



**INFLUÊNCIA DE FATORES AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE UMA
PLANTA AQUÁTICA DE EMERGENTE INTERESSE PARA A INDÚSTRIA
ALIMENTAR**

Diana Elena Sosa Giménez

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção
do Grau de Mestre em Tecnologia Ambiental no âmbito da dupla diplomação com a
Universidade Tecnológica Federal do Paraná*

Orientado por:

Dr. Márcio Carochó

Dr. Manuel Joaquim Sabença Feliciano

Dr. Laércio Frare

Bragança

2023

AquaProt

Esta tese de mestrado foi elaborada no âmbito do projeto “CMFPE3; EXPL2021CIMO_04; AquaProt – Influence of abiotic factors in the production of *Lemna minor*, and aquatic plant of emerging interest for the food industry as a sustainable vegetable protein producer”, financiado por meios próprios do Centro de Investigação de Montanha (CIMO).



Agradecimentos

A oportunidade de cursar uma graduação surgiu quando ainda estava em processo de recuperação de uma perca irreparável, o sonho de ter uma formação universitária foi um sonho de infância, mas parecia cada vez mais distante, quando tive esta oportunidade me agarrei a ela com toda força, porque além de ser a possibilidade de cumprir um sonho era a possibilidade de curar a minha dor, foi assim que eu vi, hoje para mim, toda esta trajetória representa exatamente isso, a cura, a luz do fundo do túnel a esperança que dias bons voltam, a certeza de que tudo é possível e que nunca estamos sós. Ainda durante a graduação momentos difíceis apareceram, mas consegui continuar com fé e determinação, pelo qual hoje chegou o momento de re agradecer a todos que fizeram parte desta caminhada.

A Deus, pela sua infinita bondade para comigo todos os dias da minha vida, guiando meus passos com sensatez e determinação.

Aos meus orientadores, Professor Márcio Carochi, pelos ensinamentos, paciência e comprometimento com sua sublime função de transmitir conhecimentos. Ao professor Manuel Feliciano pelos ensinamentos, conselhos e pelas várias conversas alentadoras em tempos difíceis. Ao professor Laercio Frare, que sempre esteve disposto a me auxiliar, compartilhando contribuições positivas, neste e noutros trabalhos.

As instituições; Instituto Politécnico de Bragança e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela oportunidade de estar hoje aqui. Aos docentes e servidores de ambas as instituições, em especial ao Professor Artur Gonçalves pelos ensinamentos e compreensão em tempos delicados, aos professores; Elias Lira dos Santos, Cristhiane Rodhe, Márcia Bartolomeu pelos ensinamentos, pela motivação e inserção ao meio científico.

Aos meus pais Maria e Bernave, que mesmo estando longe estiveram perto, acreditando em mim em todo o momento, sem duvidar que este dia chegaria. Pai o dia chegou!

Aos meus irmãos Diego, Delia, Santiago e Camila, pelo apoio desde o início, pela admiração e pelo respeito para comigo.

Aos meus sobrinhos, Anderson e Diego por me brindar os vossos sorrisos. As minhas queridas sobrinhas Andrielle e Michele, pelo apoio e pela disposição de caminhar ao meu lado nesta etapa.

A minha segunda mãe Dona Leopoldina, por me oferecer um amor tão puro e verdadeiro que ensina sem dizer palavras.

Aos meus amigos que fiz durante a graduação Carlos Vitor, Murilo Torres, Thiago da Rosa pelos vários momentos compartilhados, vocês são muito importantes para mim. Aos que conheci aqui em Bragança e farão parte da minha história sempre, em especial a Thales Perdigão, Laís Serafini, Yago Cipoli, Luis Felipe, Ana Martins e Grace Vilares.

A equipe de pesquisadores do Centro de Investigação de Montanha (CIMO), pelos ensinamentos, apoio e contribuição neste trabalho.

Por último ao meu porto seguro, minha amada família! Ao meu esposo João Paulo pelo infinito apoio, paciência e pelo amor que me fortalece dia a dia. A minhas filhas Gabriela e Johanna pela compreensão, por confiar e acreditar em mim, vocês são minha inspiração! Ao meu filho Henrique, que partiu mais cedo, más o amor e a saudades permanecem intacto.

A todos que em algum momento estiveram do meu lado, incentivando e torcendo para que eu possa atingir meu objetivo. Muito obrigada!!

*Feliz aquele que transfere o que
sabe e aprende o que ensina.*

Cora Coralina

Resumo

A intensificação da produção de alimentos devido ao crescimento da população humana tem gerado preocupações em relações aos impactos ambientais. Atrelados a estas atividades, a indústria alimentar tem enfrentado diversos desafios para encontrar equilíbrio entre produção e sustentabilidade. Uma das formas de redução da pegada ecológica do planeta é a busca de modos de produção de alimentos com base em proteínas que sejam ambientalmente menos agressivas, sendo que a produção destes nutrientes com base animal, lideram os principais impactos nas três grandes esferas do ambiente, água, solo e ar. Como alternativa têm sido estudadas as proteínas de origem vegetal, sendo que atualmente já existe uma diversidade de plantas usadas como fonte de proteína, contudo muitas continuam a representar altos impactos ambientais, além de serem sensíveis a alterações climáticas.

Neste trabalho, plantas aquáticas da espécie *Lemna minor* foram estudadas preliminarmente como fontes de proteínas para a indústria alimentar, pois apresentam um rápido crescimento, alto teor de proteína em peso seco, resistência a ambientes perturbados, e são comestíveis.

Foram testados diferentes fotoperíodos (4, 8, e 12 h de luz) e diferentes valores de pH (6,5 e 9,5) para entender a resposta da planta em diferentes condições ambientais, a nível da cor, da planta, da atividade antioxidante e da quantidade de proteína bruta. As plantas apresentaram um teor de proteínas entre 10 a 33%, tendo sido observada a maior produção em condições de pH 6,5 (33%) e fotoperíodo de 8hs (23%). Em relação à cor, o pH 6,5 revelou um verde mais intenso enquanto o fotoperíodo de 8 horas foi aquele que mostrou um tom mais intenso. Em relação à atividade antioxidante, o pH mais agressivo (9,5) mostrou uma maior atividade antioxidante, enquanto o fotoperíodo com melhor potencial antioxidante foi o de quatro horas.

Pode concluir-se que a *Lemna minor* é uma planta que se consegue adaptar a vários ambientes, mas que a produção de proteínas é sobretudo favorecida por condições de pH mais perto da neutralidade e um fotoperíodo de 8 horas de luz.

Palavras Chaves; *Lemna minor*, condições de cultivo, proteína vegetal, bioatividades.

Abstract

The intensification of food production due to human population growth has raised concerns regarding environmental impacts. Linked to these activities, the food industry has faced several challenges in finding a balance between production and sustainability.

One of the ways to reduce the planet's ecological footprint is to search for ways to produce plant-based proteins that are less environmentally aggressive, since the animal-based production of these nutrients leads the main impacts on the three major spheres of the environment, water, soil and air.

As an alternative, proteins of plant origin have been studied, and currently there is already a diversity of plants used as a source of protein, however many continue to represent high environmental impacts, in addition to being sensitive to climate change. For this reason, plants resistant to disturbed environments should be studied, with aquatic plants being an alternative that should be considered.

In this work, aquatic plants of the *Lemna minor* species were preliminarily studied as sources of protein for the food industry, as they have fast growth, high protein content in dry weight, resistance to disturbed environments, and are edible. Different photoperiods (4, 8, and 12 hours of light) and different pH values (6.5 and 9.5) were tested to understand the plant's response in terms of external color, antioxidant activity and amount of crude protein.

The plants showed a protein content between 10 and 33%, with the highest production at pH 6.5 (33%) and photoperiod of 8 hours (23%). Regarding color, pH 6.5 revealed a more intense green while the 8-hour photoperiod showed a more vivid tone. Regarding antioxidant activity, the most aggressive pH (9.5) showed greater antioxidant activity, while the photoperiod with better antioxidant activity was the one with 4 hours of light.

It can be concluded that *Lemna minor* is a plant that can adapt to various environments, but that protein production is mainly favored by pH conditions closer to neutrality and a photoperiod of 8 hours of light.

Key words; *Lemna minor*, cultivation conditions, vegetable protein, bioactivities.

Índice

AquaProt	i
Agradecimentos	ii
Resumo	v
Abstract	vi
Índice De Figuras	ix
Índice de Tabelas	x
Lista de Abreviaturas	xi
1. Introdução	1
1.1 Sustentabilidade da Indústria Alimentar	1
1.1.1 Problemática da Carne	1
1.1.2 Plantas como Alternativas à Carne	2
1.2 Plantas flutuantes.....	4
1.2.2 <i>Lemna minor</i> L.....	5
1.2.3 Plantas Flutuantes para Extração de Proteína Vegetal.....	6
1.2.4 Interação Planta - Fatores Abióticos e Resistência a Fatores Adversos	6
2. Objetivos	8
3. Metodologia	9
3.1 Crescimento das Plantas Aquáticas	9
3.1.1 Preparação para os Ensaios	9
3.2 Análise de pH	11
3.3 Fotoperíodo	11
3.4 Determinação da Atividade Antioxidante	12
3.4.1 TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances).....	12
3.4.2 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).....	13
3.5 Análise de Proteína Bruta.....	14
3.6 Determinação da Humidade	16
3.7 Análises da Cor Externa	16
3.8 Análise Estatística	17
4. Resultado e Discussão	19
4.1 Condições de Crescimento	19
4.2 Análises de pH – Ensaios Preliminares	19
4.3 Fotoperíodo – Ensaios Preliminares	21
4.4 Avaliação da Atividade Antioxidante dos Extratos.	23

4.5	Proteína Bruta.....	25
4.6	Humidade	26
4.7	Cor Externa	26
5.	<i>Lemna minor</i> L. e Sustentabilidade	31
5.1.1	<i>Lemna minor</i> L. e os objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS).....	31
5.1.2	<i>Lemna minor</i> L. e os Gases de Efeito Estufa (GEE).....	37
6.	Conclusão	41
7.	Referências.....	43

Índice De Figuras

Figura 1: <i>Lemna minor</i> L.....	5
Figura 2: Montagem dos aquários	9
Figura 3: Amostrador YSI ProDSS	10
Figura 4: Adição das Lemnas nos aquários	11
Figura 5: Aquários envoltos em cartolinas escuras	12
Figura 6: Leitor de microplacas, SPECTRO STAR nano	13
Figura 7: Ensaio de DPPH.....	14
Figura 8: Ensaio Proteína	15
Figura 9: Destilador Kjeldahl	15
Figura 10: Análises cor Externa	17
Figura 11: Diferença na Coloração das Plantas em função do pH.	19
Figura 12: Crescimento das plantas em função de diferentes pH.....	20
Figura 13: Crescimento <i>Lemna minor</i> L. em função do Fotoperíodo	21
Figura 14: Plantas com Substrato na Raiz.....	22
Figura 15: Representação das cores das Lemnas sujeitas a diferentes valores de pH com conversão das coordenadas L*, a* e b* para cor RGB	28
Figura 16: Representação das cores das Lemnas sujeitas a diferentes fotoperíodos com conversão das coordenadas L*, a* e b* para cor RGB	29
Figura 17: ODS atingíveis pela utilização de <i>Lemna minor</i> L.	31
Figura 18: Definição do objetivo.....	38
Figura 19: Análises do sistema da exploração (Berço a Porta)	39
Figura 20: Análises do sistema de produção de <i>Lemna minor</i> (Berço a Porta).....	40

Índice de Tabelas

Tabela 1: Características iniciais da água.....	9
Tabela 2: Avaliação da atividade antioxidante para as plantas sujeitas a dois pH diferentes.	23
Tabela 3: Avaliação da atividade antioxidante das plantas sujeitas a três fotoperíodos diferentes	24
Tabela 4: Resultado do teor de proteína bruta presente nas plantas em diferentes condições.....	25
Tabela 5: Avaliação de humidade nas plantas sujeitas a diferentes condições de crescimento.....	26
Tabela 6: Representação das dimensões da cor exterior das Lemna sujeitas a diferentes valores de pH.....	27
Tabela 7: Representação das dimensões da cor exterior das Lemna sujeitas a diferentes fotoperíodos.....	29
Tabela 8: Portfolio de referências sobre aplicações de <i>Lemna minor</i> L. como Suplemento Alimentar.....	32
Tabela 9: Portfolio de referências sobre aplicações de <i>Lemna minor</i> L. como Saneamento, Biorremediação e Eco toxicidade.	34
Tabela 10: Portfolio de referências sobre aplicações de <i>Lemna minor</i> L. como Matéria-Prima como Bioenergia.	36

Lista de Abreviaturas

a*	Vermelhidão (vermelho-verde)
ACV	Análise de Ciclo de Vida
ANOVA	Análise de variância
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
b*	Amarelidão (amarelo-azul)
(C*)	Croma
CE	Comissão Europeia
CIE	Comissão Internacional de Iluminação
CH ₄	Metano
CO ₂	Dióxido de Carbono
IC ₅₀	Concentração que inibi 50 das espécies reativas
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change
CuSO ₄	Sulfato de cobre
DPPH	2,2,-difeníl-1-picríl-hidrazilo
FAO	Food and Agriculture Organization
FeSO ₄	Sulfato Ferroso
GEE	Gases de Efeito Estufa
HCl	Ácido Clorídrico
Hue	Matiz
K ₂ SO ₄	Sulfato de Potássio
L*	Luminosidade
MDA	Malondialdeído
NH ₃	Amoníaco
NO ₂	Nitrito

NO ₃	Nitrato
N ₂ O	Oxido Nitroso
nm	Nanômetro
OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
ODS	Objetivos do Desenvolvimento Sustentável
pH	Potencial hidrogeniónico
TBARS	Espécies Reativas do Ácido Tiobarbitúrico
ΔE	Variação de cor absoluta

1. Introdução

1.1 Sustentabilidade da Indústria Alimentar

Com o rápido crescimento da população humana e a crescente pressão dos impactos ambientais, torna-se cada vez mais difícil conseguir estratégias conciliadoras para atender à demanda por alimentos, especificamente nos atuais sistemas de produção (Mohamed et al., 2021). Os produtos alimentares são bens de primeira necessidade, e a sua produção é crescente para colmatar as necessidades nutricionais da humanidade (Beckman & Countryman, 2021; Sgroi, 2022).

