonggui *et al.* Potential of duckweed in the conversion of wastewater nutrients to valuable biomass: A pilot-scale comparison with water hyacinth. **Bioresource Technology**, v. 163, p. 82–91, jul. 2014a.

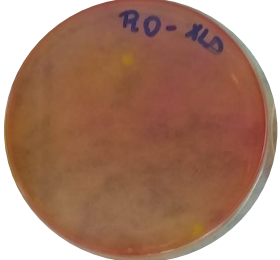


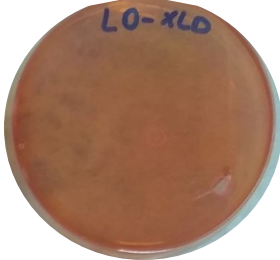
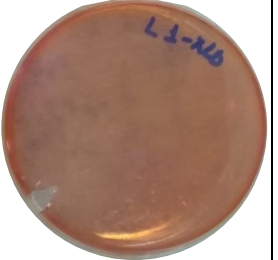
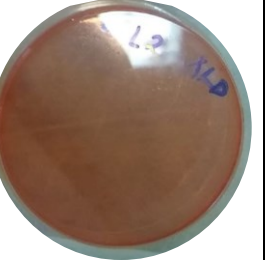
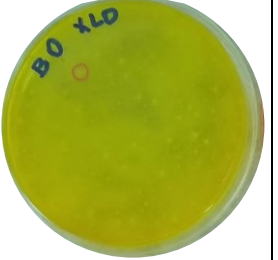
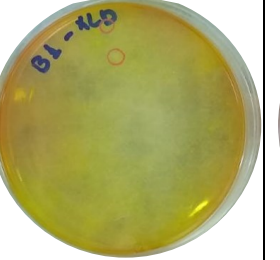
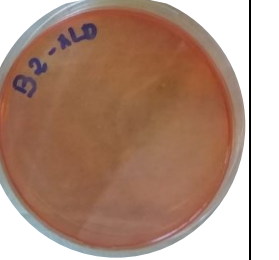
ZHAO, Zhao *et al.* The influence of duckweed species diversity on biomass productivity and nutrient removal efficiency in swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 167, p. 383–389, set. 2014b.

ZHAO, Zhao *et al.* The influence of duckweed species diversity on ecophysiological tolerance to copper exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 164, p. 92–98, jul. 2015.

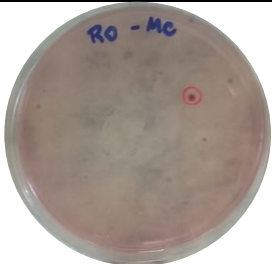
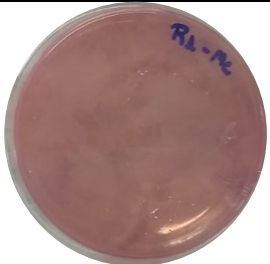

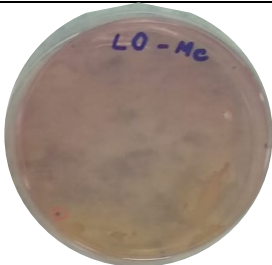
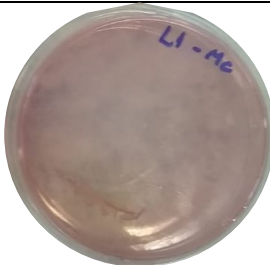
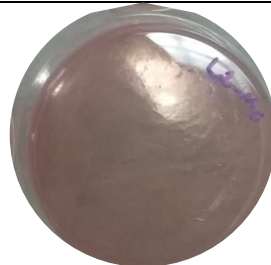
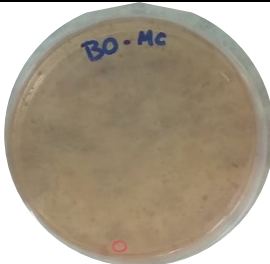
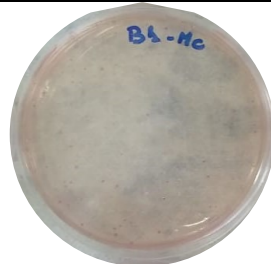
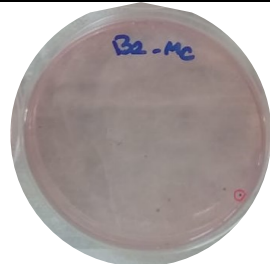
ZHOU, Yuzhen *et al.* Duckweeds for Phytoremediation of Polluted Water. **Plants**, v. 12, n. 3, p. 589, 29 jan. 2023.

