

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS FRANCISCO BELTRÃO
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL:
ANÁLISE E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

DINAURA CATARINA SEGANFREDO

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA DE TECNOLOGIAS PARA O
TRATAMENTO DE EFLUENTES DE LATICÍNIOS**

FRANCISCO BELTRÃO /PR

2022

DINAURA CATARINA SEGANFREDO

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA DE TECNOLOGIAS PARA O
TRATAMENTO DE EFLUENTES DE LATICÍNIOS**

**Physico-chemical and toxicological evaluation of technologies for the treatment of dairy
effluents**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Engenharia Ambiental: Análise e Tecnologia Ambiental como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Linha de Pesquisa: Tecnologia Ambiental
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Elisângela Düsman
Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ticiane Sauer Pokrywiecki

FRANCISCO BELTRÃO /PR

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Francisco Beltrão



DINAURA CATARINA SEGANFREDO

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA DE TECNOLOGIAS PARA O TRATAMENTO DE EFLUENTES DE LATICÍNIOS

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Meio Ambiente.

Data de aprovação: 29 de Março de 2022.

Prof.a Elisângela Dusman, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Alessandra Paim Berti, Doutorado - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (Uems)

Prof Marcelo Bortoli, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 29/03/2022.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, pela força, coragem e inspiração por ter me iluminado até o final, em todos os momentos vividos.

Aos meus pais João e Ilvone, pelo apoio e meus irmãos Francieli, Maitê e Jonatas, meus cunhados Glacir e João pela ajuda e por não deixar eu desistir nas dificuldades encontradas durante este caminho.

Meu esposo Andrey pela ajuda quando precisava nos experimentos no laboratório, pela paciência durante os três anos e companheirismo, e por não ter deixado desistir em cada obstáculo que me deparava.

Aos acadêmicos da UTFPR - Iniciação científica: Guilherme pelo desenvolvimento e estudo do principal componente para as pesquisas, sempre disposto para ajudar e realizar as análises em laboratório, as ICs Inana, Mariana, Patricia e Anna por ajudar nos experimentos de *Cultura*, *E. fetida* e *A. salina*.

A Professora Doutora Elisângela, orientou e norteou, pelo seu conhecimento, e principalmente pela paciência, agradeço pelo incentivo por não deixar desistir, mesmo com tantas dificuldades, principalmente emocionais. Muito obrigada serei eternamente grata pelo que fez por mim para chegar ao final, obrigada.

Co-orientadora Dr^a. Ticiane, por me orientar e ensinar vários processos durante todas as análises realizada.

A Dr^a Ana Paula, orientou em várias análises e planejamento do projeto, muitas tentativas mas jamais deixou desistir, para chegar no resultado final.

A Dr^a Marina, orientou em várias análises e com sua experiência e paciência, e sua equipe colaborou em realizar as análises que faltava, muito obrigada.

A equipe dos técnicos do laboratório, pela disponibilidade a ajuste de horários para realizar todos os experimentos.

Muito obrigada a banca Prof Marcelo Bortoli e Prof Alessandra Paim Berti, em se dispor em ler minha dissertação e fazer parte desta etapa final.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, pela oportunidade de realizar um sonho.

"A vida só pode ser compreendida olhando-se para trás;
mas só pode ser vivida, olhando-se para frente."

Soren Kierkegaard.

RESUMO

No Brasil, os efluentes gerados por indústrias de laticínios causam poluição nos rios, quando lançados nestes sem o tratamento adequado. Assim, o presente trabalho teve como objetivo aplicar e comparar diferentes tratamentos no efluente de uma indústria de laticínios que produz queijos, em termos físico-químicos e ecotoxicológicos. O efluente bruto da indústria foi coletado por uma amostra composta e caracterizado em termos físico-químico. Sobre o efluente bruto foi aplicado o tratamento físico-químico (coagulação) avaliado por planejamento experimental com três variáveis independentes (pH, tempo de decantação e dosagem do extrato do coagulante natural *Urera baccifera*). Também foi aplicada a foto-ozonização sobre o efluente bruto e após o tratamento físico-químico. Para avaliar os efeitos ecotoxicológicos dos efluentes brutos e tratados foram aplicados os testes de fuga com *Eisenia fetida*, teste de imobilidade/mortalidade com *Artemia salina* e teste de citotoxicidade do MTT com cultura de células de mamíferos. Com relação aos resultados das análises físico-químicas, o efluente bruto apresentava elevados valores de DQO (5551,56 mg/L), DBO₅ (2942,33 mg/L), óleos e graxas (1133,00 mg/L), sólidos suspensos totais (6836,00 mg/L) e turbidez (506 UNT), com pH básico (9,93), demonstrando a necessidade de realizar o tratamento deste efluente antes de seu lançamento no meio ambiente. O planejamento experimental avaliando o coagulante natural *U. baccifera* mostrou que este apresentou resultados muito satisfatórios na redução da turbidez (0,02 UNT), dos óleos e graxas (240,00 mg/L) e dos sólidos sedimentáveis (<0,1 mg/L), sendo definido o melhor tratamento nas condições de pH de 9,92, dosagem do coagulante de 14 mL/100mL e de tempo de decantação de 12,8 min. Entretanto, devido a característica do coagulante natural, tanto o tratamento com coagulação, como o tratamento com coagulação seguido da foto-ozonização, não foram eficientes na redução da DQO, DBO₅, dos sólidos totais, voláteis e fixos. O tratamento somente com foto-ozonização foi o que resultou nos melhores resultados físico-químicos em termos de redução dos óleos e graxas (163,60 mg/L), DBO₅ (903,21 mg/L), DQO (1771,00 mg/L), sólidos totais (5808,00 mg/L) e fixos (929,0 mg/L). Com relação a ecotoxicidade, o efluente bruto foi tóxico para o bioindicador *A. salina* e os tratamentos sobre este efluente bruto não foram eficazes para reduzir sua toxicidade. Para o bioindicador *E. fetida* o efluente bruto tratado com o coagulante *U. baccifera* seguido de foto-ozonização apresentou toxicidade e, para a cultura de células de rim de macaca, somente o extrato de *U. baccifera* sozinho resultou em citotoxicidade. Portanto, percebe-se que outros tratamentos devem ser aplicados ao efluente bruto e, o uso do extrato de *U. baccifera* como coagulante natural pode

ser promissor, pois, além de reduzir parâmetros físico-químicos do efluente bruto de laticínio, não resultou no aumento e nem na geração de toxicidade para *E. fetida* e a cultura de mamífero utilizada no presente estudo.

PALAVRAS-CHAVE: Bioindicadores, Citotoxicidade, Coagulante Natural, Ozonização, Teste de Fuga, Teste de Mortalidade.

ABSTRACT

No Brazil, effluents generated by dairy industries cause pollution in rivers when discharged into them without proper treatment. Thus, the present work aimed to apply and compare different treatments in the effluent of a dairy industry that produces cheese in physical-chemical and ecotoxicological terms. The raw effluent from the industry was collected by a composite sample and characterized in physical-chemical terms. A physical-chemical treatment (coagulation) was applied to the raw effluent, evaluated by experimental design with three independent variables (pH, settling time and dosage of the natural coagulant *Urera baccifera* extract). Photo-ozonation was also applied on the raw effluent and after the physical-chemical treatment. To evaluate the ecotoxicological effects of raw and treated effluents leakage tests with *Eisenia fetida*, immobility/mortality test with *Artemia salina* and MTT cytotoxicity test with mammalian cell culture were applied. Regarding the results of the physical-chemical analyses, the raw effluent showed high values of COD (5551.56 mg/L), BOD5 (2942.33 mg/L), oils and greases (1133.00 mg/L), solids total suspended (6836.00 mg/L) and turbidity (506 UNT), with basic pH (9.93), demonstrating the need to carry out the treatment of this effluent before its release into the environment. The experimental planning evaluating the natural coagulant *U. baccifera* showed that this presented very satisfactory results in the reduction of turbidity (0.02 UNT), oils and greases (240.00 mg/L) and sedimentable solids (<0.1 mg/L), being defined the best treatment in the conditions of pH of 9.92, coagulant dosage of 14 mL/100ml and settling time of 12.8 min. However, due to the characteristic of natural coagulant, both the treatment with coagulation, and the treatment with coagulation followed by photo-ozonation, were not efficient in the reduction of COD, DBO5, total solids, volatile and fixed. Treatment only with photo-ozonation resulted in the best physicochemical results in terms of oil and grease reduction (163.60 mg/L), DBO5 (903.21 mg/L), COD (1771.00 mg/L), total solids (5808.00 mg/L) and fixed solids (929.0 mg/L). Regarding ecotoxicity, the raw effluent was toxic for the bioindicator *A. salina* and the treatments on this raw effluent were not effective to reduce its toxicity. For the bioindicator *E. fetida*, the crude effluent treated with coagulant *U. baccifera* followed by photo-ozonation presented toxicity and, for the culture of macaque kidney cells, only the extract of *U. baccifera* alone resulted in cytotoxicity. Therefore, it is understood that other treatments should be applied to the raw effluent and the use of *U. baccifera* extract as a natural coagulant may be promising, because, in addition to reducing

physico-chemical parameters of the raw dairy effluent, did not result in an increase in or generation of toxicity to *E. fetida* and the mammal culture used in this study.

KEYWORDS: Bioindicators, Cytotoxicity, Natural Coagulant, Ozonation, Leak Test, Mortality Test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Fluxograma do consumo de água e de geração de efluentes da indústria de laticínios m todas as etapas do processo produtivo.....	28
Figura 02 - Equipamentos da indústria de laticínios.....	29
Figura 03 - Caixa de gordura da indústria de laticínios	29
Figura 04 - Efluente armazenado na Lagoa 1 da indústria de laticínio.....	30
Figura 05 - Estrutura e localização da Lagoa 1 de tratamento da indústria de laticínio.....	30
Figura 06 - Representação do reator fotoquímico.....	35
Figura 07 -Montagem e leitura do teste de imobilidade/mortalidade com <i>A. salina</i>	37
Figura 08 – Minhocas e solo artificial tropical no teste de fuga com <i>Eisenia fetida</i>	37
Figura 09 - Distribuição dos resíduos: valores previstos pelo modelo versus valores observados no experimento do delineamento experimental de coagulação para a redução da turbidez.....	46
Figura 10 - Superfície de resposta para o percentual de redução da turbidez em função do pH e dosagem de coagulante (mL/ 100mL) (A), dosagem do coagulante (mL/ 100mL) e tempo de decantação (min) (B) e pH e tempo de decantação (min) (C).....	48
Figura 11 - Distribuição dos resíduos: valores previstos pelo modelo versus valores observados no experimento do delineamento experimental de coagulação para a redução dos óleos e graxas.....	50
Figura 12 - Superfície de resposta para o percentual de redução dos oleos e graxas em função do pH e dosagem de coagulantes (mL/ 100mL) (A), dosagem do coagulante (mL/ 100 mL) e tempo de decantação (min) (B) e pH e tempo de decantação (min) (C).....	52
Figura 13 - Taxa de mortalidade das <i>Artemia salina</i> expostas aos efluentes bruto e tratados.....	57
Figura 14 - Números médios dos organismos <i>Eisenia fetida</i> nos grupos: controle negativo (CO-) e positivo (CO+) e nas amostras tratamento.....	58
Figura 15 - Taxa de fuga dos organismos <i>Eisenia fetida</i> nos grupos controle positivo (CO+) e nas amostras tratamento.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Valores codificados e reais para as três variáveis independentes avaliadas (pH, dosagem do coagulante e tempo de decantação) no processo de coagulação com o coagulante <i>U. baccifera</i>	32
Tabela 02 - Matriz do planejamento experimental (DCCR 2 ³) para coagulação com o coagulante <i>U. baccifera</i> com as combinações das três variáveis independentes avaliadas (pH, dosagem do coagulante e tempo de decantação).....	32
Tabela 03 - Características físico-químicas do efluente bruto do laticínio de queijos.....	41
Tabela 04 - Média do pH do efluente no laboratório da indústria de laticínios	43
Tabela 05 – Redução média (%) de turbidez e de óleos e graxas avaliada nos ensaios do planejamento experimental DCCR 2 ³ para o processo de coagulação com o coagulante <i>U. bacífera</i>	44
Tabela 06 - Efeito das variáveis do planejamento DCCR 2 ² para a remoção da turbidez.....	45
Tabela 07 – Análise de variância do modelo proposto para redução da turbidez obtido pelo delineamento experimental para o processo de coagulação.....	46
Tabela 08 - Efeito das variáveis do planejamento DCCR 2 ² para a remoção dos óleos e graxas.....	49
Tabela 09 – Análise de variância do modelo proposto para remoção de óleos e graxas obtido pelo delineamento experimental para o processo de coagulação.....	50
Tabela 10 – Resultados das análises de turbidez e óleos e graxas para ensaios realizados nas condições dos pontos ótimos do delineamento experimental de coagulação.....	51
Tabela 11 – Caracterização físico-química dos efluentes bruto e tratados.....	54
Tabela 12 - Percentual de viabilidade de células (VC) normais LLC-MK2, tratadas com as diferentes concentrações (1:10, 1:100 e 1:1000) das amostras tratamento, por 24, 48 e 72 horas, pelo teste do MTT.....	60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	17
3 JUSTIFICATIVA.....	18
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
4.1 POLUIÇÃO AMBIENTAL.....	19
4.2 EFLUENTES DE LATICÍNIOS.....	20
4.3 TRATAMENTO DE EFLUENTES.....	21
4.4 LEGISLAÇÃO AMBIENTAL.....	22
4.5 BIOINDICADORES E BIOMARCADORES.....	23
4.5.1 <i>Eisenia fetida</i> L.....	24
4.5.2 <i>Artemia salina</i> L.....	25
4.5.3 Teste de citotoxicidade do MTT com cultura de células de mamíferos.....	25
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
5.1 LATICÍNIO EM ESTUDO.....	27
5.2 COLETA DO EFLUENTE.....	30
5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE.....	31
5.4 SISTEMAS DE TRATAMENTO DOS EFLUENTES.....	31
5.4.1 Tratamento Físico-químico (Coagulação).....	31
5.4.1.1 Obtenção do coagulante.....	31
5.4.1.2 Ensaios de coagulação.....	31
5.4.2 Processos Oxidativos Avançados.....	34
5.4.2.1 Foto-ozonização.....	34
5.5 TESTES DE ECOTOXICIDADE.....	36
5.5.1 Solução Tratamento.....	36
5.5.2 Teste De Imobilidade/Mortalidade com <i>Artemia salina</i> L.....	36