Nos últimos tempos o setor agrícola e alimentar lutam para desempenhar um melhor papel para um harmonioso convívio entre os principais eixos da sustentabilidade, o ambiente, a economia e a sociedade (David et al., 2022; Gambino et al., 2019; Hervieu & Purseigle, 2009). Concomitantemente, a indústria alimentar está cada vez mais dinâmica para se adaptar e atender às necessidades dos consumidores, introduzindo inovações que visam a sustentabilidade (Chakka et al., 2021). Com a melhoria da qualidade de vida, principalmente nos países em desenvolvimento, a necessidade de aumentar a produção de alimentos nutricionalmente mais ricos aumenta, isto implica em produzir mais alimentos de base proteica (Chakka et al., 2021; Mohamed et al., 2021).

1.1.1 Problemática da Carne

O maior consumo de proteínas nos países desenvolvidos faz-se através do consumo de proteínas de base animal. Contudo, essa produção envolve impactos ambientais diretos e indiretos de grande dimensão. O impacto direto relaciona-se com a produção dos animais, como a mudança nas características dos solos, intensificação do efeito estufa, excreção de nutrientes, uso excessivo de produtos veterinários que promovem contaminação de águas superficiais e subterrâneas. Os impactos indiretos estão associados ao uso de energia fóssil para produção e transporte intercontinental de rações, desmatamentos, além da pegada hídrica durante o processo do abate e industrialização (Hocquette & Chatellier, 2011).

A produção de carne na década de 20, assim como outros produtos de origem animal têm grandes impactos nas três principais questões ambientais do mundo, perda de biodiversidade, interrupção do ciclo de azoto e mudanças climáticas (de Boer & Aiking, 2019) Cerca de 30% do aquecimento global e mudanças climáticas têm origem na indústria alimentar (Ahmad et al., 2022). Além disso, em 2019 o relatório publicado pelo *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC), adverte que no total 70% das extrações de água doce do mundo são para a agropecuária, estimando que a pegada hídrica por quilograma de carne seja de 10,5 m³, sendo um terço da água usada para toda a produção animal destinada ao gado de corte, somado a outros 19% que são para gado leiteiro (Calvo Buendia et al., 2019).

Uma forma de reduzir a pegada ecológica no planeta é a redução do consumo de proteína animal, na Comunidade Europeia o seu consumo é muito superior à proteína vegetal, preferência que está enraizada na dieta assim como na vida social e cultural dos povos, fazendo com que as atuais produções de carnes contribuam significativamente para as alterações climáticas (Henn et al., 2022).

Em relação a Portugal, estima-se que um adulto consome, aproximadamente, 100 gramas de carne a mais por dia, o que é 85% acima do recomendado para uma dieta saudável (Lopes et al., 2018). Situação que se repete em vários países a nível global e coloca importantes desafios para proteção e preservação da saúde, do ambiente e do clima (de Boer & Aiking, 2018).

Segundo a FAO (*Food and Agriculture Organization*) o peso da carne bovina no consumo total diminuirá ligeiramente em países desenvolvidos até 2029, um total de 0,6% anualmente (Carriquiry et al., 2010; OCDE -FAO, 2020), estimativa que condiz com as previsões do relatório da comissão europeia (CE) que prevê que a taxa de crescimento anual do consumo de carne bovina está estimada em maior percentagem para os países em desenvolvimento (Levert et al., 2012).

1.1.2 Plantas como Alternativas à Carne

As alternativas à base de carne vegetal são fontes mais sustentáveis de proteínas e podem imitar o sabor, textura, cor e perfil nutricional de tipos específicos de carnes

(Choudhury et al., 2020). A maioria das substituições da carne derivam da proteína de soja pelas características específicas que esta possui, como a retenção de água, absorção de gordura e capacidades emulsionantes, além de que estão disponíveis a baixo custo (Ahmad et al., 2022).

Atualmente, para alternativas à carne também são usadas plantas como o trigo, cogumelos e algas (Kumar et al., 2017). Entre as alternativas mencionadas, em relação a produção de algas uma das maiores desvantagens é o alto custo, uma vez que são necessárias etapas de cultivo, extração e biorefinação. Infelizmente, esses processos não são compensados pelo preço final de venda do produto (de Souza et al., 2019).

A produção de cogumelos também apresenta desvantagens, é considerada ambientalmente problemática, pois o sistema depende da compostagem de matéria orgânica vegetal e animal, um procedimento que exige tempo e cuidados rigorosos na cadeia produtiva (Bechara et al., 2007).

Em relação ao trigo ainda envolve grandes impactos ambientais na qualidade da água do solo e do ar. Tratando-se de agriculturas com irrigação intensiva, modificam substancialmente a qualidade dos ciclos hidrológicos, provocando aumentos progressivos na salinidade de águas subterrâneas, problema que não tem recebido a devida atenção (Foster et al., 2018).

Quanto ao solo, a conversão de áreas de vegetação nativa para exploração agrícola, além de alterar os componentes bioquímicos, é apontada como um dos principais fatores responsáveis pelas emissões de carbono para a atmosfera contribuído efetivamente nas concentrações de gases do efeito estufa, em especial do CO₂ (Bortolon et al., 2012; Lal, 2001).

A utilização inadequada de produtos químicos é também um potencial problema, além de causar grandes impactos ao meio ambiente na água e no solo, ainda tem alta influência na saúde de polinizadores e de seres humanos. Estudos têm evidenciado que herbicidas, fungicidas e plantas transgênicas, promovem alterações fisiológicas e comportamentais em abelhas (Faita et al., 2021), além de que alguns ingredientes ativos de pesticidas foram classificados como “possíveis” cancerígenos para seres humanos (Friedrich et al., 2021).

Encontrar formas de produção de proteínas vegetais de maneira sustentável que não reflitam acréscimos significativos de valor no final da cadeia produtiva é essencial para garantir a segurança alimentar (OCDE-FAO, 2011). Pode-se conseguir a partir de práticas sustentáveis na produção de vegetais, mas também pelo estudo de novas espécies inusitadas que sejam ricas em nutrientes e cuja produção em quantidade e qualidade possua uma relação pacífica com o ambiente. Algumas dessas alternativas podem ser plantas flutuantes (Appenroth et al., 2018).

1.2 Plantas flutuantes

As plantas flutuantes, como o nome indica flutuam em corpos de água, retiram da coluna de água os nutrientes e servem de alimento a alguns organismos que habitam na água. Muitas dessas espécies são utilizadas para embelezar lagos ornamentais, sendo que algumas são consideradas ervas daninhas porque podem cobrir lagoas ou lagos dentro de alguns dias em condições favoráveis, pois multiplicam-se predominantemente através de reprodução assexuada, resultando em clones geneticamente uniformes (Appenroth et al., 2018; Cherian et al., 2001; Van Hoeck et al., 2015).

Estas plantas crescem extremamente rápido pelo que é necessário tomar cuidados com o cultivo (Elias Landolt, 1986; Yahaya et al., 2022; Ziegler et al., 2014), prevenir que a produção extrapole a outros corpos hídricos, principalmente, em rios onde aplicações de remediações sejam dificultosas ou apenas paliativas. O local de cultivo deve ser bem selecionado, a colheita da biomassa deve ser frequente de modo a evitar que as plantas excedam os limites.

As flutuantes consideradas daninhas, representam uma pequena família de plantas flutuantes aquáticas constituídos por 37 espécies e cinco géneros, sendo morfológicamente compostas por pequenas estruturas de folhas rudimentares, em forma de *thallus* que flutuam sobre a superfície de corpos lentos de água doce, servindo de alimento a animais como peixes, patos, cisnes ou gansos, daí o nome genérico para muitas delas ser *duckweed* (Appenroth et al., 2013; Ziegler et al., 2014) .

Entre as espécies de plantas aquáticas daninhas, a espécie *Lemna minor* L. é provavelmente a mais conhecida, devido à sua ampla utilização, rápido crescimento e

um alto teor de nutrientes, principalmente proteínas (Alkimi et al., 2019; Appenroth et al., 2018; Xie et al., 2019; Yahaya et al., 2022). As “Lemnas” são umas das menores entre as espécies, porém é grande o suficiente para se observarem mudanças morfológicas a olho nu o que a torna ideal para ensaios científicos (Van Hoeck et al., 2015).

1.2.2 *Lemna minor* L.

Segundo Severi & Fornasiero (1983), a *Lemna minor* L. é uma planta aquática daninha da família Lemnaceae com forma oval e diâmetro médio de 1,7 mm, formando no mínimo colônias de 2 a 4 plantas que apresenta, sistemas radiculares bem desenvolvidas (figura 1). Com o tempo a taxonomia do grupo de plantas sofreu algumas mudanças, passando da família Lemnaceae, a ser atualmente enquadrada na subfamília Lemnoideae dentro da família Araceae (Bremer et al., 2003; Mohedano et al., 2012).



Figura 1: Lemna minor L.

Em condições favoráveis, tal como outras flutuantes, podem-se multiplicar em poucos dias, além de mostrarem uma alta produtividade também apresentam uma alta taxa de proteína, que pode chegar a 45%. São também ricas em aminoácidos, ácidos gordos e baixa quantidade de fibra (Catelani Cardoso et al., 2021; Chakrabarti et al., 2018; Elias Landolt, 1986).

1.2.3 Plantas Flutuantes para Extração de Proteína Vegetal

A elevada taxa de crescimento em espaço aquático reduzido, sem necessidade da utilização de grandes extensões de terras, a resistência a ambientes perturbados, o tamanho adequado que permite a produção e colheita sem dificuldades, além das suas múltiplas aplicações, são algumas das características das plantas flutuantes, qualidades que minimizam impactos ambientais e económicos na cadeia produtiva para complementar os sistemas tradicionais de cultura e aumento na produção de proteínas (Acosta et al., 2021).

Segundo a literatura o teor de amido, proteína, gordura, minerais, vitaminas e fitosterol, bem como aminoácidos em plantas flutuantes estão de acordo com os níveis recomendados para nutrição humana pela Organização Mundial da Saúde (OMS), o que fez com que reconhecidas empresas pretendam popularizar plantas flutuantes como alimentos (Acosta et al., 2021; Appenroth et al., 2017, 2018).

Com esta evolução no conhecimento, as plantas flutuantes têm ganho território para a produção em larga escala, visto que, além de serem usadas para consumo humano são excelentes para nutrição animal (Appenroth et al., 2013; Elias Landolt, 1986; Mustofa et al., 2022; Ullah et al., 2022), fitoremediação de águas residuais (Glavaš Ljubimir et al., 2023; Singh et al., 2023; Ziegler et al., 2016), matéria-prima para produção de biocombustíveis e biogás (Calicioglu & Brennan, 2018; Cui & Cheng, 2015; Gunes et al., 2014; Gusain & Suthar, 2017; Kabutey et al., 2019, 2020; Kaur et al., 2019; Khoo et al., 2013; Türker et al., 2019; Yin et al., 2015), bio monitorização de ecotoxicidade (Adil et al., 2023; Alp et al., 2023; Enochs et al., 2023; Mazierski et al., 2023; Menezes et al., 2023) e ainda possuem componentes que podem ser usados para a produção de bio polímeros (Acosta et al., 2021).

1.2.4 Interação Planta - Fatores Abióticos e Resistência a Fatores Adversos

Nos ecossistemas naturais terrestres e aquáticos, as plantas respondem rapidamente a fatores adversos de estresse abiótico e biótico. Nos cenários futuros de mudanças climáticas os efeitos abióticos tendem a acentuar-se, o que pode afetar negativamente os rendimentos das culturas e a sobrevivência das plantas, visto que cada

vez estarão mais expostas a variações extremas de temperaturas, precipitação, vento, entre outros fatores (Balestrini et al., 2022).

Para as plantas aquáticas, em especial as lemnáceas, os principais fatores abióticos envolvidos são a qualidade da água, temperatura e fotoperíodo. Estas macrófitas toleram temperaturas entre 6 a 33 °C, sendo a faixa ótima entre 20 e 30 °C, em relação ao pH, as plantas desenvolvem-se entre 4,5 a 7,5, além de serem capazes de suportar alterações em termos de nutrientes e metais pesados, o que permite que possam existir em diversos ecossistemas mundiais (Landolt, 1986; Ziegler et al., 2016).

As plantas pertencentes ao género *Lemna* apresentam uma notável capacidade de se adaptar tanto à sombra profunda quanto à luz solar completa, reagindo de várias formas à exposição exagerada de luz, nomeadamente uma drástica redução dos níveis de clorofila, revelando uma melhor adaptação do que as plantas terrestres usadas para cultivo em grandes escalas (Demmig-Adams et al., 2020; Stewart et al., 2021; Verhoeven et al., 1997).

Em relação a produção de lemnas em grandes quantidades para alimentação, esse cultivo é mais indicado com luz solar direta, devido a variabilidade da produção em função da luz e da disposição de nutrientes necessários (Yahaya et al., 2022).

2. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho é caracterizar a influência de fatores ambientais em parâmetros nutricionais e bioativos de *Lemna minor* L.

Sendo os objetivos específicos:

- Implementação de aquários para o crescimento de plantas aquáticas;
- Registo de parâmetros ambientais (fotoperíodo) e químicos (pH) nos aquários de crescimento da planta;
- Análise de bioatividades dos extratos da planta;
- Análise da cor exterior da planta;
- Análise de proteína bruta na planta.

3. Metodologia

3.1 Crescimento das Plantas Aquáticas

3.1.1 Preparação para os Ensaio

Os ensaios foram realizados no laboratório de aquacultura da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança. Foram utilizados quatro aquários de vidro, *Aquarium Cubic* com dimensões 30 x 30 x 35 cm, com volume máximo de 32 L, a iluminação dos aquários foi conseguida através de luminárias *Chihiros A II 301* de 30 cm, para a filtragem e circulação da água foram usados filtros internos EDEN 304, sendo a temperatura da água controlada com termostatos NEWA Therm Eco 25 W. Os aquários apresentados na figura 2 foram cheios usando água dos furos do Instituto Politécnico de Bragança.



Figura 2: Montagem dos aquários

As características da água foram medidas com uma sonda digital profissional YSI ProDSS (YSI, Yellow Springs OH, USA) (figura 3) cujas funções incluem sondas digitais inteligentes que são automaticamente reconhecidas pelo instrumento quando ligadas. As características iniciais da água estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1: Características iniciais da água

	pH	Temperatura °C	Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Sal(psu)
Água da torneira	8,33	27	533,32	0,25



Figura 3: Amostrador YSI ProDSS

Após a instalação dos aquários, antes da introdução das plantas, foi necessário estabilizar o ecossistema aquático, sendo para isso necessário colonizar o filtro com bactérias nitrificantes, de modo a iniciar o ciclo do azoto. Assim, foram adicionados 40 gramas de um composto rico em NO_3 , uma vez por semana durante 40 dias, que cuja decomposição promove a “ciclagem” ou ciclo do azoto, este ciclo consiste na formação natural de colónias de bactérias que transformam a matéria orgânica em amónia (NH_3), que é degradada por Nitrosomonas que produzem nitritos (NO_2), que por fim são absorvidos por bactérias Nitrobacter que liberam nitratos (NO_3), que serão consumidos pelas plantas aquáticas (Gomes, 2021).