ZOU, Li *et al.* The efficiency of enhanced nitrogen and phosphorus removal in a vertical flow constructed wetland using alkaline modified corn cobs as a carbon source. **Environmental Technology & Innovation**, v. 35, p. 103690, ago. 2024.

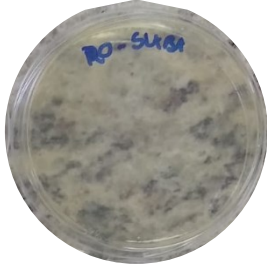
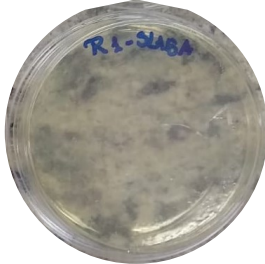
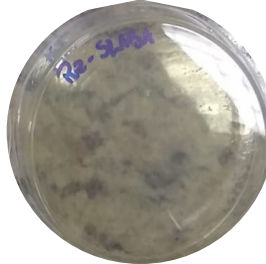
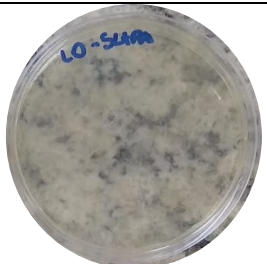
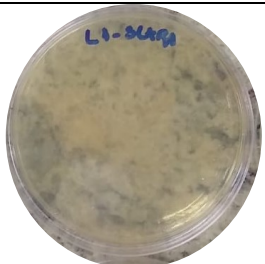
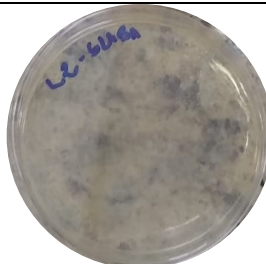
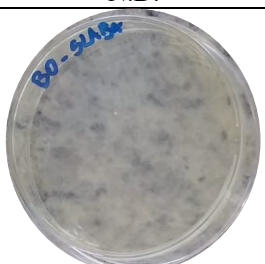
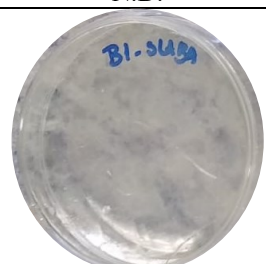
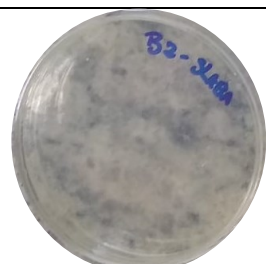
APÊNDICE I – CONTAGEM DE *Salmonella enterica*

	Diluição			
	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³
Afluente (R)	 N.D.	 N.D.	 N.D.	-
Efluente (L)	 N.D.	 N.D.	 N.D.	-
Lemna bruta (B)	-	 N.D.	 N.D.	 N.D.

APÊNDICE II – CONTAGEM DE *E. coli*

	Diluição			
	10^0	10^1	10^2	10^3
Afluente (R)	 N.D.	 N.D.	 N.D.	-
Efluente (L)	 N.D.	 N.D.	 N.D.	-
Lemna bruta (B)	-	 N.D.	 N.D.	 N.D.

APÊNDICE III – CONTAGEM DE *Enterococcus faecalis*

	Diluição			
	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³
Afluente (R)	 N.D.	 N.D.	 N.D.	-
Efluente (L)	 N.D.	 N.D.	 N.D.	-
Lemna bruta (B)	-	 N.D.	 N.D.	 N.D.