5.5.3 Teste de Fuga com <i>Eisenia fetida</i> L.....	37
5.5.4 Teste De Citotoxicidade do MTT com Cultura de Células de Mamíferos.....	39
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	41
6.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE.....	41
6.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	43
6.3 TRATAMENTO DE EFLUENTE BRUTO.....	53
6.3.1 Análises Físico-químicas.....	53
6.3.2 Testes de Ecotoxicidade.....	56
6.3.2.1 Teste de imobilidade/mortalidade com <i>Artemia salina</i> L.....	56
6.3.2.2 Teste de fuga com <i>Eisenia fetida</i> L.....	58
6.3.2.3 Teste de citotoxicidade com cultura de células de mamíferos.....	59
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

1 INTRODUÇÃO

A degradação do meio ambiente se tornou um dos principais problemas para a sociedade. A industrialização possuiu uma grande parcela de contribuição para esta poluição, sendo que, em especial, pode-se citar a geração de águas residuais de indústrias de alimentos. Um exemplo disso é o setor de laticínios, devido ao volume de efluentes gerados que necessitam de tratamento adequado antes de serem lançados nos corpos hídricos (DIAS et al, 2018).

Segundo a Pesquisa Pecuária Municipal do IBGE (2017), a produção brasileira de leite, em 2017, foi de 33,5 bilhões de litros, sendo que as regiões Sul e Sudeste apresentaram a maior produção nacional, com 35,7% e 34,2% do total de litros, respectivamente.

Em 2021, conforme dados apresentados pela Pesquisa Pecuária Municipal do IBGE (2021), o Paraná ficou em segundo lugar na classificação geral dos estados na produção de leite, com 13,9% da produção no Brasil, em primeiro lugar permanece o estado de Minas gerais 24,7.

A aquisição de leite cru dos estabelecimentos que atuam com inspeção sanitária com órgãos federais, estaduais ou municipais, no primeiro trimestre de 2020, foi de 6,30 bilhões de litros, sendo processados em indústrias de beneficiamentos de leite, distribuídos em todas as regiões do Brasil (IBGE, 2020).

As atividades nas indústrias lácteas se destacam na geração de resíduos líquidos, pelo elevado consumo de água no processo de produção e higienização dos pisos, paredes, câmaras frias, equipamentos e caldeira (NADAL et al., 2018; SILVA; SIQUEIRA; NOGUEIRA, 2018). Ainda, conforme a linha de produção da indústria de laticínio, a se citar: leite UHT, bebida láctea, iogurtes, manteiga, creme UHT, queijos, ricota e requeijão, gera-se resíduos com características físico-químicas e microbiológicas diferentes, que necessitam de tratamentos específicos (AZZOLINI; FABRO, 2013).

Os resíduos produzidos pelas indústrias são diversificados na sua composição química, podendo conter poluentes tóxicos e resistentes (recalcitrantes) aos sistemas convencionais de tratamento. Os problemas de poluição e de contaminação provenientes das indústrias geram aumento das exigências ambientais, impondo a necessidade de otimização dos processos industriais para o descarte dos resíduos gerados (ARAUJO et al., 2016).

Segundo Azzolini e Fabro (2013), os efluentes industriais oriundos do processo produtivo de leite e seus derivados constituem importantes fontes poluição nas águas, devido alto teor de matéria orgânica e, se descartado de forma inadequada no corpo hídrico, pode

ocasionar alterações e impactos no ecossistema e no meio ambiente como um todo. Assim, independente da origem do efluente este deve obrigatoriamente ser tratado antes do descarte nos corpos hídricos, de modo a atender os padrões de lançamento nas Resoluções nº 430 do CONAMA (BRASIL, 2005), para preservar os mananciais, córregos e rios de quaisquer poluições antrópicas (MAGNONI, 2019).

Segundo Nadal et al. (2018), os tratamentos convencionais de efluentes realizados pelas indústrias de laticínios, compreendem processos físico-químicos e biológicos. As técnicas físico-químicas são capazes de remover a matéria orgânica e inorgânica em suspensão e reduzir ou eliminar presença de microrganismos. Já as biológicas removem a matéria orgânica dissolvida e em suspensão, através da transformação desta em sólidos sedimentáveis, flocos biológicos ou gases.

Quanto aos processos físico-químicos, estes consistem na coagulação seguida da floculação e sedimentação e, conforme Souza e Chagas (2020), os tipos de coagulantes utilizados podem variar de origem orgânica ou inorgânica. Os coagulantes orgânicos apresentam várias vantagens em relação aos coagulantes inorgânicos por serem biodegradáveis e não tóxicos, produzirem lodo em menor quantidade, isentos de sais metálicos (KUHN; REISDÖRFER, 2015; LUCENA et al., 2016).

Os coagulantes orgânicos atualmente utilizados atuam em sistemas de partículas coloidais, neutralizando cargas e formando pontes entre estas partículas, sendo este processo responsável pela formação da coagulação, floculação e conseqüente decantação (KUHN; REISDÖRFER, 2015). Um componente que apresenta propriedades coagulantes é o tanino, presente na planta *Urera Baccifera* (SKORONSKI et al., 2014).

Esta planta do gênero *Urera*, possui um vasto conhecimento popular para tratar de diversas enfermidades como hemorragias, reumatismo, doenças de pele, dentre outras (BADILLA et al., 1999), mas nunca foi estudada quanto à sua aplicação como coagulante natural.

Os Processos Oxidativos Avançados (POA) também podem ser utilizados para tratamento de efluentes, pois, são capazes de produzir mudanças nas estruturas químicas dos contaminantes (TERAN, 2014). A fotocatalise heterogênea é um processo obtido a partir da irradiação de um catalisador, sendo amplamente utilizado o dióxido de titânio (TiO_2), gerando radicais de hidroxila ($\bullet\text{OH}$), que tem o poder de oxidar as moléculas orgânicas, transformando em compostos menores e oxidando-as (DIAS et al., 2018).

A ozonização é um POA em que se utiliza o ozônio (O₃), que é um gás formado por três átomos de oxigênio, sendo que dois constituem a base do oxigênio presente no ar e o terceiro, muito instável, pode se desligar facilmente do ozônio para se ligar a moléculas de outras substâncias orgânicas, alterando sua composição química. Assim, por ser um gás instável e ter o poder oxidante, pode ser utilizado na desinfecção de esgotos domésticos, esgotos industriais, tratamentos de água (JUNIOR, 2018).

A foto-ozonização é um processo que utiliza ozônio associado a luz ultravioleta (UV), produzindo assim radicais livres. O ozônio é produzido através de um equipamento transforma o oxigênio em ozônio, também é considerado um eficiente desinfetante aplicado atualmente no tratamento de água potável e efluente, têm também, apresentado potencial para remover os micropoluentes presentes nas águas e esgotos (PERONDI, 2019).

Importante salientar que os POAs, apesar de promoverem mudanças nas estruturas químicas dos contaminantes, levando em alguns casos, a mineralização dos mesmos, os tratamentos aplicados sobre os efluentes podem gerar a produção de subprodutos mais tóxicos aos organismos que os próprios poluentes a serem tratados. Portanto, além de atingir os limites físico-químicos estabelecidos pelas Legislações vigentes para lançamento dos efluentes nos corpos hídricos, é importante que diferentes testes ecotoxicológicos garantam a segurança deste efluente tratado.

Os organismos bioindicadores utilizados para monitorar efluentes ou ambientes tem a capacidade de fornecer respostas fisiológicas, morfológicas ou moleculares para o agente tóxico aos quais podem estar sendo expostos (ZHOU et al., 2008, MAGNONI, 2019). Dentre os bioindicadores e biomarcadores utilizados em testes ecotoxicológicos pode-se citar *Eisenia fetida* L. e o teste de fuga, *Artemia salina* L. e o teste de imobilidade/mortalidade e cultura de células de mamíferos e o teste de citotoxicidade do MTT (Brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazólio).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo aplicar e comparar a eficiência do tratamento físico-químico com o coagulante natural produzido das raízes de *U. Baccifera* e o POA de foto-ozonização no efluente bruto de um laticínio da mesoregião sudoeste do Estado do Paraná, com base na caracterização físico-química e avaliação do efeito toxicológico, para os bioindicadores *E. fetida*, *A. salina* e com cultura de células de mamíferos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Aplicar e comparar diferentes tratamentos em efluente de um laticínio que produz queijos, da região sudoeste do Estado do Paraná, em termos físico-químicos e toxicológicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar as características físico-químicas e toxicológicas do efluente bruto de um laticínio de produção de queijo;
- Avaliar a eficiência do coagulante natural *U. baccifera* sobre o efluente deste laticínio em termos físico-químicos e toxicológicos;
- Avaliar a eficiência da foto-ozonização sobre o efluente deste laticínio em termos físico-químicos e toxicológicos;
- Observar os parâmetros físico-químicos e ecotoxicológicos durante os tratamentos aplicados;
- Utilizar o bioindicador *Artemia salina* L., pelo teste de imobilidade/ mortalidade, para avaliar a toxicidade dos efluentes;
- Utilizar o bioindicador *Eisenia fetida*, pelo teste de fuga, para avaliar a toxicidade dos efluentes;
- Utilizar cultura de células de mamíferos, pelo teste de citotoxicidade do MTT, para avaliar a toxicidade dos efluentes.

3 JUSTIFICATIVA

No Brasil existem muitos laticínios onde a produção de resíduos é alta, pois é utilizada uma grande quantidade de água durante todo o processo de produção e higienização, resultando em preocupação com relação ao destino dos efluentes gerados.

Os efluentes de laticínios possuem características diversas, de acordo com tipo de linha e produção, sendo que todos contém como principal característica a coloração leitosa, gordura e elevada carga orgânica. Na higienização dos equipamentos são utilizados produtos químicos, ácidos e alcalinos em diversas concentrações, além de detergentes, que também passam a compor os efluentes gerados.

Os tratamentos convencionais de efluentes de laticínios são os mais utilizados, principalmente pelo tratamento biológico e o tratamento físico-químico, com o uso do cloreto férrico e o sulfato de alumínio como coagulantes, por apresentar resultados imediatos. Entretanto, o uso de coagulantes naturais tem sido investigados, principalmente com o objetivo de reduzir a toxicidade e por serem biodegradáveis. Neste sentido, destaca-se a investigação de coagulantes com atividades ainda não identificadas, como do extrato de uma planta conhecida popularmente como o urtigão.

Além disso, os POAS também têm apresentado bons resultados no tratamento de efluentes industriais, tendo como vantagem não ser tóxico. Porém, os tratamentos aplicados sobre os efluentes podem gerar a produção de subprodutos mais tóxicos aos organismos. Portanto, além de atingir os limites físico-químicos estabelecidos pelas legislações vigentes para lançamento dos efluentes nos corpos hídricos, é importante que diferentes testes ecotoxicológicos garantam a segurança deste efluente tratado.

Os testes de ecotoxicidade de mortalidade/imobilidade, fuga e citotoxicidade, com os bioindicadores *Artemia salina* L., *Eisenia fetida* e cultura de células de mamíferos, respectivamente, já foram e podem ser utilizados para confirmar a segurança ambiental de efluentes a serem lançados nos corpos hídricos.

Pois isso, este trabalho irá aplicar e comparar diferentes tratamentos sobre os efluentes gerados por uma indústria de laticínios, em termos físico-químicos e toxicológicos.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 POLUIÇÃO AMBIENTAL

Os mares, oceanos e rios tem um papel fundamental para a sobrevivência na terra, tanto da fauna quanto na flora, além dos recursos minerais e energéticos. Apesar disso, é evidente a poluição que estes ecossistemas estão sendo expostos (MAFORD et al., 2020).

A contaminação das águas vem se tornando cada vez mais frequente, pelo descarte inadequado de esgotos das residências e de efluentes das indústrias. As empresas, de forma geral, contribuem com a poluição do meio ambiente, com descarte de embalagens, produtos de diversas origens e uso descontrolado de recursos naturais (PEREIRA et al., 2017).