As plantas usadas nos ensaios foram retiradas de um aquário doméstico com ecossistema já bem desenvolvido, contudo, antes dos ensaios científicos se iniciarem as plantas foram mantidas a crescer no laboratório recebendo 8 horas de luz a pH próximo de 8,3 durante duas semanas, para que a influência das condições do aquário de origem fosse removida. Os aquários de testes foram numerados de 1 a 4 sendo que o aquário 1 serviria apenas de apoio para manutenção das plantas, enquanto os aquários 2, 3 e 4 foram expostos a diferentes parâmetros para estudar o comportamento da planta frente as diferentes condições de crescimento, nomeadamente pH e fotoperíodo.

3.2 Análise de pH

A caracterização da água foi realizada diariamente desde o início com a sonda digital profissional YSI ProDSS. Nas amostragens, observou-se mudanças bruscas no pH, o pH inicialmente utilizado já era elevado (8,33), pelo que foi necessário estabilizar o pH dos aquários utilizando ácidos. Os aquários foram estabilizados em pH 6,5, 7,5, 8,5, e o quarto aquário foi mantido a 9,5, o intuito do ensaio, era observar as influências deste fator no crescimento e rendimento das plantas, foram adicionadas 30 plantas em cada aquário, o crescimento de cada aquário foi monitorizado durante 3 semanas logo, o melhor pH foi selecionado para o ensaio seguinte (fotoperíodo).

3.3 Fotoperíodo

Os aquários já preparados receberam 150 unidades de plantas cada um (figura 4), com exceção do aquário de apoio. Este ensaio teve duração de nove semanas.

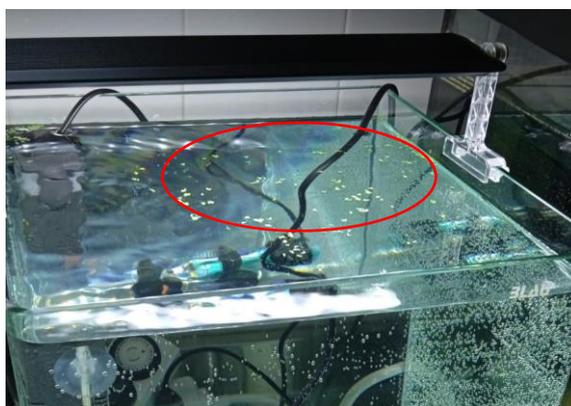


Figura 4: Adição das Lemnas nos aquários

Cada um dos aquários recebeu períodos diferentes de luz, sendo os períodos de iluminação de 4, 8 e 12 horas (aquário 2, aquário 3 e aquário 4, respectivamente), mantendo o pH que melhor desempenho obteve no ensaio anterior em todos os aquários. A iluminação foi programada através da aplicação móvel da luminária (*My chihiros*) disponíveis para qualquer dispositivo inteligente. Os aquários foram envoltos com cartolinas negras de maneira a não receberem interferências externas de luz (figura 5). Este ensaio teve duração de nove semanas.



Figura 5: Aquários envoltos em cartolinas escuras

3.4 Determinação da Atividade Antioxidante

Para o ensaio da atividade antioxidante foram usadas duas técnicas, nomeadamente a inibição das espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) e o sequestro de radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH). Para isso, as plantas liofilizadas foram sujeitas a uma extração sólido-líquido em etanol:água (80/20) 1g/ml durante 1 hora, após a qual foram filtradas e re-extraídas, seguido de uma segunda extração com solvente novo. Após a extração, o sobrenadante foi liofilizado e o pó obtido usado para os ensaios da atividade antioxidante.

3.4.1 TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances)

Este método consiste na inibição da peroxidação lipídica através de produtos reativos ao ácido tiobarbitúrico. Assim, pesou-se a massa de extrato para a preparação de uma solução mãe de concentração 10 mg/mL e posteriormente foi aplicada uma diluição seriada. Tecidos cerebrais de porco foram homogeneizados em solução tampão Tris-HCl (20 mM e pH 7,4) obtendo uma porção de 1:2 (m/v) de homogeneizado cerebral que foi submetido a centrifugação a 4000 g durante 5 min. Recolheu-se o sobrenadante, o qual foi adicionando (100 μ L) às soluções das amostras (200 μ L) na presença de 100 μ L de FeSO₄ (10 mmol/L) e 100 μ L de ácido ascórbico (0.1 mmol/L) com posterior incubação a 37 °C durante 1 hora. Após a incubação, parou-se a reação através da adição de 500 μ L de ácido tricloroacético (28%, m/v), seguido da adição do

ácido tiobarbitúrico (TBA, 2%, m/v, 380 μ L). A mistura foi aquecida a 80 $^{\circ}$ C durante 20 min e centrifugada a 3000 g durante 10 min para remover o precipitado proteico. A intensidade da cor do complexo malondialdeido (MDA) – TBA no sobrenadante foi medida a 532 nm e a inibição da peroxidação lipídica (%) foi calculada segundo a equação 1 (Sarmiento et al., 2015).

$$CA = \left[\frac{(T-A)}{(T)} \times 100 \right] \quad \text{eq. 1}$$

CA; Capacidade antioxidante em (%)

T; Absorvância TRIS

A; Absorvância Amostra.

3.4.2 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

A molécula do radical DPPH é bastante conhecida pois caracteriza-se como um radical orgânico livre estável que apresenta várias vantagens, tais como uma boa estabilidade na ausência da luz, aplicabilidade, simplicidade e viabilidade (Deng et al., 2011). A Metodologia utilizada foi seguindo Pinela et al. (2012) que consiste em utilizar um leitor de microplacas (SPECTROSTAR nano, BMG-LABTECH, Alemanha) (figura 6), onde as diluições sucessivas de extrato (30 μ L) são adicionadas a 270 μ L de uma solução metanólica contendo radicais DPPH (6×10^{-5} M) (figura 7).



Figura 6: Leitor de microplacas, SPECTRO STAR nano

A mistura foi deixada no escuro em repouso por 30 minutos, a redução do radical DPPH foi determinada pela medição da absorção a 515 nm. A atividade de eliminação radical foi calculada como uma porcentagem da descoloração do DPPH usando a equação 2.

$$CA_{DPPH}(\%) = \left[\frac{(A_{DPPH} - A_{amostra})}{A_{DPPH}} \right] \times 100 \quad \text{eq. 2}$$

Onde;

CA_{DPPH} ; Capacidade Antioxidante em percentagens

A_{DPPH} ; Absorvância DPPH

$A_{amostra}$; Absorbância Amostra.

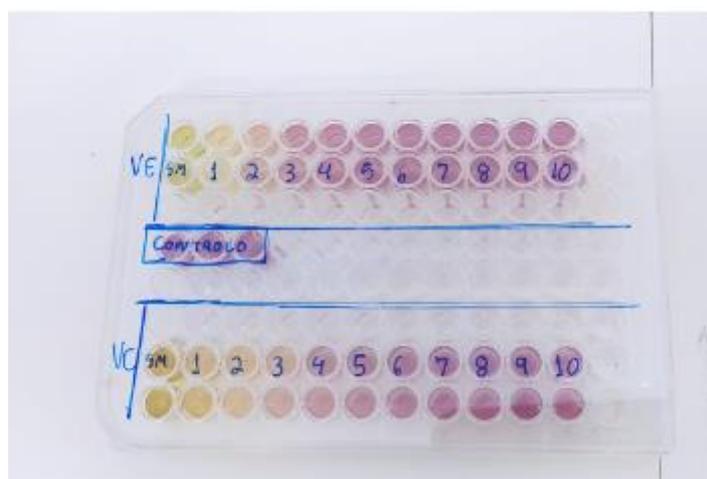


Figura 7: Ensaio de DPPH

3.5 Análise de Proteína Bruta

O conteúdo em proteína foi calculado com base numa metodologia que consiste na destruição da matéria orgânica por um ácido forte, baseando a determinação da proteína na quantidade de azoto (N) da amostra (AOAC. 920.87), conhecido pelo método de Macro-Kjeldahl, usando um fator de conversão ($N \times 6,25$) para plantas. A amostra liofilizada (0,25 g) foi adicionada a tubos de ensaios e digeridas com um agente

catalisador ($K_2SO_4/CuSO_4$) em 15 mL de ácido sulfúrico por 70 min a 400 °C (Figura 8).



Figura 8: Ensaio Proteína

Após o arrefecimento, os tubos foram inseridos num destilador Kjeldahl (modelo Pro-Nitro-A, JP Selecta, Barcelona) (Figura 9) onde uma destilação alcalina estável e uma titulação permitiram saber a quantidade de azoto.



Figura 9: Destilador Kjeldahl

Assim, através do fator de conversão conseguiu-se identificar a quantidade de proteínas em cada amostra utilizando a equação 3.

$$Pna(\%) = \left[\frac{(NxFc)}{(P)} * 100 \right] \quad \text{eq. 3}$$

Onde;

Pna; é a proteína expressa em percentagem,

N; é o azoto quantificado,

Fc; é o fator de conversão com valor de 6,25,

P; peso da amostra.

3.6 Determinação da Humidade

A intervalos regulares, as plantas eram removidas das superfícies dos aquários, secas, pesadas e congeladas para posterior análise. Após a obtenção de quantidades suficientes para os ensaios, as plantas foram processadas. O primeiro ensaio consistiu na determinação da humidade presente nas plantas. A humidade foi determinada usando um liofilizador, onde as plantas eram pesadas antes e após a liofilização, sendo a humidade calculada pela diferença de pesos da amostra.

3.7 Análises da Cor Externa

As cores foram analisadas (3 repetições e em pontos diferentes - figura 10) com o auxílio de um colorímetro portátil CR 400 da empresa Konica Minolta (Tóquio, Japão), seguindo o descrito por Carocho et al. (2020). O padrão da Comissão Internacional de Iluminação (CIE), iluminante D65, com 8 mm de abertura e 10° de observação foi utilizado. De acordo com o espaço de medição do CIE L* a* b*, L* representa a luminosidade (L = 0 preto, L = 100 branco), a* representa a vermelhidão (-a = 0 verdura, +a = vermelhidão) e b* representa a amarelidão (-b = azulado; +b = amarelado). Foi também calculada a croma (C*) da cor de cada uma das amostras, bem como a matiz (hue) através das seguintes equações.

Croma da cor das amostras:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{eq. 4}$$

Matiz da cor das amostras, onde é adicionado o fator de correção de 180, pois as cores predominantes situam-se entre o quadrante amarelo e verde.

$$hue = 180 + \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad \text{eq. 5}$$

Foi também comparada a variação de cor absoluta (ΔE) entre amostras, bem como a deslocação de matiz (Δhue) usando as equações 7 e 8.

Cálculo da variação total da cor:

$$\Delta E = \sqrt{(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2} \quad \text{eq. 6}$$

Cálculo da deslocação do matiz;

$$\Delta hue = 2 * (C_1^* * C_2^*)^{\frac{1}{2}} * \sin \left(\frac{\Delta hue}{2} \right) \quad \text{eq. 7}$$



Figura 10: Análises cor Externa

3.8 Análise Estatística

Em toda a tese, os resultados são apresentados na forma média \pm desvio padrão, garantindo que pelo menos três réplicas de cada ensaio foram usadas para garantir

robustez estatística. Sempre que apenas duas amostras eram comparadas, foi utilizado um teste-T. Por outro lado, quando mais que duas amostras eram comparadas, foi utilizada uma análise de variância (ANOVA) para a comparação, usando um teste de Levene para verificar a homogeneidade das variâncias, as médias eram comparadas recorrendo a um teste de Tukey (variâncias iguais) ou um teste de Tamhane T2 (variâncias desiguais). Em toda a tese, a significância foi de 0,05.

4. Resultado e Discussão

4.1 Condições de Crescimento

Os resultados constantes nesta tese refletem apenas uma pequena parte de todo o trabalho levado a cabo na inicialização desta linha de investigação, bem como a implementação de aquários de crescimento, otimização e estabilização das condições de crescimento das *Lemna minor* L., bem como avaliação de todos os padrões de crescimento.

4.2 Análises de pH – Ensaio Preliminares

A água foi caracterizada diariamente durante toda a duração do ensaio, sendo que por vezes eram observadas mudanças bruscas no pH, o que pode ser explicado pela atividade fotossintética que consome dióxido de carbono (CO_2) durante as horas de exposição a luz. O CO_2 contribui para acidificação do sistema, sendo que uma vez consumido, há aumentos significativo de pH da água (Nascimento, 2021). O pH da água é um fator importante na absorção de muitos iões e ajuda na solubilização de nutrientes. Em pH elevados podem ocorrer precipitações de elementos que se tornam indisponíveis para as plantas, levando à decadência de nutrientes e diminuição da capacidade reprodutiva (Gomes, 2011), o que, aliado a deficiência de ferro pode contribuir para a perda da coloração nas plantas como observado na figura 11.

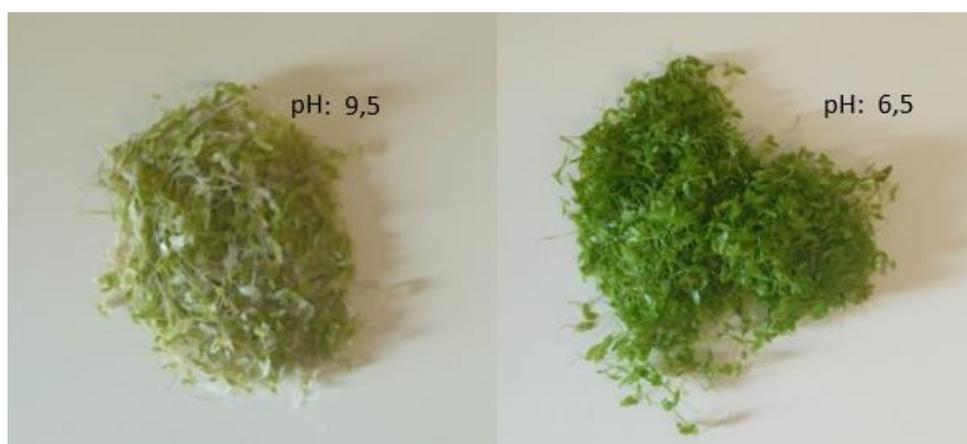


Figura 11: Diferença na Coloração das Plantas em função do pH.

Cada aquário foi acertado para condições diferentes, nomeadamente 6,5, 7,5 e 8,5. O 4º aquário foi mantido sem alterações, sendo que o seu pH subiu para 9,5. Foram adicionadas 30 plantas em cada aquário, o crescimento de cada aquário foi monitorizado durante 3 semanas (figura 12).

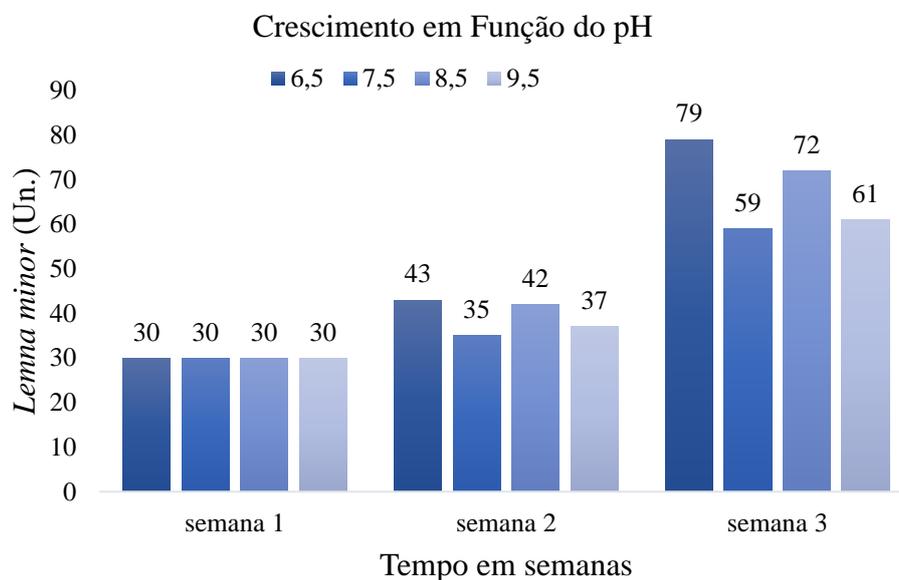


Figura 12: Crescimento das plantas em função de diferentes pH

O menor crescimento foi obtido a pH 7,5, o que pode ser explicado por ser um valor mais próximo da neutralidade, consequentemente menos iões disponíveis, o que influencia diretamente no desenvolvimento e reprodução das plantas aquáticas (Gomes, 2011; Gomes, 2021). O pH 8,5 obteve o melhor desempenho, pois os elementos importantes para a absorção de nutrientes não precipitaram, permitindo o desenvolvimento das plantas, contudo, de forma inversa, com pH 9,5 estes elementos tornaram-se indisponíveis (Gomes, 2011). Foi verificado por Schmidt & Goldbach (2022), que o pH constante de cerca de 6,5, é ideal, visto que, também reduz a probabilidade de ocorrência de crescimento de algas concorrentes, o que condiz com as observações neste estudo. Após este estudo preliminar, foi escolhido o pH de 6,5 e 9,5 para fazer um estudo mais aprofundado com validação estatística para entender as diferenças entre os 2 pH em vários parâmetros.

4.3 Fotoperíodo – Ensaios Preliminares

Tendo em conta que o pH 6,5 era aquele que mostrava melhor crescimento das plantas, decidiu-se usar esse pH para o ensaio do fotoperíodo. Assim, foram adicionadas cerca de 150 plantas a cada aquário, mantendo diferentes fotoperíodos em cada um, nomeadamente 4, 8 e 12 horas. Na condição de 4hs observou-se um crescimento de 350% ao fim de 55 dias. A diferença para as outras condições, é que nesta as plantas cresceram após este tempo, entrando em declínio apenas a partir do sexagésimo dia, o pode ser explicado pelo facto de uma menor radiação reduz a capacidade fotossintética (González-Camejo et al., 2018; Yin et al., 2015). Curiosamente, a capacidade de reprodução é prolongada, visto que a separação das frondes é inibida com baixos períodos de fotossíntese, o que condiz com estudos realizados por Lasfar et al. (2007), que postularam que a separação das frondes ou a reprodução por meiose dependiam da relação claro/escuro, concluindo que fotoperíodos abaixo de 7hs não eram adequadas para o crescimento da planta (figura 13).

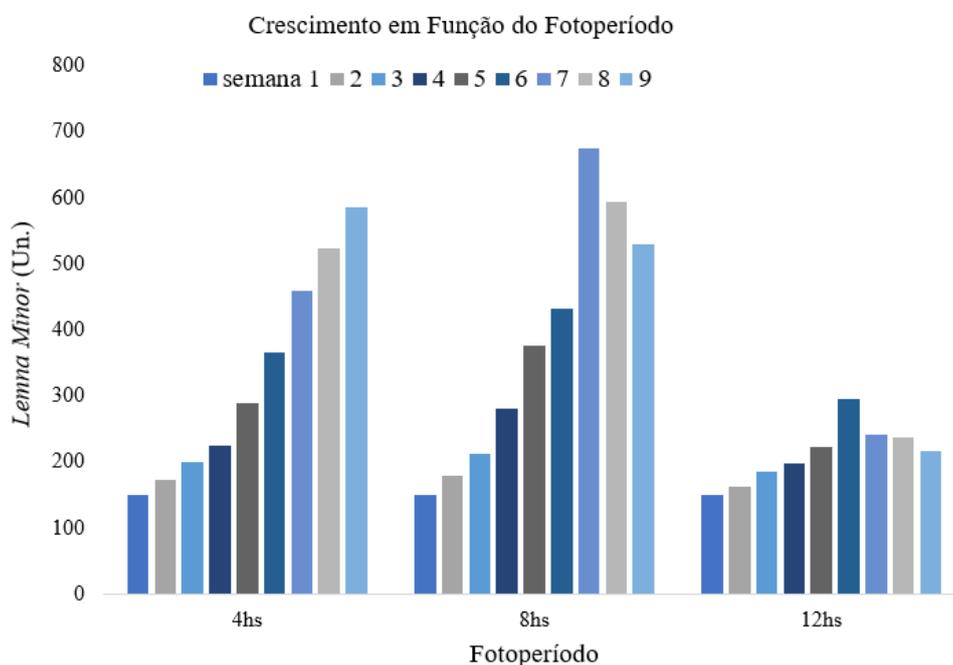


Figura 13: Crescimento Lemna minor L. em função do Fotoperíodo

A exposição a luz de 8 hs, foi a mais apropriada em termos de crescimento, tendo-se observado uma taxa de crescimento de 396 %, contudo, a partir da oitava semana as unidades de lemna começaram a decair. Outros autores definiram a faixa

ótima de crescimento entre 8 horas a 16 horas de luz (Cui et al., 2011; Lasfar et al., 2007; Yin et al., 2015). No caso deste trabalho com 12 horas de radiação, aconteceu uma serie de situações que pode ter contribuído para que as plantas não apresentassem bom desempenho, as plantas apresentaram um crescimento mais lento (158%) e o pico de crescimento deu-se na sexta semana, com gradual decréscimo a partir daí. Desenvolveram-se algas dentro do aquário e um substrato na raiz das plantas (figura 14), além de que as raízes cresceram 0,5 centímetros a mais do que nas outras condições.

Aumentar o período de luz acelera o metabolismo de algas, ocasionando uma competição por nutrientes com a planta em estudo, além de danificar o processo de fotossínteses, o que implica redução na absorção de carbono, promovendo a foto inibição (González-Camejo et al., 2018).

O aumento das raízes estará certamente relacionado numa adaptação da planta para procurar nutrientes mais fundo na coluna de água, e ao gastar muita energia no crescimento de raízes, a reprodução das plantas é inibida, resultando em taxas de crescimento menores.



Figura 14: Plantas com Substrato na Raiz.

4.4 Avaliação da Atividade Antioxidante dos Extratos.

Conforme descrito acima, para a análise da atividade antioxidante usados dois testes bioquímicos para melhor compreender os mecanismos antioxidantes bem como testar os extratos em ambientes diferentes (ambiente celular (bioquímico) e ambiente químico). Assim, foram testadas duas condições de pH diferentes, nomeadamente aquela que melhor mostrava o crescimento das plantas, pH 6,5 e a condição que era mais nefasta, pH 9,5. O racional para esta escolha prendeu-se com o facto de as plantas sobre stress produzirem mais compostos do metabolismo secundário, sendo esses compostos os mais antioxidantes da planta.

Tabela 2: Avaliação da atividade antioxidante para as plantas sujeitas a dois pH diferentes.

Atividade Antioxidante (EC ₅₀ mg/mL)	pH 6,5	pH 9,5
TBARS	0,747 ± 0,067*	0,577 ± 0,022
DPPH	1,054 ± 0,031*	0,612 ± 0,013

Um asterisco (*) em cada linha representa uma diferença significativa, tendo por base uma significância de 0,05, usando um T-teste para classificação.

Na tabela 2 estão representados os valores dos ensaios TBARS e DPPH para os dois valores de pH. É possível verificar que existem diferenças significativas em ambos os ensaios entre os valores de pH. Assim, as plantas com maior atividade antioxidante são as que foram sujeitas a um crescimento a pH 9,5, traduzido num menor valor de EC₅₀, o que representa uma menor concentração de extrato para neutralizar 50% das espécies oxidantes. Este valor, ainda que surpreendente era algo esperado, mostrando que a planta em condições de stress extremo, como o crescimento a um pH muito alcalino produz compostos do metabolismo secundário para sua proteção contra essa agressão, sendo esses compostos bastante antioxidantes, este resultado vai de encontro com trabalhos realizado por outros autores com a mesma planta, sob condições de extremo stress, onde demonstraram aumento na capacidade antioxidante da planta por ativar um sistema de defesa (Alp et al., 2023; Liang et al., 2022). A um pH ótimo para o seu crescimento, a planta foca a sua energia para crescimento e reprodução, não precisando de sintetizar moléculas de proteção. Isto foi confirmado pelos dois ensaios de atividade antioxidante, sendo que um deles, o ensaio TBARS envolve a oxidação de células

cerebrais, mostrado que os antioxidantes das lemnas são antioxidantes para sistemas bioquímicos complexos. No caso do DPPH, os antioxidantes apenas tiveram que neutralizar esses radicais.

Na tabela 3 estão presentes os resultados dos mesmos ensaios de atividade antioxidante para os diferentes fotoperíodos. Tal como na tabela anterior (tabela 2), os resultados estão expressos em EC_{50} , sendo o resultado mais baixo aquele que apresenta maior atividade antioxidante.

Tabela 3: Avaliação da atividade antioxidante das plantas sujeitas a três fotoperíodos diferentes

Atividade Antioxidante (EC_{50} mg/mL)	12hs	8hs	4hs
TBARS	0,536 ± 0,033c	0,377 ± 0,033b	0,127 ± 0,002a
DPPH	0,793 ± 0,018c	0,586 ± 0,061b	0,547 ± 0,070a

Letras diferentes em cada linha representam uma diferença significativa, tendo por base uma significância de 0,05, usando um teste de Tukey ou Tamhane-T2.

No caso do fotoperíodo, a atividade antioxidante maior foi encontrada nos extratos das plantas com menor radiação luminosa, 4 horas, sendo significativamente maior que as 8 horas. A menor atividade foi encontrada para as 12 horas de radiação, sendo significativamente menor que as 8 horas. Os resultados foram concordantes para ambos os ensaios (TBARS e DPPH). O mesmo raciocínio pode ser estabelecido, sendo o menor tempo de radiação aquele que causa maior stress às plantas, obrigando a produzir compostos antioxidantes, contudo, com as 12 horas de radiação sendo claramente excessivas, essa atividade antioxidante não foi aumentada. Pode-se concluir que o maior tempo de radiação pode não ser dos fatores que mais contribui para a síntese de compostos do metabolismo secundário. É neste fotoperíodo, contudo, onde o crescimento da planta é menor comparativamente com os outros 2.

Comprova-se que as plantas lemna podem crescer a pH muito diferentes do ótimo, bem como em vários fotoperíodos, ainda que de forma mais lenta e com produção de grandes quantidades de compostos antioxidantes, podendo até ser fontes de produção destes compostos para utilização em indústrias além da alimentar.

4.5 Proteína Bruta

Um dos objetivos deste trabalho refere-se à utilização de *Lemna minor* L. como fonte sustentável de proteínas vegetais. Assim, na tabela 4 estão representados os teores de proteína para as diferentes condições de crescimento tanto a nível de pH como de fotoperíodo.

Tabela 4: Resultado do teor de proteína bruta presente nas plantas em diferentes condições.

Amostra	Proteínas (%)
pH 6,5	33 ± 0,1*
pH 9,5	13 ± 0,2
Fotoperíodo 12 hs	10 ± 0,4a
Fotoperíodo 8 hs	18 ± 0,6b
Fotoperíodo 4 hs	23 ± 0,4c

Para o ensaio de pH, um asterisco representa uma diferença significativa, enquanto para o ensaio do fotoperíodo letras diferentes representam essa mesma diferença significativa, usando um nível de significância de 0,05 para ambos os ensaios.

Os resultados variam entre 10 a 33% de proteínas em 100 gramas de planta. O pH 6,5 juntamente com o fotoperíodo de 4hs apresentaram maiores quantidades 33 e 23%, respectivamente, sendo que fotoperíodo de 8 hs apresentou um teor de 18%, enquanto os menores valores ficaram para fotoperíodo de 12 hs e pH 9,5, sendo que entre todas as condições houve diferenças significativas. Estes resultados estão de acordo com os estudos de Landolt, (1986) que apresenta uma faixa de proteínas de 6,8 a 45%, outros estudos como o Sharma et al. (2016) que estudaram várias proteínas derivadas de vegetais onde identificaram cerca de 39,75% para produção *in vitro* para *Lemna minor*. Appenroth et al. (2017), encontraram 20 a 35% de proteínas em peso seco, em diferentes condições de cultivos, podendo assumir que, a quantidade de produção de proteínas está relacionada com a condição de crescimento, sendo que, em condições mais favoráveis o teor de proteína aumenta.

4.6 Humidade

Tal como a proteína, a humidade que as plantas conseguem armazenar está diretamente relacionada com a qualidade da água. Assim, na tabela 5, estão apresentados os valores da humidade nas plantas sujeitas a cada uma das condições de crescimento. As humidades das plantas variaram entre 88 a 92%. Appenroth et al. (2017), apresentou teores de massa seca de *Lemna minor* L., sendo que se situava entre 4 a 8% do peso fresco, equivalente a 92 e 96% de humidade. Outro trabalho, Mohedano et al. (2012), identificou 90,2 % de humidade para *Lemna minor* L., sendo que os resultados deste trabalho vão ao encontro do que está publicado na literatura. As variações entre o pH e o fotoperíodo parecem não influenciar de forma significativa a capacidade de retenção de humidade nos tecidos das plantas.

Tabela 5: Avaliação de humidade nas plantas sujeitas a diferentes condições de crescimento.