Conforme Soares et al. (2015), as agressões ao meio ambiente concentram problemas éticos, políticos, econômicos, sociais e culturais, sendo preciso buscar formas de melhoria da qualidade de vida dos seres humanos, mas comprometida com a preservação da natureza e do meio ambiente.

Segundo Furtado (2018), os efluentes possuem diversos contaminantes, muitos com propriedades tóxicas que necessitam ser retiradas por tratamentos adequados, sendo que quando os efluentes não são tratados de forma correta podem causar danos ao meio ambiente, à saúde humana e todos os seres vivos.

Em especial, destaca-se os efluentes de laticínios, que se lançados nos corpos hídricos sem tratamento podem inviabilizar o uso desta água para outras atividades, como as industriais, o consumo humano e até mesmo, causar danos aos organismos que vivem ou dependem deste rio (SILVA et al., 2018).

As indústrias de laticínios, além de produzirem resíduos líquidos em grande quantidade, também possuem outros poluentes que são emitidos ao meio ambiente, como as emissões atmosféricas pela fumaça e também resíduos sólidos. Todos os resíduos de uma certa forma, quando lançados no meio ambiente incorretamente, podem tornar-se um problema ambiental. Para minimizar e/ou evitar estes danos faz necessário um controle na geração deste poluentes pela indústria de laticínio (SILVA, 2011).

4.2 EFLUENTES DE LATICÍNIOS

Azzolini (2013) cita que as indústrias de laticínios englobam grande número de operações e processos, como: recepção, processamento, tratamento térmico, elaboração dos produtos, embalagens, armazenamento e expedição e, em todas as etapas, é utilizada muita água. Assim, as indústrias de laticínios se destacam no consumo de água e na geração de resíduos líquidos (NADAL et al., 2018; SILVA et al., 2018; PAPP et al., 2019) e, em especial, devido aos processos de higienização dos equipamentos com produtos químicos, gera-se efluente com alteração de pH (SILVA et al., 2018).

Os despejos líquidos das indústrias lácteas são compostos de matéria-prima diluída, como matéria orgânica, compostos proteicos, gordurosos, carboidratos, materiais flutuantes como graxas, produtos químicos ácidos e alcalinos, detergentes neutro, desinfetantes e óleos de equipamentos. Desta forma, apresentam alteração de pH, elevada demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO), devido à grande quantidade de lipídios, proteínas, carboidratos e lactose (SILVA et al., 2013; NADAL et al., 2018).

O soro é o principal agente poluidor dos laticínios quando este laticínio trabalha com a produção de queijos. A cada dez litros de soro sem tratamento descartado no meio ambiente equivale a poluição causada por cinco habitantes, além de aumentar DBO e causar a eutrofização nas águas (SILVA et al., 2018).

Segundo Souza e Hemkemeier (2020), dependendo do tipo de queijo produzido e as enzimas utilizadas nesta fabricação, gera-se um soro de leite mais doce ou mais ácido. Também dependendo do tipo de leite utilizado, de cabra, ovelha, vaca entre outros, ou a época do ano, as condições climáticas, o tipo de alimentação dos animais e o tempo de lactação podem influenciar na qualidade de leite e, conseqüentemente, nas condições finais do efluente.

Para definir o tratamento do efluente gerado, é necessário conhecer as características físicas, biológicas e químicas do efluente gerado. Desta forma, a indústria pode adotar a melhor forma de tratamento (AZZOLINI; FABRO, 2013).

Os efluentes líquidos quando lançados de forma incorreta alteram a qualidade da água a jusante do lançamento, tornando-a imprópria para o consumo, desta forma, o controle e caracterização correta do efluente é imprescindível para o tratamento eficiente (SILVA et al., 2018).

4.3 TRATAMENTO DE EFLUENTES

Para o tratamento de águas residuais provenientes de agroindústrias de laticínios são utilizados processos físico-químicos e biológicos (PAPP et al., 2019). Os processos físico-químicos são capazes de remover a matéria orgânica e a inorgânica em suspensão coloidal e reduzir a presença de microrganismos. Os tratamentos biológicos removem a matéria orgânica dissolvidas em suspensão, através de transformação destes em sólidos sedimentáveis como flocos biológicos ou gases (NADAL et al., 2018).

Para o tratamento físico-químico, o coagulante mais utilizado é o inorgânico, a base de ferro ou alumínio, pelo custo benefício e sua eficiência (BRAUN et al., 2014). Avaliando do ponto de vista ambiental, estes tipos de coagulantes possuem como ponto negativo os seus resíduos, pois permanecem sais de ferro e alumínio no lodo, podendo ser tóxicos e não biodegradáveis.

Assim, para minimizar estes problemas pode-se utilizar os coagulantes orgânicos, que são biodegradáveis, não são tóxicos e produzem lodo em menor quantidade, isentos de sais metálicos, podendo ser destinados como forma de adubação para áreas degradadas e sem risco de contaminação (KUHN et al., 2015; PAPP et al., 2019), sendo uma alternativa sustentável para o setor industrial (OLIVEIRA et al., 2018).

Gallio (2019) descreve que os coagulantes naturais vêm sendo utilizados e avaliados em função do seu potencial de aplicação em diferentes tipos de processos, destacando-se os coagulantes naturais extraídos das seguintes plantas: *Moringa Olifera*, *Greolifera*, *Cadia celsina*, *Bombax*, *Aloe vera*, *Grewia asiatica* e *Hibiscus ficulneus*.

Segundo Franco et al. (2017), a *M. olifera* possui funções medicinais e alimentícias, as folhas podem ser usadas para clarificação de água para o consumo humano, e as sementes apresentam melhor potencial de coagulação e floculação que as demais partes da planta. O uso da semente da *M. oleifera*, pode reduzir bastante o uso de coagulantes químicos, apresentando como vantagens geração de lodo biodegradável, manutenção do pH da água, altas eficiências na remoção de cor e turbidez, normalmente acima de 90% (FRANCO et al., 2017). Entretanto, estudos buscando a identificação de outros coagulantes naturais são importantes, principalmente de plantas poucos estudadas, como da *Urera baccifera*.

Os processos biológicos tem demonstrado menores custos de instalação e operação, sendo que as bactérias possuem capacidade muito maior de transformação das espécies nitrogenadas

presentes nos efluentes em nitrogênio gasoso (N_2) e, demonstraram crescente potencial para aplicação em tratamentos de efluentes agroindustriais, pois apresentam alta eficiência e baixo custo (SCHEEREN et al., 2011).

Os Processos Oxidativos Avançados (POA) também podem ser utilizados para tratamento de efluentes. São processos que se baseiam em radicais livres e, o mais usado é de fotocatalise heterogênea com sistema de dióxido de titânio/UV (TiO_2/UV) (FIOREZE et al., 2014). A fotocatalise heterogênea é um processo obtido a partir da irradiação de um catalisador, que pode ser utilizado o dióxido de titânio (TiO_2), que gera um radical livre hidroxila ($\bullet OH$), que tem o poder de oxidar as moléculas orgânicas, transformando em compostos menores e oxidando-as (DIAS et al., 2018).

A foto-ozonização é um dos POAs utilizados em tratamentos de efluentes. O uso do processo com ozônio foi utilizado por muito tempo apenas no tratamento de água visando à desinfecção e eliminação de odor, sabor e cor, mas pelas suas características químicas e reativas, a aplicação do ozônio tem se expandido de maneira considerável, sendo utilizado para tratamentos terapêuticos como ozonioterapia para seres humanos e animais, conforme cada protocolo do profissional, e no tratamento de esgoto e efluentes de diversos processos industriais, como da indústria de celulose e papel, têxtil, farmacêutica, laticínios, entre outras (JUNIOR, 2018).

O processo apresenta muitas vantagens como insolubilidade em água, boa estabilidade em ampla faixa de pH e por ser atóxico, também demonstra ser eficaz na degradação de contaminantes orgânicos e na eliminação microbológica sem geração de lodo residual (DIAS et al., 2018). Porém, é um tratamento com custo elevado e com uso de luz ultravioleta (FIOREZE et al., 2014).

4.4 LEGISLAÇÃO AMBIENTAL

A Resolução N° 357 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), de 17 de março de 2005, estabelece os padrões do corpo hídrico receptor e destaca que os efluentes, de qualquer fonte poluidora, só poderão ser lançados no corpo receptor, após tratamento, seguindo os padrões conforme a legislação. Nesta, os padrões para lançamento de efluentes são: pH entre 5 a 9; temperatura inferior a $40^\circ C$; materiais sedimentáveis até 1 mL/L. com regime de lançamento de vazão máxima de até 1,5 vez a vazão média do período de atividade diária do

agente poluidor; óleos minerais até 20 mg/mL óleos vegetais e gorduras animais até 50 mg/L e ausência de materiais flutuantes (BRASIL, 2005).

A Resolução N° 430 do CONAMA, de 13 de maio de 2011, dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementando e alterando a Resolução n° 357/2005, adicionando que para lançamento de efluentes este deve ter remoção mínima de 60% da demanda bioquímica de oxigênio 5 dias a 20° (BRASIL, 2011).

A Resolução do CEMA 070/09 (PARANÁ, 2009) é uma legislação do estado do Paraná que dispõe sobre os padrões para liberação dos efluentes nos corpos hídricos. Com relação ao efluente de laticínio, o padrão para DQO é de 200 mL/L, DBO₅ de 50 mg/L e óleos e graxas até 50mg/L.

A Resolução do CEMA N° 81, de 19 de outubro de 2010 (PARANÁ, 2010), dispõe sobre os critérios e padrões de ecotoxicidade para o controle de efluentes líquidos em águas superficiais do estado do Paraná, considerando preservar a qualidade ambiental, de saúde pública e dos recursos naturais. Os testes de ecotoxicidade tem como objetivo apoiar ações de gestão ambiental indicando a necessidade de controle das fontes geradoras com potencial tóxico para os organismos aquáticos.

Os bioindicadores podem ser usados para realizar os testes ecotoxicidade, para cada tipo de efluente, desde efluentes com toxicidade baixa até efluentes com grau de toxicidade alto, os bioindicadores utilizados conforme a Resolução CEMA N°81 (2010) são: *Vibrio fischeri*, *Misidáceos*, *Daphia magna*, *Ceriodaphnia dubia*, *Scenedesmus subspicatus*, *Echiometra lacunfer*, *Lytechinus variegatus*, *Artemia salina* e *Eisenia fetida*.

4.5 BIOINDICADORES E BIOMARCADORES

Santos et al. (2016) citam que os bioindicadores são utilizados para monitorar a qualidade dos ambientes, sendo espécies, grupos de espécies ou comunidades biológicas que, em abundância num determinado local, são indicativos das condições ambientais.

Os organismos utilizados como bioindicadores devem ser de uma origem onde o manejo é adequado e seguro, ter resistência a substância exposta e adaptabilidade ao experimento de laboratório e fácil manipulação (AKAISHI et al., 2004; MAGNONI, 2019). Com o aumento da industrialização e da urbanização os ecossistemas vêm sofrendo grandes impactos, podendo

contaminar diversos níveis tróficos através da cadeia alimentar atingindo locais distantes de onde ocorre a descargas destes resíduos (SILVA, 2016).

Os biomarcadores são definidos como alterações moleculares, bioquímicas ou fisiológicas das células, tecidos e órgão dos organismos que são expostos aos xenobióticos (SILVA, 2016). Os testes podem são realizados em laboratório ou em campo, sendo que os testes em laboratório estão voltados a analisar as condições e concentrações dos poluentes, permitindo variações de tempo de exposição dos organismos a substancia a ser testadas (ALMEIDA, 2018).

Os biomarcadores ecotoxicológicos se mostraram uma ferramenta importante para a avaliação dos xenobióticos aos quais os organismos podem ser expostos, como metais pesados, matéria orgânica, pesticidas entre outros poluentes lançados no meio ambiente terrestre ou aquático (SILVA, 2016).

4.5.1 *Eisenia fetida* L.

A *E. fetida* é conhecida como minhoca vermelha californiana, por apresentar colorações na parte dorsal do corpo que variam de vermelho, vermelho escuro a marrom. Esta espécie de anelídeo é classificada taxonomicamente no Reino Animalia, Filo Annelida, Classe Clitellata, Ordem Haplotaxida e Família Lumbricidae (ANDRÉA, 2010).

Conforme Andréa (2010), as minhocas tem sido empregada como organismos testes em ensaios de toxicidade por possuírem destaque na formação de solo, capacidade de acumulação de poluentes e desempenharem um papel fundamental nos ciclos do solo, além de fornecerem estimativas sobre a toxicidade, permitindo assim intervalos de doses dos poluentes em estudo, oferecendo estimativas para exposição continua durante um teste.

As minhocas, devido ao seu modo de alimentação detritívoro e sua pele fina e úmida, estão sempre em contato com materiais presentes no solo, assim, qualquer substância tóxica presente no solo poderá afetar de alguma forma a população de minhocas, tornando as mesmas organismos adequados para testes ecotoxicológicos. Ainda tem a vantagem de sua a criação poder ser realizada em laboratório (PANIAGO et al., 2016).