Amostra	Humidade (%)
pH 6,5	88
pH 9,5	89
Fotoperíodo 4hs	89
Fotoperíodo 8hs	92
Fotoperíodo 12hs	90

No caso da avaliação da humidade, não se consegui obter massa suficiente para fazer a análise em triplicado a tempo para a entrega desta dissertação, daí não se poderem classificar as diferenças como significativas ou não.

4.7 Cor Externa

A cor exterior das plantas é influenciada em grande medida por fatores abióticos e bióticos, sendo as plantas aquáticas suscetíveis a variações nas condições da água. No que concerne a variação de pH, as coordenadas de cor (L^* , a^* e b^*), bem como a saturação (C^*), matiz (hue), variação de cor absoluta (ΔE), e deslocação de matiz (ΔE) estão representadas na tabela 6.

Tabela 6: Representação das dimensões da cor exterior das Lemna sujeitas a diferentes valores de pH.

	L*	a*	b*	C*	hue
pH 6,5	45±2*	-18±2*	34±3	39±2*	178,9±0,2
pH9,5	57±2	-9±2	27±4	29±4	178,76±0,02
ΔE			18,81		
Δhue			3,855°		

Um asterisco (*) em cada coluna representa uma diferença significativa, tendo por base uma significância de 0,05, usando um T-teste para classificação.

Considerando as coordenadas da cor exterior, é possível ver que as Lemna submetidas a um pH de 6,5 apresentam uma luminosidade significativamente menor que as Lemnas sujeitas à um pH mais alcalino, de cerca de 9,5. Contudo, considerando a coordenada a* (vermelho-verde), pode-se destacar uma deslocação das Lemnas a pH 6,5 para um verde mais acentuado, significativamente diferentes das Lemnas a crescer em pH 9,5. A coordenada b* (azul-amarelo) não mostrou diferenças significativas entre as amostras. A croma da cor, (C*) representa o colorido de uma área tendo em conta a proporção do brilho da mesma área branca, mostrou diferenças estatisticamente significativas entre as Lemnas, mostrando um valor maior para as que foram sujeitas a pH 6,5.

Quanto ao matiz, definido pela família da cor dominante, também mostrou diferenças significativas entre as plantas, sendo maior nas Lemnas de pH 9,5. A cor total é definida pela comparação entre as três coordenadas de cada lote de plantas (eq.3), e resultou numa variação de 18,81 entre as plantas. A escala da cor total varia de 0 (nenhuma diferença) até 100 (distorção completa), sendo que a variação de 18,81 representa uma alteração bastante notória entre as amostras. Finalmente, a deslocação do matiz representa os graus de variação do matiz de duas amostras, sendo, neste caso de 3,85°, bastante baixo. Na figura 15 é possível visualizar os efeitos do pH na cor exterior das Lemnas, mostrando uma cor mais verde-escura nas plantas sujeitas a um pH de 6,5, enquanto as que foram deixadas em pH 9,5 apresentam uma cor mais esbatida e amarelecimento.

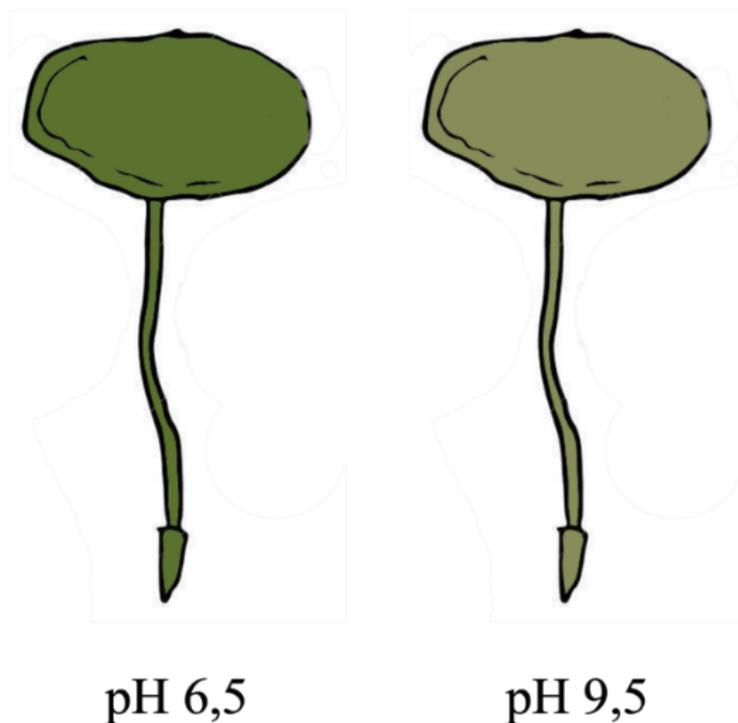


Figura 15: Representação das cores das Lemnas sujeitas a diferentes valores de pH com conversão das coordenadas L^ , a^* e b^* para cor RGB*

Na tabela 7 estão representadas as mesmas dimensões da cor para o ensaio de variação de fotoperíodo nas Lemnas, nomeadamente tempos de luminosidade de 4, 8 e 12hs. Relativamente à luminosidade (L^*), é possível verificar que quanto mais tempo de luz, maior a luminosidade das folhas das plantas, sendo que cada tempo de luz é estatisticamente superior ao anterior. O mesmo se passou com a coordenada a^* , onde há um aumento estatisticamente significativo de verde (valores negativos) conforme o fotoperíodo aumenta. Na coordenada b^* há também um aumento estatisticamente significativo de amarelo com o aumento de radiação.

Tabela 7: Representação das dimensões da cor exterior das Lemna sujeitas a diferentes fotoperíodos.

	L*	a*	b*	C*	hue
4 horas	39±3a	-7±1a	20±3a	21±3a	178,76±0,02a
8 horas	43,5±0,3a,b	-9,6±0,6b	26,2±0,2b	27,9±0,3b	178,78±0,02a
12 horas	46±2b	-10,0±0,2b	30,4±0,3c	32,0±0,3c	178,746±0,006a
ΔE 4 – 8			7,86		
ΔE 8 – 12			4,71		
Δhue 4 – 8			-0,31°		
Δhue 8 – 12			0,68°		

Letras diferentes em cada coluna representam diferenças significativas tendo por base uma análise de variância com significância de 0,05.

A croma da cor também mostrou aumentos significativos entre as 4 e 8 horas e 8 e 12 horas (Figura 16), enquanto não se verificaram diferenças significativas para a matiz da cor entre os três fotoperíodos. Em relação à variação da cor total, entre as 4 e as 8 horas a variação de cor é maior do que entre as 8 e as 12 horas, chegando quase a ser o dobro.

Assim, é possível concluir que em termos de cor exterior, há mais sensibilidade da planta para um fotoperíodo menor de 8 horas do que superior a estas, sendo as 8 horas consideradas como o fotoperíodo ideal. Finalmente, a diferença entre a deslocação do matiz para os dois fotoperíodos é também muito baixa, não chegando a 1 grau.

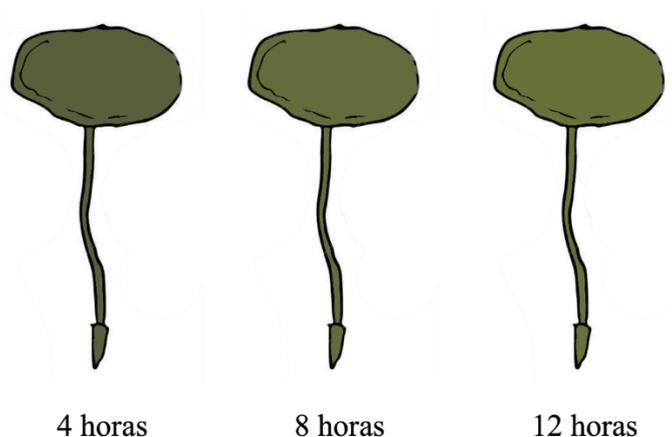


Figura 16: Representação das cores das Lemnas sujeitas a diferentes fotoperíodos com conversão das coordenadas L*, a* e b* para cor RGB

A figura 16 representa as cores das Lemna quando sujeitas a diferentes fotoperíodos. É notório uma cor mais clara nas 12 horas de luz, bem como um clareamento com o aumento do fotoperíodo.

Em conclusão, a cor externa das plantas varia tanto com o pH como com o fotoperíodo, contudo, a variação associada ao pH é mais notória do que a variação de tempo de luz, sendo a cor o pigmento de clorofilas, indispensável para realização de fotossíntese, torna-se um parâmetro importante a ser monitorado, pois atuam como potentes indicadores para detecção de ambientes com distúrbios que podem inibir a reprodução das Lemnas (Singh et al., 2022).

5. *Lemna minor* L. e Sustentabilidade

5.1.1 *Lemna minor* L. e os objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)

A Organização das Nações Unidas (ONU), elaborou no ano de 2015 os Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis (ODS) com o principal objetivo de equilibrar a produção de bens e serviços necessários para a existência humana sem prejudicar a qualidade do meio ambiente, de tal forma que, as atividades para desenvolvimentos cedam lugar a novos modelos de desenvolvimentos que garantam a vida em todas as suas formas e a proteção dos ecossistemas (Roma, 2019).

Nesta subsecção é apresentada uma breve revisão das aplicações da planta *Lemna minor* L. nas áreas de Suplementos Alimentares, Saneamento, Biorremediação, Ecotoxicidade e Produção de Bioenergia, assim como o enquadramento destas aplicações da planta aquática em relação aos ODS. Até agora, a utilização de *Lemna minor* L. tem sido sobretudo nas áreas acima descritas, não estando tão disseminado o seu uso como alimento, daí a grande novidade que envolve esta dissertação.

Assim, os ODS que estas plantas podem ajudar a atingir estão apresentados na figura 17.



Figura 17: ODS atingíveis pela utilização de *Lemna minor* L.

Nas tabelas abaixo são apresentadas referências das subáreas mencionadas acima que envolvem os ODS atingíveis com a utilização de Lemna.

Tabela 8: Portfolio de referências sobre aplicações de *Lemna minor* L. como Suplemento Alimentar.

Áreas de Aplicação	Números do ODS	Autores
SUPLEMENTO ALIMENTAR	2. Fome Zero e Agricultura Sustentável.	Landolt, 1986 Landolt, 1987
	8. Trabalho descente e crescimento económico	Appenroth et al., 2013
	9. Indústria Inovação e Infraestrutura	Ziegler et al., 2014 Appenroth et al., 2017
	12. Consumo e Produção Responsáveis	Appenroth et al., 2018
	13. Ação Contra a mudança Global do Clima.	Chakrabarti et al., 2018 Catelani et al., 2021
	14. Vida na Água	Acosta et al., 2021
	15. Vida Terrestre	Mustofa et al., 2022 Yahaya et al., 2022 Ullah, et al., 2022
	Pontos Específicos ODS	
<p>2.1 Garantir alimentos seguros, nutritivos e suficientes durante todo o ano.</p> <p>2.4 Garantir sistemas sustentáveis de produção de alimentos e implementar práticas agrícolas resilientes, que aumentem a produtividade e a produção, que ajudem a manter os ecossistemas, que fortaleçam a capacidade de adaptação às mudanças climáticas, às condições meteorológicas extremas, secas, inundações e outros desastres, e que melhorem progressivamente a qualidade da terra e do solo.</p> <p>8.4 Melhorar progressivamente, até 2030, a eficiência dos recursos globais no consumo e na produção, e empenhar-se para dissociar o crescimento econômico da degradação ambiental.</p>		

9.1 Desenvolver infraestrutura de qualidade, confiável, sustentável e resiliente.

9.4 Aumentar o investimento, inclusive via o reforço da cooperação internacional, em infraestrutura rural, pesquisa e extensão de serviços agrícolas, desenvolvimento de tecnologia, e os bancos de genes de plantas e animais, para aumentar a capacidade de produção agrícola nos países em desenvolvimento, em particular nos países menos desenvolvidos.

12.2 Até 2030, alcançar a gestão sustentável e o uso eficiente dos recursos naturais.

12.4 Até 2030, alcançar o manejo ambientalmente saudável dos produtos químicos e todos os resíduos, ao longo de todo o ciclo de vida destes, de acordo com os marcos internacionais acordados, e reduzir significativamente a liberação destes para o ar, água e solo, para minimizar seus impactos negativos sobre a saúde humana e o meio ambiente.

12.5 Até 2030, reduzir substancialmente a geração de resíduos por meio da prevenção, redução, reciclagem e reuso.

12.8 Até 2030, garantir que as pessoas, em todos os lugares, tenham informação relevante e conscientização para o desenvolvimento sustentável e estilos de vida em harmonia com a natureza.

12.8a Apoiar países em desenvolvimento a fortalecer suas capacidades científicas e tecnológicas para mudar para padrões mais sustentáveis de produção e consumo.

13.1 Reforçar a resiliência e a capacidade de adaptação a riscos relacionados ao clima e às catástrofes naturais em todos os países.

13.2 Integrar medidas da mudança do clima nas políticas, estratégias e planejamentos nacionais.

14.1 Até 2025, prevenir e reduzir significativamente a poluição marinha de todos os tipos, especialmente a advinda de atividades terrestres, incluindo detritos marinhos e a poluição por nutrientes.

15.1 Assegurar a conservação, recuperação e uso sustentável de ecossistemas terrestres e de água doce interiores e seus serviços, em especial florestas, zonas úmidas, montanhas e terras áridas, em conformidade com as obrigações decorrentes dos acordos internacionais.

15.2 Promover a implementação da gestão sustentável de todos os tipos de florestas, deter o desmatamento, restaurar florestas degradadas e aumentar substancialmente o florestamento e o

reflorestamento globalmente.

Tabela 9: Portfolio de referências sobre aplicações de *Lemna minor* L. como Saneamento, Biorremediação e Eco toxicidade.

Áreas de Aplicação	Número do ODS	Autores
SANEAMENTO BIORREMEDIAÇÃO ECOTOXICIDADE	6. Água Potável e Saneamento	Ziegler et al., 2016 Gonzalez – Camejo, 2018
	9. Indústria Inovação e Infraestrutura	Alkimin et al., 2019 Parque et al., 2023
	11. Cidades e Comunidades Sustentáveis	Mazierski et al., 2023 Singh et al., 2023
	12. Consumo e Produção Responsáveis	Glavaš et al., 2023 Menezes et al., 2023
	14. Vida na Água	Alp, et al., 2023 Enochs et al., 2023 Adil et al., 2023
Pontos Específicos ODS		
<p>6.1 Até 2030, alcançar o acesso universal e equitativo a água potável e segura para todos.</p> <p>6.3 Até 2030, melhorar a qualidade da água, reduzindo a poluição, eliminando despejo e minimizando a liberação de produtos químicos e materiais perigosos, reduzindo à metade a proporção de águas residuais não tratadas e aumentando substancialmente a reciclagem e reutilização segura globalmente.</p> <p>6.4 Até 2030, aumentar substancialmente a eficiência do uso da água em todos os setores e assegurar retiradas sustentáveis e o abastecimento de água doce para enfrentar a escassez de água, e reduzir substancialmente o número de pessoas que sofrem com a escassez de água.</p> <p>6.6 Até 2030 proteger e restaurar ecossistemas relacionados com a água, incluindo montanhas,</p>		

florestas, zonas úmidas, rios, aquíferos e lagos.

6.6a Até 2030, ampliar a cooperação internacional e o apoio à capacitação para os países em desenvolvimento em atividades e programas relacionados à água e saneamento, incluindo a coleta de água, a dessalinização, a eficiência no uso da água, o tratamento de efluentes, a reciclagem e as tecnologias de reuso.

9.4 Até 2030, modernizar a infraestrutura e reabilitar as indústrias para torná-las sustentáveis, com eficiência aumentada no uso de recursos e maior adoção de tecnologias e processos industriais limpos e ambientalmente corretos; com todos os países atuando de acordo com suas respectivas capacidades.

11.4 Fortalecer esforços para proteger e salvaguardar o patrimônio cultural e natural do mundo

11.6 Até 2030, reduzir o impacto ambiental negativo per capita das cidades, inclusive prestando especial atenção à qualidade do ar, gestão de resíduos municipais e outros.

12.2 Até 2030, alcançar a gestão sustentável e o uso eficiente dos recursos naturais.

12.4 Até 2030 alcançar o manejo ambientalmente saudável dos produtos químicos e todos os resíduos, ao longo de todo o ciclo de vida destes, de acordo com os marcos internacionais acordados, e reduzir significativamente a liberação destes para o ar, água e solo, para minimizar seus impactos negativos sobre a saúde humana e o meio ambiente.

14.1 Até 2025, prevenir e reduzir significativamente a poluição marinha de todos os tipos, especialmente a advinda de atividades terrestres, incluindo detritos marinhos e a poluição por nutrientes.

14.3 Minimizar e enfrentar os impactos da acidificação dos oceanos, inclusive por meio do reforço da cooperação científica em todos os níveis.

Tabela 10: Portfolio de referências sobre aplicações de *Lemna minor* L. como Matéria-Prima como Bioenergia.

Áreas de Aplicação	Número do ODS	Autores
BIOENERGIA	7. Energia Limpa e Acessível 13. Ação Contra a Mudança Global do Clima.	Khoo et al., 2013
		YU. et al., 2014
		Gunes et al., 2014
		Van Hoeck,et al., 2015
		Cui et al., 2015
		Calicioglu et al., 2018
		Gusain et al., 2017
		Kabutey et al., 2019
		Turker et al., 2019
		Kauret al., 2019
Kabuteyet al., 2020		
Pontos Específicos ODS		
<p>7.2 Até 2030, aumentar substancialmente a participação de energias renováveis na matriz energética global.</p>		
<p>7.3 Até 2030, dobrar a taxa global de melhoria da eficiência energética.</p>		
<p>7.7a Até 2030, reforçar a cooperação internacional para facilitar o acesso a pesquisa e tecnologias de energia limpa, incluindo energias renováveis, eficiência energética e tecnologias de combustíveis fósseis avançadas e mais limpas, e promover o investimento em infraestrutura de energia e em tecnologias de energia limpa.</p>		
<p>13.1 Reforçar a resiliência e a capacidade de adaptação a riscos relacionados ao clima e às catástrofes naturais em todos os países.</p>		
<p>13.2 Integrar medidas da mudança do clima nas políticas, estratégias e planejamentos nacionais.</p>		

13.3 Melhorar a educação, aumentar a conscientização e a capacidade humana e institucional sobre mitigação, adaptação, redução de impacto e alerta precoce da mudança do clima.

É possível observar que nas três áreas, os ODS são atingíveis em vários pontos específicos. Na primeira área, “Produção de Suplemento Alimentar”, são apontadas cinco dos ODS com as numerações seguintes: 2, 8, 9, 12, 13 14, 15 (Tabela 8). Nas áreas de Saneamento, Biorremediação, Ecotoxicidade, são atingíveis cinco objetivos: 6, 9, 11, 12, 14 (Tabela 9), enquanto para a produção de bioenergia utilizando a biomassa da planta aquática *Lemna minor* L. há dois ODS atingíveis (7, 13) (Tabela 10).

Desta forma podemos afirmar que a planta *Lemna minor* L. e suas aplicações têm contribuições positivas para o desenvolvimento sustentável, podendo ser utilizadas em várias áreas relevantes, (Fonte de proteína, Tratamentos e Bioenergia).

5.1.2 *Lemna minor* L. e os Gases de Efeito Estufa (GEE)

As atividades antropogénicas são apontadas como as principais fontes de emissões de Gases de Efeito Estufa (GEE), segundo o *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC, 2022), a participação dos principais GEE nas emissões de 1990 a 2019 são; CO₂ (75%), metano CH₄ (18%), N₂O (4%) e (2%) gases fluorados. Uma das atividades que lidera as contribuições para este agravamento é o setor agropecuário (da Gama, 2022). Nesta subsecção objetiva-se uma comparação de emissões de GEE entre o modelo mais comum de produção de proteína, em comparação com as associadas ao tema desta dissertação, usando a planta aquática *Lemna minor* L., como produtor sustentável de proteína vegetal. Esta etapa foi realizada usando como base a ISO: 14040: 2006, sendo que é importante ressaltar que não foi realizado uma análise de ciclo de vida (ACV), apenas a definição do âmbito e o levantamento de dados em relação aos potenciais poluidores que envolvem estes processos (Figura 18).

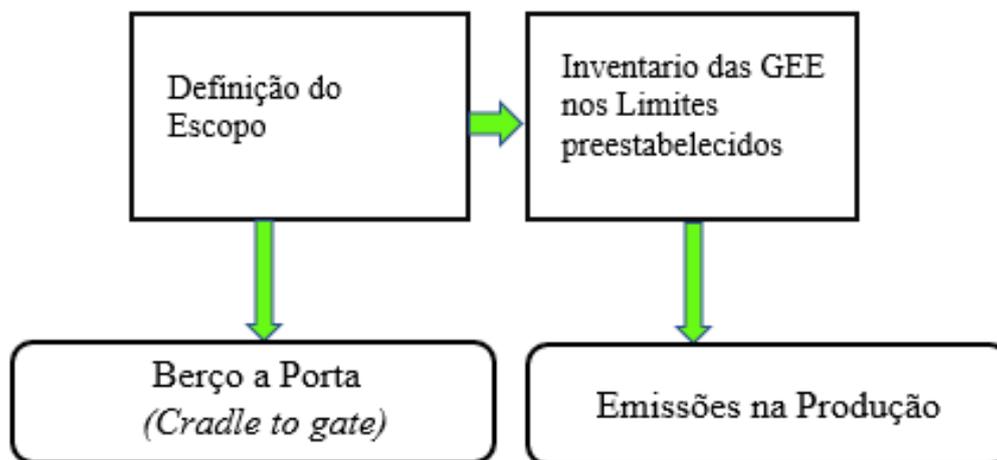


Figura 18: Definição do objetivo

A produção de proteína animal compreende várias etapas, sendo as atividades potencialmente poluidoras identificadas a montante, durante a produção (da Gama, 2022; Herrero et al., 2013). As atividades a montante estão relacionadas principalmente com a produção de fertilizantes utilizados para a produção de alimentos dos animais e a produção de combustíveis utilizados em maquinarias. A jusante estão as emissões do processo de industrialização do produto. O escopo analisado abaixo relaciona-se com os limites da produção da exploração agrícola, especificamente os GEE derivados nesta fase, como observado na figura 19.

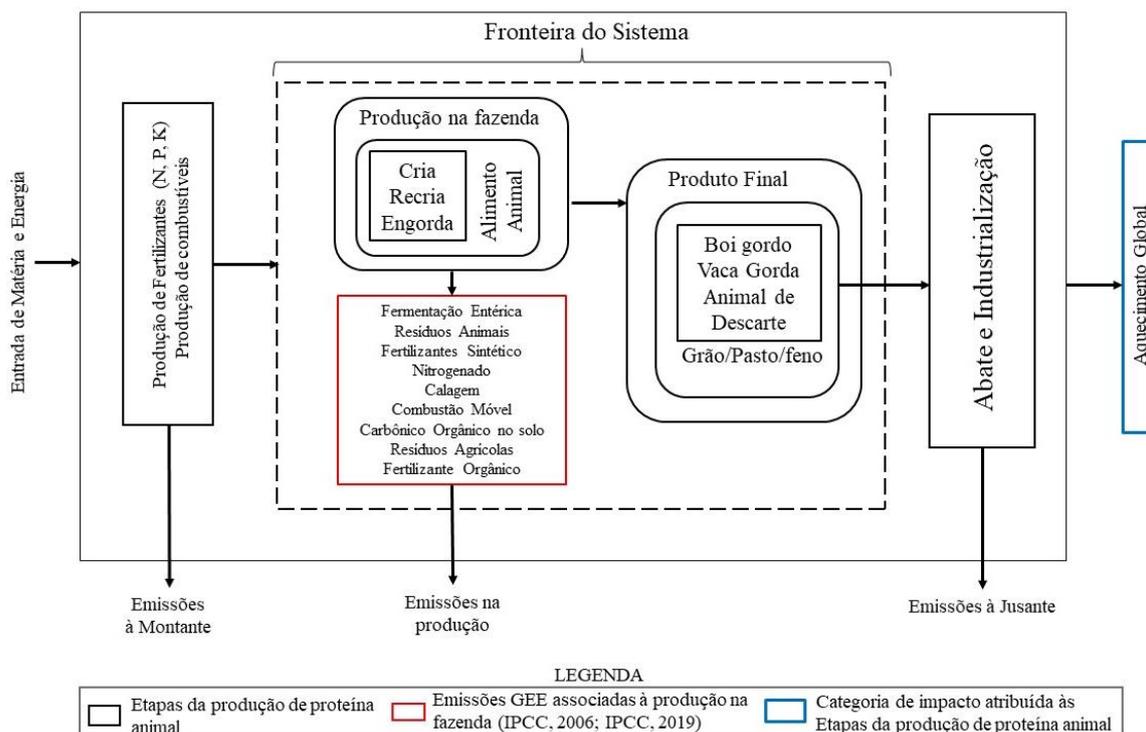


Figura 19: Análises do sistema da exploração (Berço a Porta)

Como pode ser observado na figura 19, as emissões na produção de bovinocultura dentro dos limites de uma exploração estão ligadas a fermentação entérica, resíduos animais, os derivados do uso da fertilização sintética nitrogenada, calagem, combustão móvel, carbono orgânico no solo, resíduos agrícolas e fertilizantes orgânicos, todas as emissões mencionadas produzem os principais GEE, CO_2 , CH_4 , e N_2O , e podem ser mensurados por equações formuladas pelo IPCC, 2006 e IPCC, 2019 e com auxílio de softwares específicos (da Gama, 2022; Gerssen-Gondelach et al., 2017; Godde et al., 2021).

Na figura 20 é apresentado um sistema de produção de *Lemna minor* L. para critérios de comparação, e embora sejam apresentados na imagem emissões a montante, estas podem ser nulas quando não forem necessárias soluções nutritivas de base NH_4/NO_3 , visto que as plantas podem ser cultivadas em águas recirculadas derivadas da produção de peixes. A jusante, as emissões estão relacionadas com o processo de industrialização que se estima que sejam a fase com maior emissão de GEE.

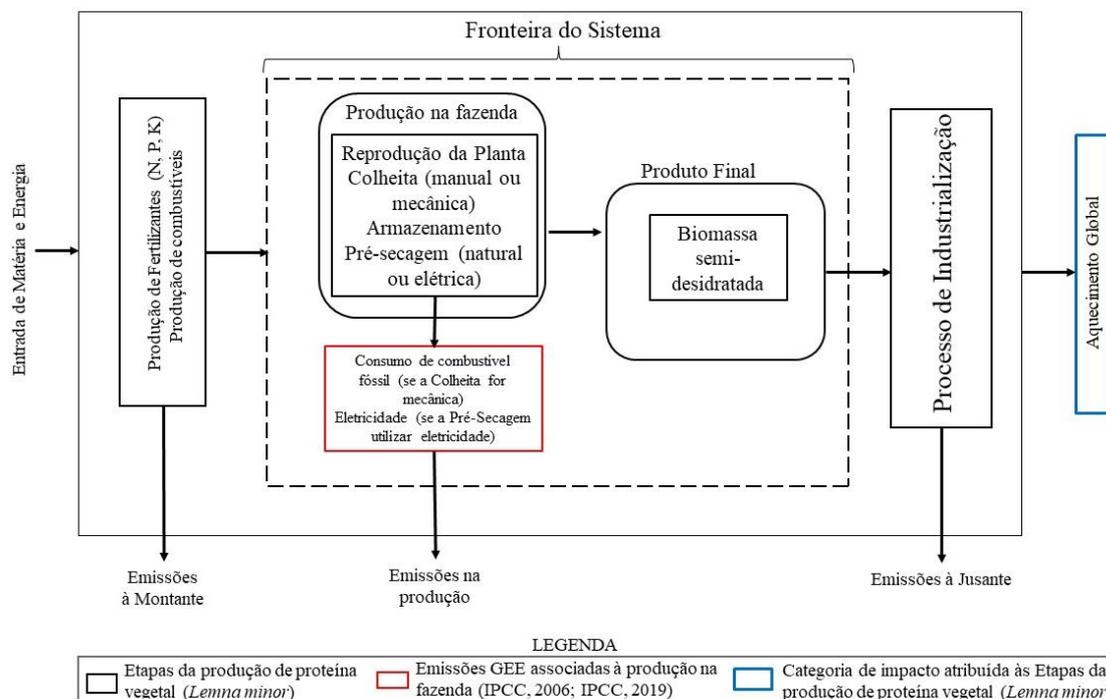


Figura 20: Análises do sistema de produção de *Lemna Minor* (Berço a Porta)

Até à atualidade, estudos que analisem emissões de GEE associados a *Lemna minor* L. são escassos. Uma vez que são produzidas em condições controladas, onde não ocorre metanogênese, não são observadas emissões de CH₄. A planta é utilizada inclusive em cultivos de arrozais para controlo e minimização dos efeitos das emissões de GEE onde apresentam resultados favoráveis para redução de CH₄, sendo que em relação ao N₂O apresentam algum aumento em algumas etapas do cultivo. Assim, o cultivo de *Lemna minor* L. em arrozais pode reduzir os GEE no geral em cerca de 17% (Sun et al., 2019; Wang et al., 2015).