Paniago et al. (2016) citam que as espécies *Eisenia andrei* e *Eisenia fetida* são as mais usadas como bioindicadores ambientais em diversos tipos de ensaios ecotoxicológicos do solo, sendo usados como bioindicadores ambientais de solos contaminados por poluentes orgânicos

persistentes, como fungicida, inseticidas, herbicidas, poluentes inorgânicos como metais pesados, poluentes orgânicos como resíduos do meio urbano, industrial e resíduos de animais.

4.5.2 *Artemia salina* L.

O teste com *A. salina*, se destaca pela rapidez, por ser baixo custo, utilizar poucas amostras, fácil manipulação, alta adaptabilidade e confiabilidade. Pode ser testada em diferentes efluentes, como efluente de lavanderia hospitalar, de lavagens de equipamentos com produtos químicos e industriais (HIROTA, 2012).

Segundo Hirota (2012), esta metodologia pode ser empregada em pesquisas com produtos naturais, síntese de medicamentos, farmacologia, neurologia, química, meio ambiente, ecologia, triagem biológica e outros.

O teste de toxicidade com *A. salina* foi usado, por exemplo, para avaliar o tratamento com o POA com ozônio e UV de um efluente sintético de café, e mostrou que o processo de ozonização interferiu na mobilidade das *A. salina* (TAKASHINA, 2018).

4.5.3 Teste de citotoxicidade do MTT com cultura de células de mamíferos

As células respondem rapidamente a exposição à poluentes alterando suas taxas metabólicas, crescimento celular ou transcrição genética, podendo servir de padrão de citotoxicidade. Assim, estudos *in vitro*, utilizando modelos animais ou humanos, têm contribuído para a triagem e classificação de produtos químicos (EISENBRAND et al., 2002).

O teste quantitativo *in vitro* denominado de ensaio do MTT (dimetiltiazol difenil tetrazolium) foi desenvolvido por Mosmann, em 1983, e baseia-se na capacidade da succinato desidrogenase, uma enzima do ciclo de Krebs, ativa em mitocôndrias de células vivas, em converter o sal tetrazólio (MTT), que é hidrossolúvel e de cor amarelada, em cristais de formazan, de coloração roxa. Assim, quanto maior a conversão, maior a viabilidade celular e, quanto menor a conversão menor a viabilidade celular e, assim, a maior a citotoxicidade.

Os ensaios de citotoxicidade que mensuram a atividade mitocondrial são utilizados para detectar danos precoces, pois os contaminantes da água têm dois efeitos principais sobre as células, efeitos tóxicos que levam essas células à morte ou ainda efeitos proliferativos que podem

indicar sequelas carcinogênicas na biota exposta à tais recursos hídricos (TRINTINAGLIA et al., 2015).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 LATICÍNIO EM ESTUDO

A indústria de laticínios estudada está situada no município de Marmeleiro, no sudoeste do estado do Paraná. A indústria processa em média 40.000 litros de leite mensal, sendo este transformado em diversos tipos de queijos como: queijo colonial, queijos temperados, queijo ao vinho, queijo zero lactose, queijo tipo asiago, queijo tipo gouda e queijo parmesão.

Após a produção, o sub-produto gerado (soro de leite), é armazenado em um tanque fechado, que é enviado para alimentação animal de suínos. Já o soro resultante do processo de prensagem dos queijos, com fermentos e coagulantes, é incorporado juntamente com a água utilizada para a higienização dos equipamentos. Durante este processo de produção é utilizado em média seis litros de água para cada litro de leite produzido, conforme descrito na Figura 01, que apresenta o consumo de água e de geração de efluentes da indústria em cada etapa do processo de produção.

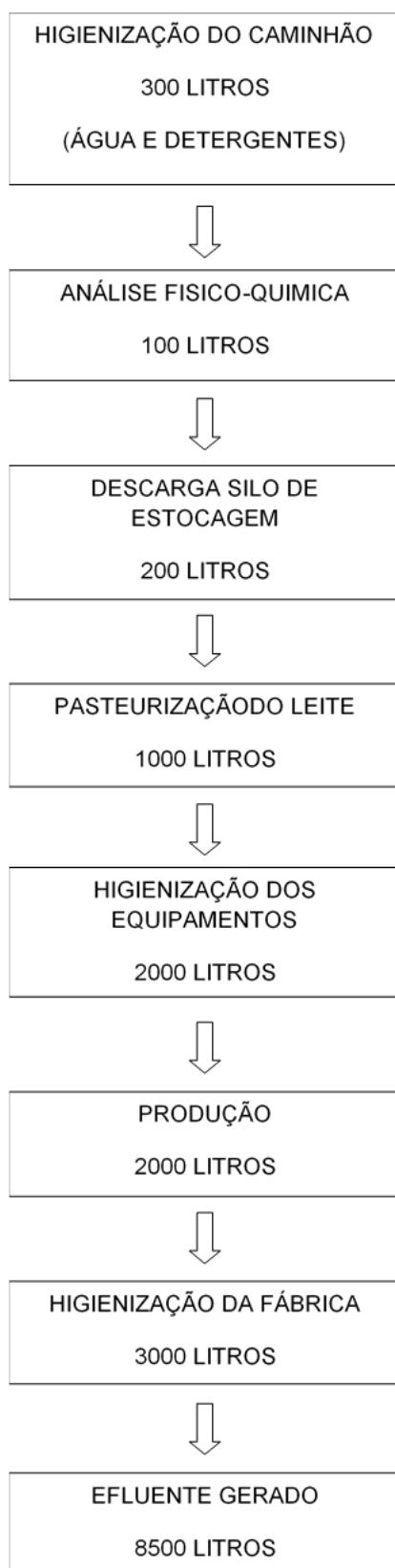
Ao iniciar a produção é realizada a higienização de todos os equipamentos e utensílios que são: pasteurizador, queijo-matic, dreno prensa, desnatadeira, prensas, mesas, formas e tampas (Figura 02). Em média, são utilizados três mil litros de água nesse procedimento, gerando efluente com concentração de produtos alcalinos, ácido e clorados, além do arraste de óleos que saem dos equipamentos, que também são direcionados junto com a água para a lagoa de tratamento.

A água utilizada para a caldeira recebe tratamento com produtos desincrustantes para evitar danos nas tubulações, sendo que o vapor produzido é utilizado para aquecimento dos equipamentos e o excedente é descartado em forma de água quente gerando assim um volume maior de efluente.

No processo para a fabricação dos queijos temperados gera-se resíduos sólidos e líquidos como: restos de tomate, orégano, pimenta, além do vinho, que também são descartados como forma de efluente.

A água utilizada na produção dos queijos é proveniente de um poço artesiano situado na própria indústria. Após ser bombeada para uma caixa de fibra com capacidade de 5.000 litros é feita a adição de hipoclorito a 12% através de bomba dosadora, até atingir a concentração de 0,20 ppm a 2,00 ppm. O controle de qualidade é responsável pelas análises microbiológicas, que são realizadas semanalmente, e análises físico-químicas da água que são realizadas diariamente no laboratório da empresa, avaliando: pH, cloro, coliformes totais e coliformes termotolerantes.

Figura 01 - Fluxograma do consumo de água e de geração de efluentes da indústria de laticínios em todas as etapas do processo produtivo.



Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 02 - Equipamentos da indústria de laticínios.



A: Dreno prensa; B: Máquina de embalagem; C: Lavatório de mãos; D: Pasteurizador/Desnatadeira; E: Queijo-Matic; F: Tanque de higienização.

Fonte: Autoria própria (2020).

Todo o efluente gerado pela indústria é direcionado para uma caixa de gordura localizada na parte externa (Figura 03). Na sequência é enviado por tubulação de pvc de forma subterrânea, para a Lagoa 1 (Figura 04), localizada a 1.500 metros da estrutura principal da indústria de laticínios, porém próximo a mata ciliar e de um rio de pequeno porte. A Lagoa é composta por uma geomembrana como forma de isolamento como pode ser observado na Figura 05. O efluente da Lagoa 1 na saída é coletado semanalmente para realizar análise de pH no laboratório da indústria, com equipamento pHmetro de bancada marca Ohaus ST 2100 F, marca Cap lab.

Figura 03 – Caixa de gordura da indústria de laticínio.



Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 04 - Efluente armazenado na Lagoa 1 da indústria de laticínio.



Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 05 - Estrutura e localização da Lagoa 1 de tratamento da indústria de laticínio.



Fonte: Autoria própria (2020).

5.2 COLETA DO EFLUENTE

Para a obtenção do efluente da indústria de laticínio foi realizada a coleta de amostra composta. Esta amostra foi coletada durante o processo de produção, na saída da fábrica, caixa de gordura e na lagoa de tratamento 1, em diferentes momentos do processo produtivo da empresa.

Foram realizadas coletas de 10 litros de cada ponto a cada 30 minutos durante o processo de produção, totalizando 60 litros de efluente em cada ponto. Estas amostras

foram homogeneizadas e resultou na amostra chamada de efluente bruto. Na sequência, o efluente foi armazenado e congelado para a realização dos tratamentos propostos e das análises toxicológicas.

5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE

As análises físico-químicas do efluente bruto foram realizadas pelo laboratório LGQ (Francisco Beltrão - Paraná) e seguiram a metodologia estabelecida no Standart Methods (2012), avaliando os seguintes parâmetros: alcalinidade total, pH, demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), ferro total, nitrogênio amoniacal total, nitrogênio total, óleos e graxas totais, sólidos sedimentáveis, sólidos suspensos totais, sólidos totais fixos, sólidos totais voláteis e sólidos totais.

Os resultados foram comparados com Resolução Brasileira do CONAMA Nº430/2011 (BRASIL, 2011), que descreve os padrões para lançamento dos efluentes nos recursos hídricos.

5.4 SISTEMAS DE TRATAMENTO DOS EFLUENTES

5.4.1 Tratamento Físico-químico (Coagulação)

5.4.1.1 Obtenção do coagulante

Em estudos preliminares (dados não apresentados), verificou-se que o extrato proveniente da raiz da *U. baccifera* apresentou maior potencial como coagulante que o extrato produzido a partir das folhas desta planta, por isso, optou-se por utilizar o extrato das raízes da *U. baccifera* como coagulante neste trabalho. O extrato foi produzido em parceria com a empresa América Verde Fármacos, sendo que o processo extrativo se encontra sob sigilo.

5.4.1.2 Ensaio de coagulação

Foram avaliadas as condições de operação do processo de coagulação, com o coagulante natural *U. baccifera*, que maximizassem a eficiência da remoção da turbidez

e dos óleos e graxas, por serem parâmetros que estavam fora dos limites estabelecidos pela Legislação Brasileira do CONAMA N°430/2011 para lançamento deste efluente nos corpos hídricos (BRASIL, 2011), respectivamente.

Após testes preliminares, foi realizado um delineamento composto centro rotacional (DCCR) com três variáveis independentes (pH, dosagem do coagulante e tempo de decantação). Para isso foram definidos 17 ensaios: 8 relativos ao planejamento fatorial 2^3 (níveis +1 e -1) para obtenção dos parâmetros lineares do modelo de regressão, 6 referentes aos pontos axiais (níveis +1,68 e -1,681) indicando os parâmetros quadráticos do modelo de regressão e 3 pontos centrais (nível 0) para avaliação do erro experimental envolvido. A partir dos níveis (Tabela 01), a matriz do planejamento foi construída, conforme Tabela 02.

Tabela 01 - Valores codificados e reais para as três variáveis independentes avaliadas (pH, dosagem do coagulante e tempo de decantação) no processo de coagulação com o coagulante *U. baccifera*

Variáveis operacionais	Níveis				
	-1,68	-1	0	1	1,68
pH	6,6	8,0	10,0	12,0	13,4
Dosagem de coagulante (mL/100 mL)	1,6	5	10	15	18,4
Tempo de decantação (min)	6,6	10	15	20	23,4

Fonte: Autoria própria (2022)

Tabela 02 - Matriz do planejamento experimental (DCCR 2^3) para coagulação com o coagulante *U. baccifera* com as combinações das três variáveis independentes avaliadas (pH, dosagem do coagulante e tempo de decantação)

Ensaio	Variáveis		
	pH	Dosagem de coagulante (mL/100 mL)	Tempo de decantação (min)
1	8,0	5,0	10,0
2	8,0	5,0	20,0
3	8,0	15,0	10,0
4	8,0	15,0	20,0

5	12,0	5,0	10,0
6	12,0	5,0	20,0
7	12,0	15,0	10,0
8	12,0	15,0	20,0
9	6,6	10,0	15,0
10	13,4	10,0	15,0
11	10,0	1,6	15,0
12	10,0	18,4	15,0
13	10,0	10,0	6,6
14	10,0	10,0	23,4
15 (C)*	10,0	10,0	15,0
16 (C)*	10,0	10,0	15,0
17 (C)*	10,0	10,0	15,0

(C)* - ponto central.