Estas plantas, como organismos fotossintetizantes, são capazes de absorver CO₂, contribuindo assim para a redução das emissões de gases de efeito estufa (González-Camejo et al., 2018; Tonon, 2016). Assim, é possível afirmar que estas plantas têm potencial em termos ambientais para fins de produção sustentável de proteína vegetal.

6. Conclusão

As plantas aquáticas são organismos vivos que como qualquer outro requerem períodos de adaptação a um novo habitat para se desenvolver, embora a *Lemna minor* L. cresça rapidamente em várias condições, é necessário entender os pontos ótimos de reprodução em ambientes modificados.

O ciclo de vida das *Lemnas minor* L. é em média de sete semanas, passado esse tempo observas-se um declínio na quantidade das plantas, perda na coloração e sobreposição, uma vez que as raízes se aglomeram e acabam por inibir a absorção de nutrientes. O pH ideal para crescimento e multiplicação é de 6,5 mostrando melhor cor externa e teor de proteína.

O tempo de exposição à luz, para crescimento e coloração é de 8 horas, sendo que, com quatro horas o crescimento é mais lento, há um clareamento em relação a cor externa, mas em compensação, o teor de proteína é maior quando comparado com as demais condições de fotoperíodos.

Inversamente, a pH 9,5 há uma maior produção de compostos antioxidantes quando comparado com crescimento a pH 6,5. No caso da radiação luminosa, a maior capacidade antioxidante foi encontrada nas plantas sujeitas apenas a 4 horas de luz, sendo a menor nas plantas sujeitas a 12 horas de luz.

Em linhas gerais as plantas lemnas em condições ótimas de cultivo possuem melhor rendimento de proteínas, sendo que, em condições nefastas produzem melhor compostos antioxidantes.

Como perspectivas futuras é necessário aprofundar o conhecimento relativo a outros fatores abióticos e bióticos para entender todos os pontos ótimos de crescimento e de rendimento em proteínas. Alguns destes fatores são salinidade, distância da radiação, variação da altura da coluna de água, agitação à superfície, competição com outras plantas, turbidez, condutividade, oxigênio e dióxido de carbono dissolvidos, picos de nitrato e fosfato entre outros. Tendo em conta a resiliência desta planta, importa também entender as variações de rendimento de proteínas em condições de alterações climáticas.

Conclui-se que a planta aquática *Lemna minor* L. é uma potencial fonte de proteína vegetal sustentável pela quantidade de proteína produzida nos seus tecidos e a facilidade do seu cultivo. É também interessante como uma fonte de compostos antioxidantes que podem ser resgatados dos tecidos após extração de proteínas.

7. Referências

- Acosta, K., Appenroth, K. J., Borisjuk, L., Edelman, M., Heinig, U., Jansen, M. A. K., Oyama, T., Pasaribu, B., Schubert, I., Sorrels, S., Sree, K. S., Xu, S., Michael, T. P., & Lam, E. (2021). *Return of the Lemnaceae: duckweed as a model plant system in the genomics and postgenomics era* (Vol. 33, Issue 10 pág. 3207; 3234). <https://doi.org/10.1093/plcell/koab189>
- Adil, M., Dastagir, G., Ambrin, Sher, A. A., Rahim, F., Quddoos, A., Filimban, F. Z., & Izhar-Ul-haq. (2024). Cytotoxic, phytotoxic and insecticidal potential of *Achillea millefolium* L. and *Chaerophyllum villosum* wall. Ex dc. | Potencial citotóxico, fitotóxico e insecticida de *Achillea millefolium* L. e *Chaerophyllum villosum*. *Brazilian Journal of Biology*, 84. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.262479>
- Ahmad, M., Qureshi, S., Akbar, M. H., Siddiqui, S. A., Gani, A., Mushtaq, M., Hassan, I., & Dhull, S. B. (2022). Plant-based meat alternatives: Compositional analysis, current development and challenges. *Applied Food Research*, 2(2), 100154. <https://doi.org/10.1016/J.AFRES.2022.100154>
- Alkimin, G. D., Daniel, D., Frankenbach, S., Serôdio, J., Soares, A. M. V. M., Barata, C., & Nunes, B. (2019). Evaluation of pharmaceutical toxic effects of non-standard endpoints on the macrophyte species *Lemna minor* and *Lemna gibba*. *Science of the Total Environment*, 657, 926–937. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.002>
- Alp, F. N., Arikan, B., Ozfidan-Konakci, C., Ekim, R., Yildiztugay, E., & Turan, M. (2023). Rare earth element scandium mitigates the chromium toxicity in *Lemna minor* by regulating photosynthetic performance, hormonal balance and antioxidant machinery. *Environmental Pollution*, 316, 120636. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2022.120636>
- Alp, F. N., Arikan, B., Ozfidan-Konakci, C., Gulenturk, C., Yildiztugay, E., Turan, M., & Cavusoglu, H. (2023). Hormetic activation of nano-sized rare earth element terbium on growth, PSII photochemistry, antioxidant status and phytohormone regulation in *Lemna minor*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 194, 361–373. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.11.031>
- AOAC. Association of the Official Analytical Chemists. (2003). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. (Gaithersburg. Association of the Official Analytical Chemists (Liang) International, Ed.; 17th ed.).

- Appenroth, K. J., Borisjuk, N., & Lam, E. (2013). Telling duckweed apart: Genotyping technologies for the Lemnaceae. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, *19*(1), 1–10. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1145.2013.00001>
- Appenroth, K. J., Sowjanya Sree, K., Bog, M., Ecker, J., Seeliger, C., Böhm, V., Lorkowski, S., Sommer, K., Vetter, W., Tolzin-Banasch, K., Kirmse, R., Leiterer, M., Dawczynski, C., Liebisch, G., & Jahreis, G. (2018). Nutritional value of the duckweed species of the Genus *Wolffia* (Lemnaceae) as human food. *Frontiers in Chemistry*, *6*(OCT). <https://doi.org/10.3389/FCHEM.2018.00483>
- Appenroth, K. J., Sree, K. S., Böhm, V., Hammann, S., Vetter, W., Leiterer, M., & Jahreis, G. (2017). Nutritional value of duckweeds (Lemnaceae) as human food. *Food Chemistry*, *217*, 266–273. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.08.116>
- Balestrini, R., Chitarra, W., Ghirardo, A., Nardini, A., & Nerva, L. (2022). A stressful life: How plants cope with multiple biotic and abiotic adverse factors. *Plant Stress*, *5*. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100095>
- Bechara, M. A., Walker, P. N., & Heinemann, P. (2007). Two alternative systems for *Agaricus bisporus* mushroom production on grain-based substrates. *2007 ASABE Annual International Meeting, Technical Papers, 14 BOOK*.
- Beckman, J., & Countryman, A. M. (2021). The Importance of Agriculture in the Economy: Impacts from COVID-19. *American Journal of Agricultural Economics*, *103*(5), 1595–1611. <https://doi.org/10.1111/ajae.12212>
- Bortolon, E. S. O., Mielniczuk, J., Tornquist, C. G., Lopes, F., Giasson, E., & Bergamaschi, H. (2012). Potential use of century model and GIS to evaluate the impact of agriculture on regional soil organic carbon stocks | Potencial de Uso do Modelo Century e SIG para Avaliar o Impacto da Agricultura sobre Estoques Regionais de Carbono Orgânico do Solo. *Revista Brasileira de Ciencia Do Solo*, *36*(3), 831–849. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832012000300014>
- Bremer, B., Bremer, K., Chase, M. W., Reveal, J. L., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Stevens, P. F., Anderberg, A. A., Fay, M. F., Goldblatt, P., Xiang, J. Q.-Y., & Zmarzty, S. (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *141*(4), 399–436. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2003.t01-1-00158.x>

- Calicioglu, O., & Brennan, R. A. (2018). Sequential ethanol fermentation and anaerobic digestion increases bioenergy yields from duckweed. *Bioresource Technology*, 257, 344–348. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2018.02.053>
- Calvo Buendia, E., Tanabe, K., Kranjc, A., Baasansuren, J., Fukuda, M., Ngarize, S., Osako, A., Pyrozhenko, Y., Shermanau, P., & Federici, S. (2019). *2019 Refinement to the 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories*. <https://www.ipcc.ch/report/2019-refinement-to-the-2006-ipcc-guidelines-for-national-greenhouse-gas-inventories/> Acesso em: 29 de jul. de 2022.
- Carocho, M., Morales, P., Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Ferreira, E., Heleno, S., Rodrigues, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Comparison of different bread types: Chemical and physical parameters. *Food Chemistry*, 310, 125954. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125954>
- Carrquiry, M., Dong, F., Du, X., Elobeid, A. E., Fabiosa, J. F., Hart, C., & Womack, A. (2010). "FAPRI 2010 U.S. and World Agricultural Outlook" (2010). FAPRI Staff Reports. 4. http://lib.dr.iastate.edu/fapri_staffreports/
- Catelani Cardoso, C., Miraldi, E., Ceccarini, M. R., Naureen, Z., Baini, G., Manara, E., Anpilogov, K., Camilleri, G., Dhuli, K., Paolacci, S., Beccari, T., & Bertelli, M. (2021). Study of the effects of *Lemna minor* extracts on human immune cell populations. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 25(1), 43–48. https://doi.org/10.26355/eurrev_202112_27332. Acesso em: 26 de ago. de 2022.
- Chakka, A. K., Sriraksha, M. S., & Ravishankar, C. N. (2021). Sustainability of emerging green non-thermal technologies in the food industry with food safety perspective: A review. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 151, 112140. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112140>
- Chakrabarti, R., Clark, W. D., Sharma, J. G., Goswami, R. K., Shrivastav, A. K., & Tocher, D. R. (2018). Mass production of *Lemna minor* and its amino acid and fatty acid profiles. *Frontiers in Chemistry*, 6(OCT). <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00479>
- Cherian, R. P., Midha, P. S., Smith, L. N., & Pipe, A. G. (2001). Potential and realized rates of vegetative reproduction in *Spirodela polyrhiza*, *Lemna minor*, and *Wolffia borealis*. *Aquatic Botany*, 70(1), 79–87. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(00\)00131-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(00)00131-5)

- Choudhury, D., Singh, S., Seah, J. S. H., Yeo, D. C. L., & Tan, L. P. (2020). Commercialization of Plant-Based Meat Alternatives. *Trends in Plant Science*, 25(11), 1055–1058. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2020.08.006>
- Cui, W., Xu, J., & Cheng, J. J. (2011). Duckweed starch accumulation for bioethanol production. In *2011 Louisville, Kentucky, August 7-10, 2011* (p. 1). American Society of Agricultural and Biological Engineers.
- Cui, W., & Cheng, J. (2015). Growing duckweed for biofuel production: a review. *Plant Biology*, 17, 16–23. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/plb.12216>
- da Gama, S. M. N. (2022). *Avaliação financeira e de emissões de gases de efeito estufa de sistemas de baixo carbono na agropecuária brasileira*. Universidade Federal do Rio de Janeiro]. http://www.ppe.ufrj.br/images/Dissertacao_Stella_Gama.pdf
- David, D. U., Aikhuele, D. O., Ughehe, P. O., & Tamuno, E. M. (2022). Multi-echelon, Multi-period supply chain master planning in the Food process industry: A sustainability concept. *Process Integration and Optimization for Sustainability*, 6(2), 497–512. <https://doi.org/10.1007/s41660-022-00229-3>
- de Boer, J., & Aiking, H. (2018). Prospects for pro-environmental protein consumption in Europe: Cultural, culinary, economic and psychological factors. *Appetite*, 121, 29–40. <https://doi.org/10.1016/J.APPET.2017.10.042>
- de Boer, J., & Aiking, H. (2019). Strategies towards healthy and sustainable protein consumption: A transition framework at the levels of diets, dishes, and dish ingredients. *Food Quality and Preference*, 73, 171–181. <https://doi.org/10.1016/J.FOODQUAL.2018.11.012>
- de Souza, M. P., Hoeltz, M., Gressler, P. D., Benitez, L. B., & Schneider, R. C. S. (2019). Potential of Microalgal Bioproducts: General Perspectives and Main Challenges. *Waste and Biomass Valorization*, 10(8), 2139–2156. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0253-6>
- Demmig-Adams, B., López-Pozo, M., Stewart, J. J., & Adams, W. W. (2020). Zeaxanthin and lutein: Photoprotectors, anti-inflammatories, and brain food. *Molecules*, 25(16). <https://doi.org/10.3390/molecules25163607>
- Deng, J., Cheng, W., & Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125(4), 1430–1435. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.10.031>

- Enochs, B., Meindl, G., Shidemantle, G., Wuerthner, V., Akerele, D., Bartholomew, A., Bulgrien, B., Davis, A., Hoyt, K., Kung, L., Collins, D., & Hua, J. (2023). Short and long-term phytoremediation capacity of aquatic plants in Cu-polluted environments. *Heliyon*, 9(1). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e12805>
- Faita, M. R., Chaves, A., & Nodari, R. O. (2021). The expansion of agribusiness: Harmful impacts of deforestation, pesticides and transgenics on bees | A expansão do agronegócio: Impactos nefastos do desmatamento, agrotóxicos e transgênicos nas abelhas. *Desenvolvimento e Meio Ambiente*, 57, 79–105. <https://doi.org/10.5380/dma.v57i0.76157>
- Foster, S., Pulido-Bosch, A., Vallejos, Á., Molina, L., Llop, A., & MacDonald, A. M. (2018). Impact of irrigated agriculture on groundwater-recharge salinity: a major sustainability concern in semi-arid regions | | Impact de l'irrigation agricole sur la salinité de la recharge des eaux souterraines: une préo. *Hydrogeology Journal*, 26(8), 2781–2791. <https://doi.org/10.1007/s10040-018-1830-2>
- Friedrich, K., da Silveira, G. R., Amazonas, J. C., do Monte Gurgel, A., de Almeida, V. E. S., & Sarpa, M. (2021). International regulatory situation of pesticides authorized for use in Brazil: Potential for damage to health and environmental impacts | Situação regulatória internacional de agrotóxicos com uso autorizado no Brasil: Potencial de danos sobre a saúde e im. *Cadernos de Saude Publica*, 37(4). <https://doi.org/10.1590/0102-311X00061820>
- Gambino, M., Terrieux, A., & Guibert, M. (2019). La reprise démographique des campagnes françaises à l'aune des nouvelles relations rural-urbain . *Perspectives on Rural Developmen.*, 3, 97–120.
- Gerssen-Gondelach, S. J., Lauwerijssen, R. B. G., Havlík, P., Herrero, M., Valin, H., Faaij, A. P. C., & Wicke, B. (2017). Intensification pathways for beef and dairy cattle production systems: Impacts on GHG emissions, land occupation and land use change. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 240, 135–147. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.02.012>
- Glavaš Ljubimir, K., Domijan, A.-M., & Radić Brkanac, S. (2023). Phytotoxic action of silver nanoparticles on *Lemna minor*: Multi-Parameter analysis of different physiological processes. *Plants*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/plants12020343>