Fonte: Autoria própria (2022)

O modelo matemático que relaciona as variáveis independentes (pH, dosagem de coagulante e tempo de decantação) com as variáveis dependentes (percentual de redução da turbidez e percentual de remoção dos óleos e graxas) está apresentado na Equação 1.

$$R (\%) = a_0 + a_1q_1 + a_2q_1^2 + a_3q_2 + a_4q_2^2 + a_5q_3 + a_6q_3^2 + a_7q_1 q_2 + a_8q_1q_3 + a_9q_2q_3 \quad (1)$$

Em que:

R é a resposta experimental (percentual de redução da turbidez ou percentual de remoção dos óleos e graxas)

q_1 é um parâmetro operacional ajustado (pH)

q_2 é um parâmetro operacional ajustado (dosagem de coagulante)

q_3 é um parâmetro operacional ajustado (tempo de decantação)

$a_0, a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, a_6, a_7, a_8$ e a_9 são parâmetros ajustados do modelo que definem regressão polinomial de segunda ordem.

Os ensaios de coagulação foram realizados em equipamento *jar test* (Milan, modelo 2036P) onde primeiramente realizou-se o ajuste do pH do efluente da indústria de laticínio, com solução de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio na concentração de 1 mol/L, conforme valores estabelecidos na Tabela 02 para cada ensaio.

Em seguida foi feita a adição do extrato do coagulante natural *U. baciffera*, nas concentrações definidas no planejamento, seguida da mistura rápida (30 segundos em 100 RPM) e lenta (15 minutos em 25 RPM), com controle da velocidade de agitação feito pelo próprio equipamento.

Passado o tempo de decantação estabelecido para cada ensaio (Tabela 02) foi realizada a coleta do sobrenadante para as análises posteriores. O efluente em tratamento permaneceu em temperatura ambiente durante todo o processo.

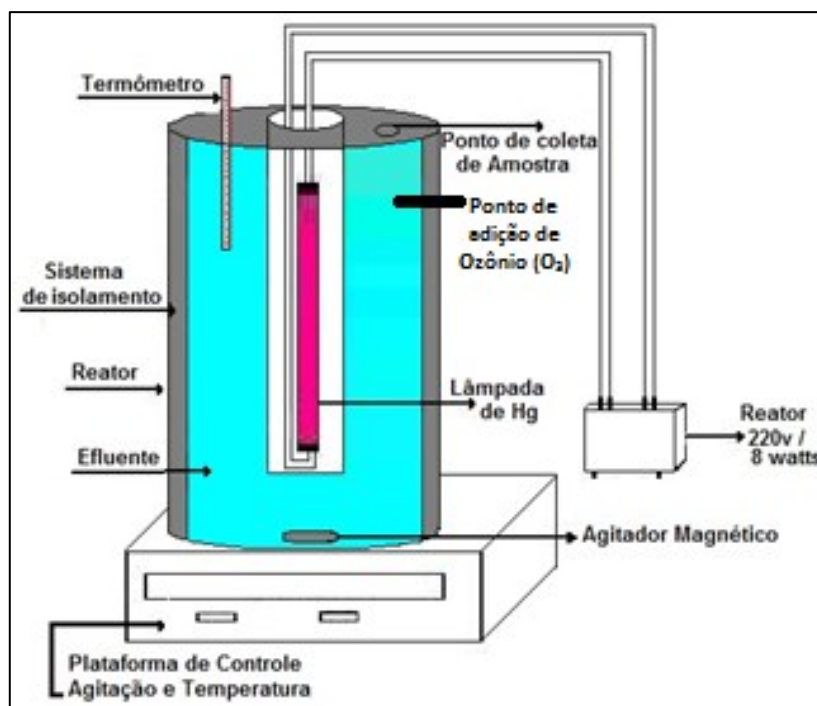
Após a definição da melhor condição de tratamento indicada pelo ponto ótimo do planejamento experimental (por meio da resposta de variação de turbidez e óleos e graxas) foi realizada a caracterização do efluente pelos parâmetros: pH, turbidez, óleos e graxas, DBO, DQO, sólidos totais, sólidos voláteis e sólidos sedimentáveis, conforme estabelecido no item 5.3.

5.4.2 Processos Oxidativos Avançados

5.4.2.1 Foto-ozonização

O efluente bruto e o efluente tratado na melhor condição do tratamento de coagulação foi submetido ao ensaio de foto-ozonização (O_3/UV), foram utilizado dois litros da amostra (efluente bruto, tratado coagulação), por um tempo de 1 hora cada amostra, sendo utilizado um reator descontínuo com dois litros de volume útil (Figura 06).

Figura 06- Representação do reator fotoquímico.



Fonte: BOHRER (2020).

O ozônio empregado no ensaio de foto-ozonização foi gerado a partir do oxigênio atmosférico em um ozonizador modelo OZONIC OP e, foi continuamente introduzido no reator através de um difusor de pedra porosa com uma vazão de 10L/hora.

O reator (Figura 06) é composto por um tubo de vidro transparente (diâmetro interno de 11 cm e altura de 37 cm) com dois acessos na tampa, um para coleta das amostras e outro para controle da temperatura durante as reações, além de um acesso na lateral para adição do ozônio. A fonte de radiação ultravioleta UV-C ($\lambda=254$ nm) é constituída por uma lâmpada de vapor de mercúrio (Osram) de 8 watts de potência, fixada no centro do reator com a proteção de um tubo de quartzo (3 cm de diâmetro por 30 cm de altura). O sistema possui um agitador magnético com o intuito de promover a homogeneização das amostras. O tempo das reações foi de 1 horas em temperatura ambiente.

Foi avaliada a eficiência e remoção das seguintes variáveis para fins de comparação foi realizada a caracterização do efluente pelos parâmetros: pH, turbidez, óleos e graxas, DBO, DQO, sólidos totais, sólidos voláteis e sólidos sedimentáveis, conforme estabelecido no item 5.3.

5.5 TESTES DE ECOTOXICIDADE

5.5.1 Solução tratamento

A fim de eliminar as variáveis e avaliar a eficiência dos tratamentos na ecotoxicidade dos efluentes, foram avaliadas as amostras do efluente bruto, tratado com o coagulante *U. baccifera* nas condições ótimas definidas no planejamento experimental, tratado com foto-ozonização, tratado com o coagulante *U. baccifera* seguido da foto-ozonização e a *U. baccifera* sozinha, na mesma concentração definida como ótima no planejamento experimental da coagulação (14 ml/ 100ml de água destilada), com e sem o pH ajustado, de acordo com a condição ótima definida no planejamento experimental da coagulação (pH 9,9).

5.5.2 Teste de Imobilidade/Mortalidade com *Artemia salina* L.

O teste realizado de toxicidade aguda com *A. salina* L. foi realizada pelo método proposto por Guerra (2001), com modificações baseadas na ABNT NBR 13373 (2010). Cistos de *A. Salina* foram incubados em solução com sal marinho sintético (30 g/L), aerados, sem luminosidade e temperatura de 25°C, para induzir a eclosão. A água utilizada para preparar a solução foi salina foi coletada do poço artesiano da própria indústria, sendo destilada por destilador marca Cap-Lab.

Após a eclosão, 10 náuplios foram transferidos para poços de placas de cultivo de 24 poços (Figura 07), contendo 10 náuplios por poço e 2 mL das amostras tratamento, controle negativo com água destilada e controle negativo com solução salina (controle salino) nas seguintes concentrações: 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,2% e 3,1%. Foram realizadas quadruplicatas, de cada grupo amostral e, após 24 horas de incubação das placas a 25°C e ao abrigo da luz, foi feita a contagem do número de náuplios mortos, consideradas como tal aqueles que permaneceram imóveis durante 20 segundos de observação.

Os números de *A. salina* vivas/moveis, do teste de imobilidade/mortalidade foram avaliados pelo teste de normalidade e ANOVA, seguidos do teste de comparação de médias de Kruskal-Wallis ($\alpha=0,05$; $n=4$), por meio *software Action 6.2*.

Figura 07 - Montagem e leitura do teste de imobilidade/mortalidade com *A. salina*.



Fonte: Autoria propria (2020).

5.5.3 Teste de Fuga com *Eisenia fetida* L.

O ensaio de fuga com as minhocas *E. fetida* (Figura 08) foi realizado segundo normativa NBR ISO 17.512-1 (ABNT, 2011) e protocolado pela ISSO (2008). Utilizou-se uma adaptação do solo artificial (SAT) proposto pela OECD (1984), como solo para ensaios de fuga. Denominado solo artificial tropical, este é constituído por uma mistura de areia fina seca e peneirada (70%), caulim em pó (20%) e fibra de coco formato chips (10%) (Figura 08).

Figura 08 – Minhocas e solo artificial tropical no teste de fuga com *Eisenia fetida*



Fonte: Autoria propria (2020).

Este solo foi distribuído em recipientes retangulares de polipropileno, com altura 115 mm, e dimensões 175 x 132 mm. A tampa dos recipientes foi perfurada, e seu volume no interior dividido ao meio por um divisor plástico removível. Cada lateral do frasco continha 300 g de SAT e, a umidade do solo foi ajustado para 60% da capacidade máxima de retenção de água, utilizando água destilada, solução de ácido bórico (750 mg/kg de solo SAT) para o controle positivo e as amostras tratamento.

Para cada tratamento, uma lateral dos frascos continha SAT+água destilada, enquanto a outra metade foi preenchida com a mesma quantidade de solo-teste e a solução tratamento (SAT + ácido bórico ou efluente). Então, retirou-se o divisor plástico e colocou-se 10 minhocas na linha divisória entre os dois lados que se encontram no mesmo recipiente, lado a lado. Foram utilizadas minhocas da espécie *E. fetida*, coletadas já adultas no minhocário da UTFPR campos de Francisco Beltrão.

Os recipientes foram mantidos no escuro durante 48 horas e, passado este período, recolocou-se o divisor plástico em todos os recipientes, separando o solo controle e tratado. Após isso, realizou-se a contagem dos organismos de cada seção dos recipientes. Se no momento de recolocar as divisórias algum organismo sofrer corte em seu corpo, considerou-se a presença na lateral que continha a parte anterior do corpo (CANDELLO, 2014).

No controle negativo (CO-) do experimento, o solo controle, sem contaminantes, foi disposto nas duas seções do recipiente. Esse processo verifica o atendimento a um dos critérios de validação do ensaio: a distribuição homogênea dos organismos nos recipientes- teste, na ausência de contaminantes. Nesse ensaio analisou-se o número de minhocas mortas durante o período de exposição. O teste é válido somente se este número for menor que 10% em cada recipiente.

A análise dos dados foi realizada em termos de porcentagem de fuga, de acordo com a equação 2:

$$\% = [(Nc - Nt) / N] \times 100 \quad (2)$$

% = porcentagem de fuga;

nC= número de minhocas encontrada da seção B(solo-controle);

nT= número de minhocas encontrada da seção A (solo-teste);

N= número total de minhocas (soma das replicadas por efluente).

Respostas negativas (as minhocas preferem solo teste), são consideradas como 0% de fuga. E, o solo é considerado tóxico quando mais de 80 % dos organismos expostos preferem o solo controle.

Os dados médios e desvio-padrão do número de *E. fetida* encontradas em cada seção do recipiente do teste de fuga foram analisados pelo teste de Fisher unicaudal, por meio do *software Action 6.2*.

5.5.4 Teste de Citotoxicidade do MTT com Cultura de Células de Mamíferos

O ensaio de citotoxicidade do MTT foi realizado de acordo com o protocolo sugerido (MOSMANN, 1983), com modificações. As células LLC-MK2, derivadas de rim de *Macaca mullata*, foram cultivadas em frascos de cultura de 25 cm², contendo 10 mL de meio de cultura DMEM, suplementando com 15% de soro bovino fetal, e incubadas em estufa a 37 °C com 5% de CO₂.

Para os experimentos, foram utilizadas placas de cultura de 96 poços onde foram cultivadas 1x10⁵ células LLC-MK2/poço. Após estabilização por 24 horas, o meio de cultura foi descartado e adicionado 100 µL de meio completo com os seguintes tratamentos: meio de cultivo (controle negativo - CO-), agente citotóxico metil metanossulfonato (MMS – 150 µM), (controle positivo - CO+) e tratamentos com as concentrações de 1:10, 1:100 e 1:1000 (v/v, amostra/meio) das amostras tratamento. Estas amostras foram previamente filtradas utilizando microfiltros com um tamanho de poro de 0,22 µm.

Após 24, 48 e 72 horas de incubação, o tratamento foi substituído por meio de cultura contendo de MTT (0,167mg/mL). As placas foram incubadas por mais quatro horas antes do descarte do meio contendo MTT, seguido da adição de 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) para solubilização dos cristais de formazan. A leitura das absorbâncias foi realizada em leitora de microplacas (Thermo Plate) a 560 nm utilizando o espectrofotômetro UV-Vis. A análise estatística foi realizada pelo teste de normalidade e ANOVA, seguida do teste de comparação de medias de Dunnet ($\alpha=0,05$; n=4), por meio *software Action 6.2*.