- Godde, C. M., Mason-D’Croz, D., Mayberry, D. E., Thornton, P. K., & Herrero, M. (2021). Impacts of climate change on the livestock food supply chain; a review of the evidence. *Global Food Security*, 28, 100488. <https://doi.org/10.1016/J.GFS.2020.100488>
- Gomes, L., Martins C., Nogueira N., Lopes F., Xavier T., & Cardoso L. (2011). Efeito de diferentes valores de pH da solução nutritiva no desenvolvimento de variedades de melão. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 6, 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125954>
- González-Camejo, J., Barat, R., Pachés, M., Murgui, M., Seco, A., & Ferrer, J. (2018). Wastewater nutrient removal in a mixed microalgae–bacteria culture: effect of light and temperature on the microalgae–bacteria competition. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 39(4), 503–515. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1305001>
- Gunes, A., Cakar, H., Akat, O., Guney, M. A., Ozkul, B., Koru, E., Korkut, A. Y., Suzer, C., Cirik, S., Firat, K., Firat, K., & Saka, S. (2014). Determination of the bioenergy production capacity from biochemical profiles of some aquatic phytoremediation plants. Energy while cleaning. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 15(3), 1042–1050.
- Gusain, R., & Suthar, S. (2017). Potential of aquatic weeds (*Lemna gibba*, *Lemna minor*, *Pistia stratiotes* and *Eichhornia* sp.) in biofuel production. *Process Safety and Environmental Protection*, 109, 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.03.030>
- Henn, K., Bøye Olsen, S., Goddyn, H., & Bredie, W. L. P. (2022). Willingness to replace animal-based products with pulses among consumers in different European countries. *Food Research International*, 157. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111403>
- Herrero, M., Havlík, P., Valin, H., Notenbaert, A., Rufino, M. C., Thornton, P. K., Blümmel, M., Weiss, F., Grace, D., & Obersteiner, M. (2013). Biomass use, production, feed efficiencies, and greenhouse gas emissions from global livestock systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(52), 20888–20893. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308149110>
- Hervieu, B., & Purseigle, F. (2009). For a sociology of agricultural worlds during globalization | Pour une sociologie des mondes agricoles dans la globalisation. *Estudes rurales*. (Vol. 183 pág. 177 a 200)
- Hocquette, J., & Chatellier, V. (2011). Prospects for the european beef sector over the next 30 years. *Animal Frontiers*, 1(2), 20–28. <https://doi.org/10.2527/af.2011-0014>

- International Standards Organization, I. 2006. (2006). Environmental Management—Life cycle assessment. *Principles and Framework*.
- IPCC, Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas. 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. 2016. Kanagawa, Japão: Institute for Global Environmental Strategies (IGES), 2016 <https://www.ipccnggip.iges.or.jp/public/2006gl/index.html>. Acesso em: 18 de jan. de 2023.
- IPCC, Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas. 2019 Refinement to the 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. 2019. Suíça: IPCC, 2019. <https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2019rf/index.html>. Acesso em: 18 de jan. de 2023
- IPCC, & Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas. (2022). Climate Change 2022. *Sixth Assessment Report: Climate Change*. <https://www.iso.org/standard/37456.html>. Acesso em: 14 de dez. de 2022.
- Kabutey, F. T., Ding, J., Zhao, Q., Antwi, P., & Quashie, F. K. (2020). Electrical current generation from a continuous flow macrophyte biocathode sediment microbial fuel cell (mSMFC) during the degradation of pollutants in urban river sediment. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(28), 35364–35380. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09812-y>
- Kabutey, F. T., Ding, J., Zhao, Q., Antwi, P., Quashie, F. K., Tankapa, V., & Zhang, W. (2019). Pollutant removal and bioelectricity generation from urban river sediment using a macrophyte cathode sediment microbial fuel cell (mSMFC). *Bioelectrochemistry*, 128, 241–251. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.01.007>
- Kaur, M., Kumar, M., Singh, D., Sachdeva, S., & Puri, S. K. (2019). A sustainable biorefinery approach for efficient conversion of aquatic weeds into bioethanol and biomethane. *Energy Conversion and Management*, 187, 133–147. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2019.03.018>
- Khoo, H. H., Koh, C. Y., Shaik, M. S., & Sharratt, P. N. (2013). Bioenergy co-products derived from microalgae biomass via thermochemical conversion - Life cycle energy balances and CO₂ emissions. *Bioresource Technology*, 143, 298–307. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.004>

- Kumar, P., Chatli, M. K., Mehta, N., Singh, P., Malav, O. P., & Verma, A. K. (2017). Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(5), 923–932. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.939739>
- Lal, R. (2001). Potential of desertification control to sequester carbon and mitigate the greenhouse effect. *Climatic Change*, 51(1), 35–72. <https://doi.org/10.1023/A:1017529816140>
- Landolt, E. (1986). Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae). II: The family of Lemnaceae: a monographic study. 1. *Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der ETH, Stiftung Rübel, Zürich*, (71).
- Landolt, E. (1987). The family of Lemnaceae—a monographic study. *Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae)*, 2.
- Lasfar, S., Monette, F., Millette, L., & Azzouz, A. (2007). Intrinsic growth rate: A new approach to evaluate the effects of temperature, photoperiod and phosphorus–nitrogen concentrations on duckweed growth under controlled eutrophication. *Water Research*, 41(11), 2333–2340. doi.org/10.1016/J.WATRES.2007.01.059
- Levert, F., Le Mouel, C., & Jean, S. (2012). Prospects for agricultural markets and incomes in the European Union: 2010–2020. *INRA Sciences Sociales*, 2011(910-2016-71593).
- Liang, J., Li, Y., Xie, P., Liu, C., Yu, L., & Ma, X. (2022). Dualistic effects of bisphenol A on growth, photosynthetic and oxidative stress of duckweed (*Lemna minor*). *Environmental Science and Pollution Research*, 29(58), 87717–87729. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21785-8>
- Lopes, C., Torres, D., Oliveira, A., Severo, M., & Alarcão, V. (2018). *National Food, Nutrition, and Physical Activity Survey of the Portuguese General Population, IAN-AF 2015-2016*. Vol, 7(2) pág, 42.
- Mazierski, P., Białk-Bielińska, A., Siedlecka, E., Zaleska-Medynska, A., & Pieczyńska, A. (2023). Role of operating parameters in photoelectrocatalytic degradation of anticancer drugs: Ifosfamide, 5-fluorouracil and imatinib using CdS/TiO₂ *Journal of Water Process Engineering*, 51. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.103460>
- Menezes, T., Bouguerra, S., Andreani, T., Pereira, R., & Pereira, C. (2023). Preparation, Characterization, and Environmental Safety Assessment of Dithiocarbamate Loaded Mesoporous Silica Nanoparticles. *Nanomaterials*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/nano13020370>

- Mohamed, A. H. A., Menezes, B. C., & AL-Ansari, T. (2021). Interplaying of food supply chain resilience, industry 4.0 and sustainability in the poultry market. *Computer Aided Chemical Engineering*, *50*, 1815–1820. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-88506-5.50281-3>
- Mohedano, R. A., Costa, R. H. R., Tavares, F. A., & Belli Filho, P. (2012). High nutrient removal rate from swine wastes and protein biomass production by full-scale duckweed ponds. *Bioresource Technology*, *112*, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.083>
- Mustofa, A. G., Ardiansyah, Wahidah, S., Mulyati, Hasniar, & Indrayani. (2022). Use of duckweed (*Lemna minor*) harvested from IRAS as a partial replacement for fishmeal proteins in barramundi (*Lates calcarifer*) diets. *AAFL Bioflux*, *15*(4), 1663–1674.
- Nascimento, A. R. M. (2021). *Produção e consumo de oxigênio e sua influência na remoção de nutrientes em lagoas de polimento* [Universidade Federal do Rio Grande do Norte]. https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/47550/1/Producaoconsumooxigenio_Nascimento_2021.pdf. Acesso em: Acesso em 25 de jul. de 2022
- OCDE- FAO. (2011). *Perspectiva Agrícola. 2011-2020*. livraria da OCDE on-line, 197 p. <https://core.ac.uk/download/pdf/38942001.pdf>. Acesso em 30 de jul. de 2022.
- OCDE-FAO. (2020). *Perspectivas Agrícolas 2020-2029*. <https://doi.org/10.1787/498ef94e-es> Acesso em 21 de setemb. De 2022.
- Pinela, J., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2012). Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples: Effects of drying and oral preparation methods. *Food Chemistry*, *135*(3), 1028–1035. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.05.038>
- Roma, J. C. (2019). Os objetivos de desenvolvimento do milênio e sua transição para os objetivos de desenvolvimento sustentável. *Ciência e Cultura*, *71*(1), 33–39. http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252019000100011&script=sci_arttext
- Rômulo Gomes Queiroz. (2021). *Aquário De Recife De Corais: Teoria E Prática* (Clube de Autores, Ed.; Versão Digital).
- Sarmiento, A., Barros, L., Fernandes, A., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Valorization of traditional foods: Nutritional and bioactive properties of *Cicer arietinum*

- L. and *Lathyrus sativus* L. pulses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 179–185. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6702>
- Schmidt, K.-M., & Goldbach, H. E. (2022). Modelling of *Lemna minor* L. growth as influenced by nutrient supply, supplemental light, CO₂ and harvest intervals for a continuous indoor cultivation. *Heliyon*, 8(12). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12194>
- Severi, A., & Fornasiero, R. B. (1983). Morphological Variations in *Lemna minor* L. and Possible Relationships with Abscisic Acid, *Caryologia*. 36(1), 57–64. <https://doi.org/10.1080/00087114.1983.10797644>
- Sgroi, F. (2022). Evaluating of the sustainability of complex rural ecosystems during the transition from agricultural villages to tourist destinations and modern agri-food systems. *Journal of Agriculture and Food Research*, 9, 100330. <https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2022.100330>
- Sharma, J. G., Kumar, A., Saini, D., Targay, N. L., Khangembam, B. K., & Chakrabarti, R. (2016). In vitro digestibility study of some plant protein sources as aquafeed for carps *Labeo rohita* and *Cyprinus carpio* using pH-Stat method. *Indian Journal of Experimental Biology*, 54, 601–611. opr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/35349/1/IJEB%2054%289%29%20606-611.pdf
- Singh, H., Kumar, D., & Soni, V. (2022). Performance of chlorophyll a fluorescence parameters in *Lemna minor* under heavy metal stress induced by various concentration of copper. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14985-2>
- Singh, P., Jani, K., Sharma, S., Rale, V., Souche, Y., Prakash, S., Jogdeo, P., Patil, Y., & Dhanorkar, M. N. (2023). Microbial population dynamics in Lemnaceae (Duckweed)-based wastewater treatment system. *Current Microbiology*, 80(2). <https://doi.org/10.1007/s00284-022-03149-0>
- Stewart, J. J., Adams, W. W., López-Pozo, M., Doherty Garcia, N., McNamara, M., Escobar, C. M., & Demmig-Adams, B. (2021). Features of the duckweed lemna that support rapid growth under extremes of light intensity. *Cells*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/cells10061481>
- Sun, H., A, D., Feng, Y., Vithanage, M., Mandal, S., Shaheen, S. M., Rinklebe, J., Shi, W., & Wang, H. (2019). Floating duckweed mitigated ammonia volatilization and increased grain yield and nitrogen use efficiency of rice in biochar amended paddy soils. *Chemosphere*, 237. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124532>

- Tonon, G. (2016). *Avaliação de lagoas de lemnas para o polimento de esgoto doméstico: emissões de GEE e valorização de biomassa na produção de biometano*. Universidade Federal Santa Catarina.
- Türker, O. C., Yakar, A., Türe, C., & Saz, Ç. (2019). Boron (B) removal and bioelectricity captured from irrigation water using engineered duckweed-microbial fuel cell: effect of plant species and vegetation structure. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(30), 31522–31536. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06285-6>
- Ullah, H., Gul, B., Khan, H., Akhtar, N., Rehman, K. U., & Zeb, U. (2022). Effect of growth medium nitrogen and phosphorus on nutritional composition of *Lemna minor* (an alternative fish and poultry feed). *BMC Plant Biology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03600-1>
- van Hoeck, A., Horemans, N., Monsieurs, P., Cao, H. X., Vandenhove, H., & Blust, R. (2015). The first draft genome of the aquatic model plant *Lemna minor* opens the route for future stress physiology research and biotechnological applications. *Biotechnology for Biofuels*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/S13068-015-0381-1>
- Verhoeven, A. S., Demmig-Adams, B., & Adams III, W. W. (1997). Enhanced employment of the xanthophyll cycle and thermal energy dissipation in spinach exposed to high light and N stress. *Plant Physiology*, 113(3), 817–824. <https://doi.org/10.1104/pp.113.3.817>
- Wang, C., Li, S., Lai, D. Y. F., Wang, W., & Ma, Y. (2015). The effect of floating vegetation on CH₄ and N₂ O emissions from subtropical paddy fields in China. *Paddy and Water Environment*, 13(4), 425–431. <https://doi.org/10.1007/s10333-014-0459-6>
- Xie, L., Solhaug, K. A., Song, Y., Brede, D. A., Lind, O. C., Salbu, B., & Tollefsen, K. E. (2019). Modes of action and adverse effects of gamma radiation in an aquatic macrophyte *Lemna minor*. *Science of the Total Environment*, 680, 23–34. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.016>
- Yahaya, N., Hamdan, N. H., Zabidi, A. R., Mohamad, A. M., Suhaimi, M. L. H., Johari, M. A. A. M., Yahya, H. N., & Yahya, H. (2022). Duckweed as a future food: Evidence from metabolite profile, nutritional and microbial analyses. *Future Foods*, 5, 100128. <https://doi.org/10.1016/J.FUFO.2022.100128>
- Yin, Y., Yu, C., Yu, L., Zhao, J., Sun, C., Ma, Y., & Zhou, G. (2015). The influence of light intensity and photoperiod on duckweed biomass and starch accumulation for bioethanol production. *Bioresour Technol*, 187, 84–90. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.03.097>

- Ziegler, P., Adelman, K., Zimmer, S., Schmidt, C., Appenroth, K.-J., & Appenroth, -J. (2014). *Relative in vitro growth rates of duckweeds (Lemnaceae)-the most rapidly growing higher plants**. <https://doi.org/10.1111/plb.12184>
- Ziegler, P., Sree, K. S., & Appenroth, K.-J. (2016). Duckweeds for water remediation and toxicity testing. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 98(10), 1127–1154. <https://doi.org/10.1080/02772248.2015.1094701>