Também foi realizado o cálculo da viabilidade celular pela Equação 3.

$$VC = \left(\frac{ABS_T}{ABS_{C0-}} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

VC = Viabilidade celular [%];

ABS_T = Absorbância do tratamento;

ABS_{C0-} = Absorbância do controle negativo.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE

Os dados das análises físico-químicas do efluente bruto da indústria de laticínios de queijos (Tabela 01) mostram que o efluente apresentava elevadas, DBO₅ (1.435,82 mg/L) e DQO (2.346,24 mg/L). Estes resultados são justificados principalmente pela presença de resíduos de leite e soro, que elevam a carga orgânica do efluente. A elevada concentração da DBO₅ também pode ser, como sugerido por Batista e Aguiar (2018), devido ao mau funcionamento de equipamentos, uso excessivo de produtos químicos e água na lavagem dos equipamentos e, até mesmo, o tipo de atividade que este laticínio desenvolve, podendo liberar mais resíduos no processo de fabricação dos produtos.

Tabela 03 - Características físico-químicas do efluente bruto do laticínio de queijos.

Parâmetros	Valor
pH	9,93
Turbidez	506 UNT
DBO ₅ 20°C	2942,33 mg/L
DQO	5551,56 mg/L
Óleos e graxas total	1133,00 mg/L
Sólidos suspensos totais	6836,00 mg/L
Sólidos sedimentáveis	1,5 mg/L
Sólidos voláteis	1645,00 mg/L

DBO₅- Demanda Bioquímica de Oxigênio; DQO: Demanda Química de Oxigênio; UNT: unidades nefelométrica de turbidez.

Fonte: Autoria própria, 2022.

Azzolini e Fabro (2013) ressaltam que o parâmetro DBO₅ retrata de uma forma indireta o teor de matéria orgânica nos efluentes ou no corpo da água, sendo, portanto,

uma indicação do potencial do consumo de oxigênio dissolvido. A presença do elevado teor de matéria orgânica pode induzir ao completo esgotamento do oxigênio na água, provocando o desaparecimento de peixes e outras formas de vida aquática.

A relação entre DBO_5 e DQO do efluente permite avaliar a sua condição de biodegradabilidade e conseqüentemente, a viabilidade de implantação de um sistema adequado de tratamento. No presente estudo o valor da DQO foi de 5551,56 mg/L e o valor da DBO_5 do efluente foi de 2942,33 mg/L e o valor dessa relação (DQO/ DBO_5) foi abaixo de 1,88, abaixo de 2,5 conforme Batista e Aguiar (2018), indicando a presença de matéria orgânica biodegradável, porém necessitando de um tratamento prévio ou um tratamento capaz de eliminar possíveis inibidores, tornando mais difícil o tratamento biológico, aeróbio ou anaeróbio.

O processo aeróbio possui alta eficiência na remoção da matéria orgânica, porém, opera com carga orgânica volumétrica baixa, pois possui uma limitação imposta pela transferência de oxigênio, tornando difícil a capacidade de processamento. Já o tratamento anaeróbio pode ser operado com carga orgânica volumétrica alta, porém, possui a capacidade de remoção de matéria orgânica inferior aos processos aeróbios.

Inclusive, o teor de sólidos suspensos totais do efluente (Tabela 03) encontrado foi elevado (6836,00 mg/L) e, se comparado o valor com o obtido no estudo de Henares (2015) (692 mg/L), também com efluente de laticínio de queijo, o valor foi cerca de 10 vezes maior. Os sólidos sedimentáveis (1,5 mL/L) e voláteis (1645,00 mg/L) (Tabela 03) também estavam altos, sugerindo a necessidade de realizar o tratamento deste efluente para a redução destes parâmetros.

Outro parâmetro que apresentou resultado bem elevado foi o de óleos e graxas (1.133,00 mg/L). Esta característica se deve provavelmente devido a alta concentração de soro e resíduos de leite da própria produção. No trabalho de Henares (2015), o efluente de laticínio de queijos apresentava teor de óleos e graxas inferior ao do presente estudo (987,0 mg/L), sendo que isso pode ocorrer devido a matéria prima, quantidade de efluente gerada em cada fábrica, as condições que são realizadas as higienizações, manutenção de equipamentos entre outros processos.

Com relação ao pH os dados mostram que o efluente bruto possui um valor básico (9,93) (Tabela 03). Nos testes rotineiros realizados no laboratório da indústria, o pH do

efluente sofreu pequenas variações conforme os tipos de produtos fabricados e os dias de produção, mas manteve-se na média de 10 UpH. (Tabela 04).

Tabela 04 - Média do pH do efluente no laboratório da indústria de laticínios.

MÊS /2020	Média do pH
Janeiro	10,55
Fevereiro	9,85
Março	9,99
Abril	10,90
Maio	10,55
Junho	9,90
Julho	10,76
Agosto	10,55
Setembro	10,00

Fonte: Autoria própria, 2020.

A turbidez também é um ponto de indicação da qualidade do efluente e, no presente estudo, apresentou elevado valor (506 NTU). De acordo com Souza e Chagas (2020), a turbidez e a DBO₅ podem ser removidas com o uso de coagulantes naturais como taninos. E, considerando que os efluentes industriais devem seguir a legislação para seu descarte no corpo hídrico, sempre levando em consideração os padrões de saída da indústria e os padrões de lançamento, os resultados da caracterização do efluente bruto do presente estudo demonstram a necessidade de realizar o tratamento deste antes de seu lançamento no meio ambiente.

6.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Os resultados da redução média de turbidez e de óleos e graxas obtidos com a realização dos ensaios de coagulação com o coagulante natural *U. baccifera* conforme planejamento experimental, estão dispostos na Tabela 05. Pode-se observar uma eficiente

taxa de redução da turbidez, superior a 75% com valor máximo de 98,3%, e dos óleos e graxas, maior que 32% com valor máximo de 80,6%.

Tabela 05 – Redução média (%) de turbidez e de óleos e graxas avaliada nos ensaios do planejamento experimental DCCR 2³ para o processo de coagulação com o coagulante *U. baccifera*.

Ensaio	Parâmetro resposta (%)	
	Turbidez	Óleos e Graxas
1	88,7 ± 0,4	32,9 ± 1,6
2	90,9 ± 0,2	42,0 ± 2,1
3	94,8 ± 2,8	68,1 ± 3,4
4	95,7 ± 1,6	74,4 ± 3,7
5	89,3 ± 4,9	74,8 ± 3,7
6	89,4 ± 7,8	76,5 ± 3,8
7	96,5 ± 3,0	80,6 ± 4,0
8	97,7 ± 2,0	80,6 ± 4,0
9	90,5 ± 2,4	46,7 ± 2,3
10	82,3 ± 5,7	67,0 ± 3,3
11	75,8 ± 0,2	56,2 ± 2,8
12	98,3 ± 0,2	60,1 ± 3,0
13	96,3 ± 0,7	75,3 ± 3,8
14	97,6 ± 1,1	77,2 ± 3,9
15 (C)*	97,4 ± 0,4	77,4 ± 3,9
16 (C)*	97,8 ± 0,1	83,1 ± 4,2
17 (C)*	96,9 ± 0,1	68,0 ± 3,4

(C)* - ponto central.

Fonte: Autoria própria (2022)

A partir da análise destes dados foram obtidos os valores para os coeficientes lineares e quadráticos do modelo ajustado para o percentual de redução da turbidez (Tabela 06) do efluente, sendo a análise dos efeitos realizada pelo teste t de *Student*. Analisando os valores verifica-se que os fatores pH (termo quadrático) e dosagem de coagulante (termo linear e quadrático) foram estatisticamente significativos ao nível de

5% de significância ($p < 0,05$). Dessa maneira, a equação do modelo matemático é representada pela Equação 4, com coeficiente de correlação de 81,2%, ou seja, sendo mais de 80% dos resultados explicados pelo modelo proposto.

Tabela 06 - Efeito das variáveis do planejamento DCCR 2³ para a redução de turbidez

Fatores	Efeito	t	Coefficiente	Desvio padrão	p
Intercepto	97,15	101,47	97,15	0,96	< 0,0005
pH (q ₁)	-1,63	-1,82	-0,82	0,45	0,0778
pH (q ₁ ²)	-6,32	-6,39	-3,16	0,49	< 0,0005
Dosagem de coagulante (q ₂)	9,42	10,47	4,71	0,45	< 0,0005
Dosagem de coagulante (q ₂ ²)	-5,88	-5,94	-2,94	0,49	< 0,0005
Tempo de decantação (q ₃)	0,98	1,09	0,49	0,45	0,2829
Tempo de decantação (q ₃ ²)	1,12	1,13	0,56	0,49	0,2644
q ₁ x q ₂	1,17	1,00	0,59	0,59	0,3244
q ₁ x q ₃	-0,48	-0,41	-0,24	0,59	0,6840
q ₂ x q ₃	-0,03	-0,03	-0,02	0,59	0,9778

Fonte: Autoria própria (2022)

$$R (\%) = 97,15 - 3,16 q_1^2 + 4,71 q_2 - 2,94 q_2^2 \quad (4)$$

Em que: R é a resposta experimental (percentual de redução da turbidez)

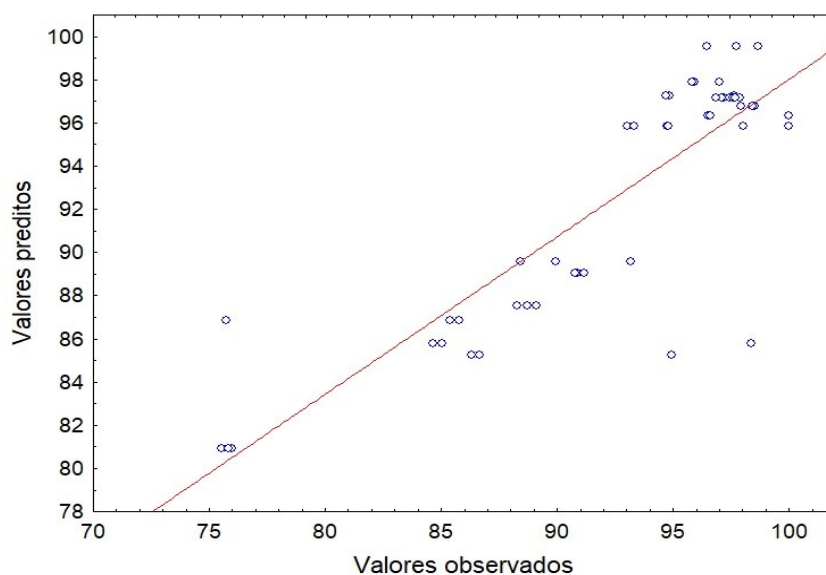
q₁ é um parâmetro operacional ajustado (pH)

q₂ é um parâmetro operacional ajustado (dosagem de coagulante)

Na Figura 09, apresenta-se a distribuição dos resíduos (valores previstos pelo modelo *versus* valores observados) para o parâmetro turbidez e mostra que os valores calculados, em média, estão próximos da reta e com desvios positivos e negativos

(distribuição normal), indicando que o modelo proposto resultou em um ajuste razoável entre os valores previstos e os observados.

Figura 09 - Distribuição dos resíduos: valores previstos pelo modelo versus valores observados no experimento do delineamento experimental de coagulação para a redução da turbidez.



Fonte: Autoria própria (2022)

Para validação do modelo proposto para a redução da turbidez, os parâmetros significativos e as variáveis reais foram correlacionados e avaliados pela ANOVA, apresentada na Tabela 07.

Tabela 07 – Análise de variância do modelo proposto para redução da turbidez obtido pelo delineamento experimental para o processo de coagulação

Fatores	Graus de liberdade	Soma dos quadrados (SQ)	Média dos quadrados (MQ)	F _{calculado}	F _{tabelado (5% de significância)}	p
Regressão	3	1538,39	512,80	61,91	2,87	< 0,0005
Falta de ajuste	6	57,46	9,58	1,16	2,37	0,3490
Erro puro	36	298,20	8,28			

Total	45	1894,05	42,09
-------	----	---------	-------

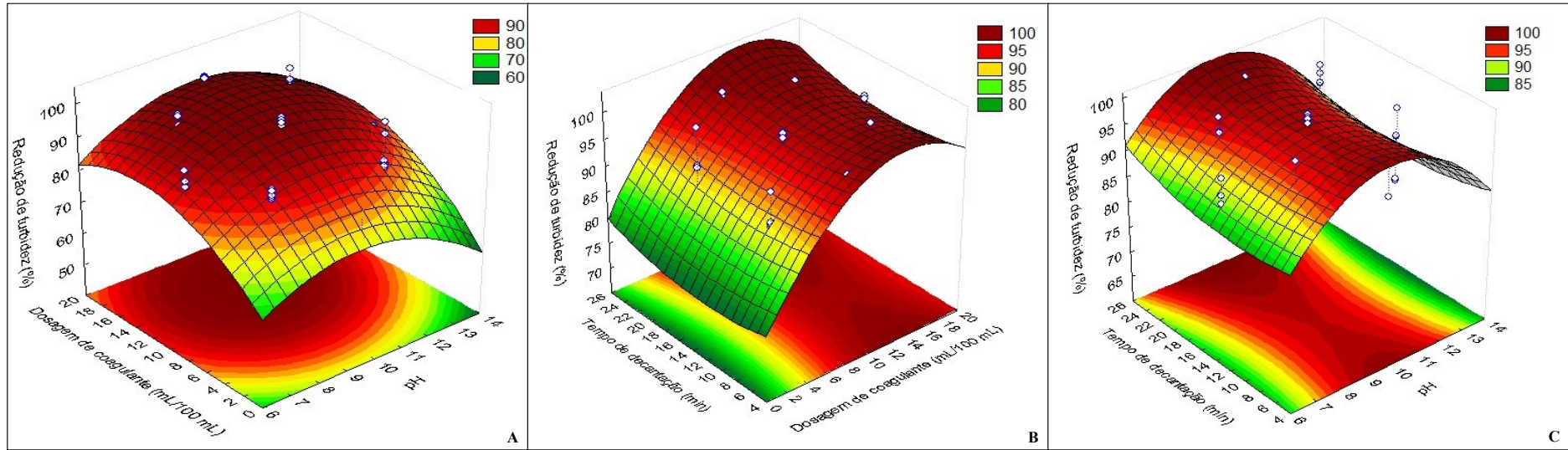
Fonte: Autoria própria (2022)

Como na análise de variância para que o modelo possa ser validado, o valor do $F_{\text{calculado}}$ deve ser superior ao F_{tabelado} (F de Fisher avaliado ao nível de 95% de confiança) (VIRGILLITO, 2017), para o fator de regressão pode-se observar que o modelo proposto pode ser considerado válido ($F_{\text{calculado}} = 61,91 > F_{\text{tabelado}} = 2,87$). Já para verificar que não houve falta de ajuste do modelo, o F_{tabelado} deve ser superior ao $F_{\text{calculado}}$ (F de Fisher avaliado ao nível de 95% de confiança) (VIRGILLITO, 2017), o que também aconteceu no presente estudo ($F_{\text{calculado}} = 1,16 < F_{\text{tabelado}} = 2,37$).

Avaliando-se os gráficos da superfície de resposta (Figura 10), considerando a porcentagem de redução da turbidez como variável resposta, observa-se que as regiões ótimas, que alcançam os melhores percentuais de redução da turbidez, encontram-se entre os pHs 8 a 12, dosagem do coagulante de 10 a 20 mL/100 mL em qualquer tempo de decantação dentro da faixa avaliada. Entretanto, o ponto ótimo indicado pela análise estatística para a redução da turbidez foi no pH 9,92 com dosagem do coagulante de 14 mL/100mL e tempo de decantação de 12,8 minutos.

A partir da análise dos dados de remoção dos óleos e graxas foram obtidos os valores para os coeficientes lineares e quadráticos do modelo ajustado, com a avaliação dos efeitos principais feita pelo teste t de *Student* (Tabela 08). Pode-se observar que os fatores pH (termo linear e quadrático), dosagem de coagulante (termo linear) e interação do fator pH e dosagem do coagulante foram estatisticamente significativos ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Dessa maneira, a equação do modelo matemático pode ser representada pela Equação 5, com R^2 igual a 69,8%, sendo essa a porcentagem de explicação dos resultados pelo modelo proposto.

Figura 10 - Superfície de resposta para o percentual de redução da turbidez em função do pH e dosagem de coagulante (mL/100mL) (A), dosagem do coagulante (mL/100mL) e tempo de decantação (min) (B) e pH e tempo de decantação (min) (C)



Fonte: Autoria própria (2022)

Tabela 08 - Efeito das variáveis do planejamento DCCR 2³ para a remoção dos óleos e graxas

Fatores	Efeito	t	Coefficiente	Desvio padrão	p
Intercepto	75,96	15,44	75,96	4,92	< 0,0005
pH (q ₁)	18,92	4,09	9,46	2,31	0,0046
pH (q ₁ ²)	-12,22	-2,40	-6,11	2,54	0,0473
Dosagem de coagulante (q ₂)	12,29	2,66	6,15	2,31	0,0325
Dosagem de coagulante (q ₂ ²)	-11,29	-2,22	-5,64	2,54	0,0620
Tempo de decantação (q ₃)	2,97	0,64	1,49	2,31	0,5406
Tempo de decantação (q ₃ ²)	1,51	0,30	0,75	2,54	0,7759
q ₁ x q ₂	-14,45	-2,39	-7,23	3,02	0,0479
q ₁ x q ₃	-3,42	-0,57	-1,71	3,02	0,5888
q ₂ x q ₃	-1,13	-0,19	-0,56	3,02	0,8575

Fonte: Autoria própria (2022)

$$R (\%) = 75,96 + 9,46 q_1 - 6,11 q_1^2 + 6,15 q_2 - 7,23 q_1 q_2 \quad (5)$$

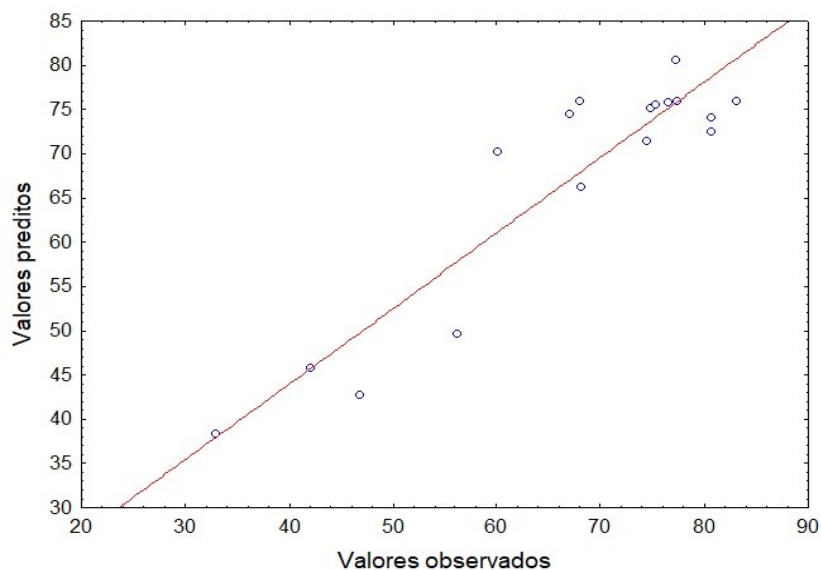
Em que: R é a resposta experimental (percentual de remoção dos óleos e graxas)

q₁ é um parâmetro operacional ajustado (pH)

q₂ é um parâmetro operacional ajustado (dosagem de coagulante)

Com relação a distribuição dos resíduos (valores previstos pelo modelo *versus* valores observados) para o parâmetro óleos e graxas, a Figura 11 mostra que os valores calculados estão próximos da reta e os desvios entre eles estão distribuídos normalmente, ou seja, desvios positivos e negativos estão na mesma proporção, não havendo um comportamento tendencioso. Assim, sugere-se que o modelo proposto resultou em um ajuste razoável entre os valores previstos e os observados para a redução dos óleos e graxas.

Figura 11 - Distribuição dos resíduos: valores previstos pelo modelo *versus* valores observados no experimento do delineamento experimental de coagulação para a redução dos óleos e graxas.



Fonte: Autoria própria (2022)

Para validação do modelo proposto para a redução dos óleos e graxas, os resultados da análise da ANOVA (Tabela 09) confirmam também a validação do modelo pelos valores da regressão ($F_{\text{calculado}} = 9,87 > F_{\text{tabelado}} = 4,35$) e tendo em vista que não houve falta de ajuste do modelo ($F_{\text{calculado}} = 1,16 < F_{\text{tabelado}} = 3,97$).

Tabela 09 – Análise de variância do modelo proposto para remoção de óleos e graxas obtido pelo delineamento experimental para o processo de coagulação

Fatores	Graus de liberdade	Soma dos quadrados (SQ)	Média dos quadrados (MQ)	$F_{\text{calculado}}$	F_{tabelado} (5% de significância)	p
Regressão	3	2159,32	719,77	9,87	4,35	0,0066
Falta de ajuste	5	421,64	84,33	1,16	3,97	0,4132
Erro puro	7	510,56	72,94			
Total	15	3091,52	206,10			

Fonte: Autoria própria (2022)

Com relação aos gráficos da superfície de resposta (Figura 12) para a porcentagem de redução dos óleos e graxas pode-se concluir que as regiões ótimas, que alcançam os melhores percentuais de redução, estão nos pHs 10 a 14, com dosagem do coagulante de 10 a 16 mL/100 mL, em qualquer tempo de decantação dentro da faixa avaliada. Assim, o ponto ótimo para a remoção dos óleos e graxas foi no pH 11,49 com dosagem do coagulante de 10,4 mL/ 100 mL e tempo de decantação de 14,4 minutos.

Como os pontos ótimos para a remoção da turbidez e dos óleos e graxas foram diferentes, apesar de estarem dentro da mesma faixa, optou-se por realizar os experimentos nas duas condições de pontos ótimos, obtidas pela análise do planejamento experimental com a turbidez como variável resposta (Tratamento 1 – pH: 9,92, dosagem do coagulante: 14 mL/ 100mL, tempo de decantação: 12,8 min) e com a variável concentração de óleos e graxas como variável resposta (Tratamento 2 – pH: 11,49, dosagem do coagulante: 10,4 mL/ 100mL, tempo de decantação: 14,4 min), para a análise dos seus parâmetros físico-químicos e a escolha do melhor tratamento por coagulação do efluente laticínio com a *U. baccifera*. Os dados da Tabela 10 mostram que o melhor tratamento, para redução desses parâmetros foi o tratamento 1, que foi escolhido para a continuidade dos experimentos.

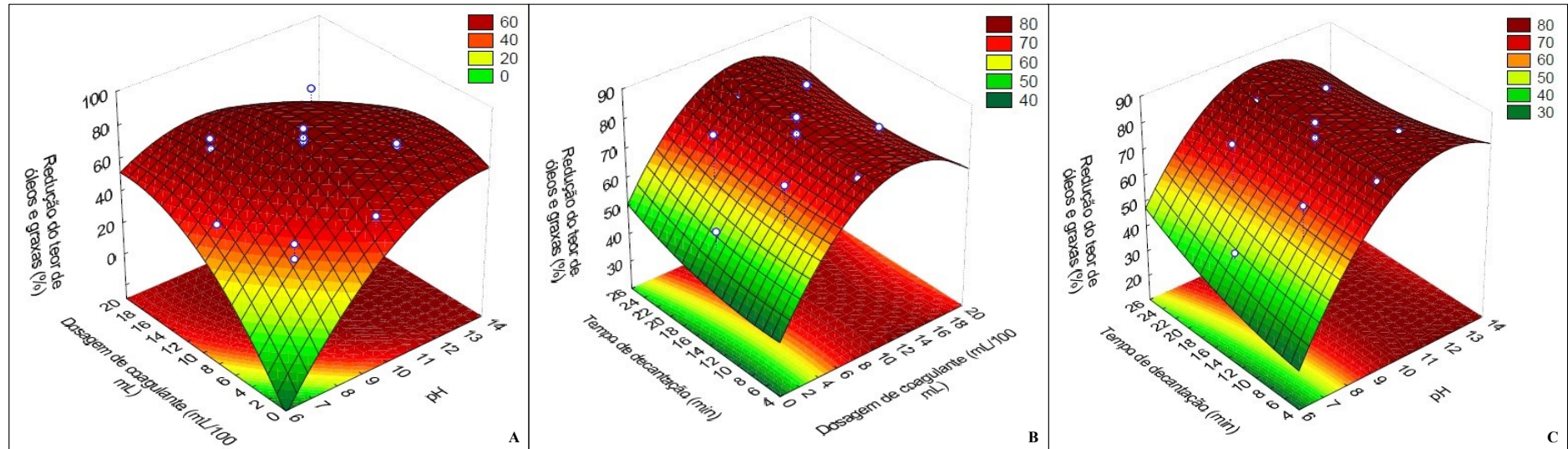
Tabela 10 – Resultados das análises de turbidez e óleos e graxas para ensaios realizados nas condições dos pontos ótimos do delineamento experimental de coagulação

Tratamento	Parâmetros	
	Turbidez (UNT)	Óleos e Graxas (mg/L)
1	6,9	233
2	18,3	259

Tratamento 1 – pH: 9,92, dosagem do coagulante: 14 mL/ 100 mL, tempo de decantação: 12,8 min. Tratamento 2 – pH: 11,49, dosagem do coagulante: 10,4 mL/ 100 mL, tempo de decantação: 14,4 min.

Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 12 – Superfície de resposta para o percentual de redução dos óleos e graxas em função do pH e dosagem de coagulante (mL/100mL) (A), dosagem do coagulante (mL/100mL) e tempo de decantação (min) (B) e pH e tempo de decantação (min) (C)



Fonte: Autoria própria (2022)

6.3 TRATAMENTOS DO EFLUENTE BRUTO

6.3.1 Análises Físico-químicas

Os dados da Tabela 11 apresentaram os resultados da caracterização físico-química do efluente bruto, do efluente bruto tratado com o coagulante natural *U. baccifera*, do efluente bruto tratado com foto-ozonização e do efluente bruto tratado com o coagulante natural *U. baccifera* seguido de foto-ozonização.

Com relação ao parâmetro pH, pode-se observar que todos os tratamentos foram eficientes para a redução do mesmo de 9,93 para o limite aceitável pela legislação do CONAMA N° 430/2011 (BRASIL, 2011), para lançamento do efluentes em corpos hídricos (5 a 9), e a resolução do CONAMA N° 357/2005 (BRASIL, 2005), para a classe 1 de águas doce (6 à 9).

Para o parâmetro turbidez foi obtido resultado semelhante, pois todos os tratamentos reduziram a turbidez de 506 UNT para 0,02 UNT, sendo no máximo 40 UNT o recomendado pela resolução do CONAMA N° 357/2005 (BRASIL, 2005), para a classe 1 de águas doce.

De acordo com Souza e Hemkemeier (2020), efluentes de laticínios que apresentaram turbidez com média de 254,3 a 6978 NTU tiveram mais dificuldade para um tratamento biológico, pois a presença destes materiais em suspensão dificulta a passagem de luz na água, atrapalhando a fotossíntese e o metabolismo dos organismos.

Desta forma, os dados sugerem que, mesmo utilizando um tratamento biológico, a empresa de laticínios em estudo deveria aplicar algum tratamento preliminar a fim de reduzir a turbidez do efluente bruto, sendo que os tratamentos do presente estudo foram bem eficazes neste sentido.

O parâmetro óleos e graxas obteve uma redução significativa do efluente bruto (1133,00 mg/L) nos diferentes tratamentos, sendo 76,96% de redução para o tratamento com coagulação seguido de foto-ozonização, 78,81% para o tratamento com coagulação e 85,56% para o tratamento com foto-ozonização. Mesmo assim, não atingiu o limite estabelecido pela legislação do CONAMA N° 430/2011 (BRASIL, 2011) e do CEMA N° 07/2009 para lançamento do efluente (≤ 50 mg/L).

Tabela 11 – Caracterização físico-química dos efluentes bruto e tratados

Efluente	Parâmetros								
	pH	Turbidez UNT	Óleos e graxas (mg/L)	DBO ₅ (mg/L)	DQO (mg/L)	Sólidos Totais (mg/L)	Sólidos Sedimentáveis (mg/L)	Sólidos Voláteis (mg/L)	Sólidos Fixos (mg/L)
Bruto	9,93	506	1.133,00	2.942,33	5.551,56	6.836,00	1,5	1.645,0	2.066,0
Tratado Coagulação	7,33	0,02	240,00	4.235,76	7.844,00	6.160,00	<0,1	3.611,0	3.384,0
Tratado Ozonização	8,35	0,02	163,60	903,21	1.771,00	5.808,00	0,2	1.682,00	929,0
Tratado Coagulação + Ozonização	7,05	0,02	261,00	4.249,00	8.498,00	6.080,00	4,0	3.152,00	3.609,0
CONAMA 430/2011	nº 5 à 9	-	≤ 50	Remoção mínima de 60 %	-	Remoção mínima de 20%	≤ 1 mL/L em teste de hora no cone Inmhoff	-	-
CEMA 07/2009	-	-	≤ 50	60	200	-	-	-	-

DQO: Demanda Química de Oxigênio, DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxigênio, UNT: unidades nefelométrica de turbidez. * Para a Classe 1 de Água Doce.

Fonte: Autoria própria, 2022.

Com relação a DBO₅, somente o tratamento com foto-ozonização atingiu o preconizado pela legislação do CONAMA N° 430/2011 (BRASIL, 2011) (remoção mínima de 60%), removendo 69,30% da mesma. Entretanto, se for considerado o estabelecido pela legislação paranaense (CEMA 07/2009) o valor (903,21 mg/L) ainda ficou bem superior ao permitido (60 mg/L). O mesmo aconteceu com a DQO, que no tratamento com foto-ozonização reduziu 68,09% (de 5551,56 mg/L para 1771,00 mg/L), mas ainda ficou com valor acima do permitido (200 mg/L – CEMA 07/2009).

Entretanto, exclusivamente com o coagulante natural *U. baccifera* e o tratamento com o coagulante natural seguido de foto-ozonização resultaram em aumento nos teores da DBO₅ e da DQO.

Estes resultados devem ter ocorrido devido a elevada matéria orgânica presente no extrato do coagulante natural em estudo, pois, de acordo com o estudo de Marco (2021), este extrato apresentava elevada DQO (24538,7 mg/L), elevado teor de sólidos totais (34938,00 mg/L), fixos (7722,00 mg/L) e voláteis (27219,00 mg/L).

Avaliando o tratamento de um efluente de indústria de pescado, com mesmo coagulante natural do presente estudo, a autora também identificou aumento da DQO, dos sólidos totais, fixos e voláteis após o tratamento com este coagulante. Resultado semelhante ao de Marco (2021) foi obtido no presente estudo para os sólidos voláteis e fixos, em que os tratamentos com o coagulante natural aumentaram estes valores.

Entretanto, para os sólidos totais, todos os tratamentos reduziram seus teores, sendo que o tratamento com foto-ozonização reduziu 15,03% deste parâmetro, perto da remoção mínima de 20% indicada na legislação (BRASIL, 2011). Para os sólidos sedimentáveis, o tratamento com o coagulante natural e com a foto-ozonização reduziram este parâmetro a menos que o limite da legislação ($\leq 1\text{mL/L}$) (BRASIL, 2011).

Assim, analisando de forma geral, o tratamento mais eficaz foi o de foto-ozonização. Os processos oxidativos avançados são técnicas inovadoras e eficientes para tratamentos de efluentes de laticínios, sendo que a ozonização tem como vantagem não utilizar reagentes químicos como os aplicados na fotocatalise heterogênea (H₂O₂/TiO₂) (DIAS et al., 2018).

6.3.2 Testes de Ecotoxicidade

6.3.2.1 Teste de imobilidade/mortalidade com *Artemia salina* L.

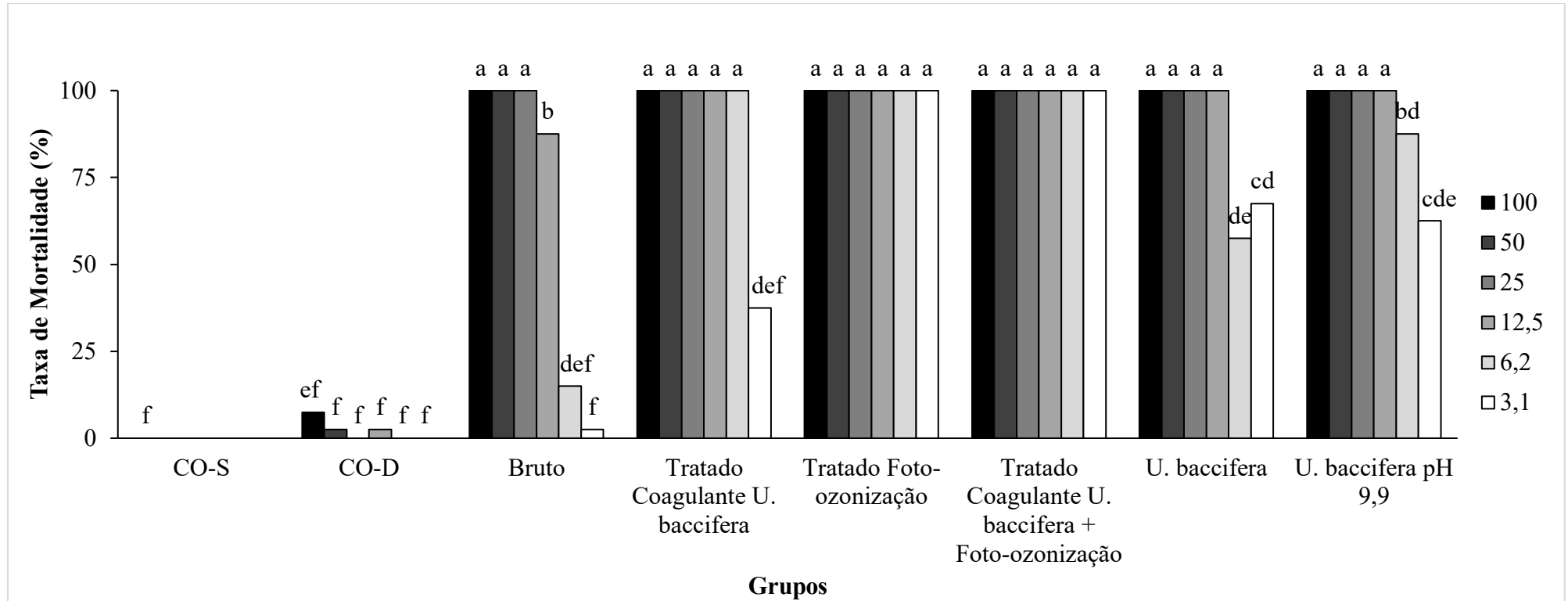
Os resultados do teste de imobilidade/mortalidade com o bioindicador *A. salina* (Figura 13) mostram que efluente bruto demonstrou uma elevada toxicidade, sendo que as suas maiores concentrações (100%, 50% e 25%) apresentaram taxa de mortalidade de 100%.

Entretanto as baixas concentrações (6,2% e 3,1%) apresentaram taxas de mortalidade semelhantes à do controle negativo. Inclusive, as concentrações acima de 25% foram diferentes das menores que 12,5%, indicando um efeito dependente da dose. Machado (2011), utilizando o bioindicador *Danio rerio* e o teste de mortalidade, também confirmou a toxicidade do efluente bruto de uma indústria de laticínios. Ainda verificou que não houve diferença entre a mortalidade dos peixes *D. rerio* em função do tratamento do efluente de laticínio, indicando que esse efluente pode causar mortalidade as espécies vivas se lançado em rios ou solos.

Vale destacar que as *A. salina* expostas ao coagulante sozinho (extrato das raízes de *U. baccifera*), no pH natural (5,2) e no pH ajustado para o processo de coagulação (9,9), também foram tóxicos para este organismo, com mortalidade acima de 57%. A raiz do urtigão apresenta ácido oxálico em sua composição (GINDRI, 2012), que pode ser responsável pela toxicidade das amostras de efluentes. Segundo Silva et al. (2021) o efeito tóxico obtido das espécies *Xanthosoma sagittifolium* e *Amaranthus viridis* frente a *A. salina* pode estar associada com o fato que as espécies apresentam em sua composição elevados teores de ácido oxálico.

Ao avaliar a eficiência dos tratamentos na redução da toxicidade do efluente bruto deste laticínio, percebe-se que nenhum dos tratamentos apresentou resultados satisfatórios. O tratamento com foto-ozonização e coagulação seguido de foto-ozonização resultou em 100% de mortalidade para todas as concentrações avaliadas, resultando, portanto, em maior toxicidade para este bioindicador, pois desde a menor concentração avaliada foi tóxico.

Figura 13 – Taxa de mortalidade das *Artemia salina* expostas aos efluentes bruto e tratados

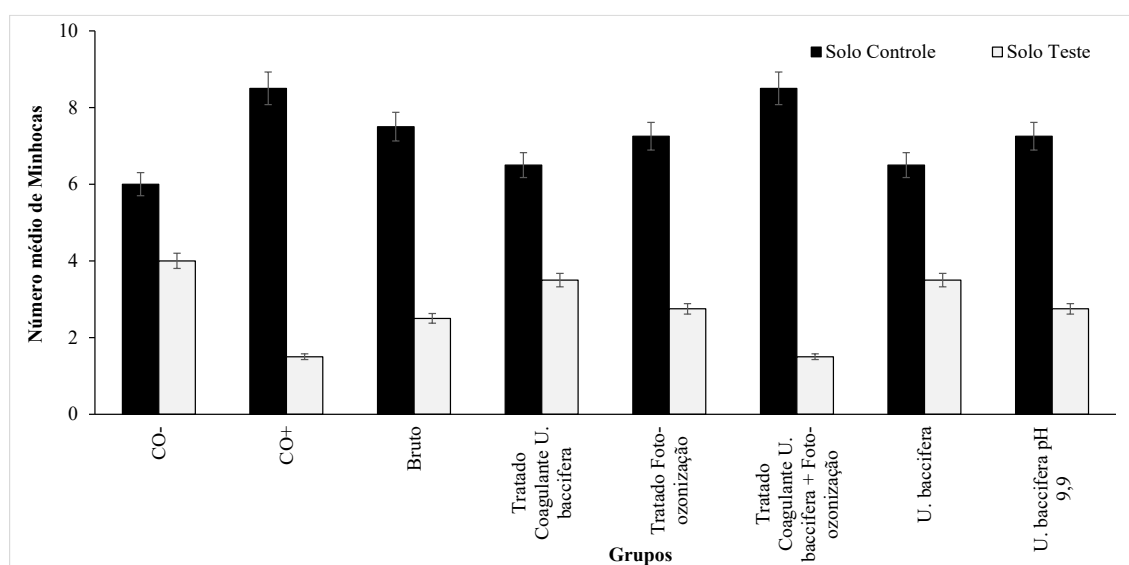


Fonte: Autoria própria (2021)

6.3.2.2 Teste de fuga com *Eisenia fetida* L.

Os resultados da distribuição dos organismos *Eisenia fetida* estão plotados na Figura 14. Os dados mostram que o experimento pode ser validado, pois os testes com o controle negativo (CO-) apresentaram distribuição homogênea de 40 a 60%, como preconizado pela NBR ISO 17512-1 (2011). No controle positivo observou-se um comportamento de fuga, com uma distribuição de 85% no solo controle e apenas 5% no solo teste contendo ácido bórico (CO+), também atendendo aos requisitos da NBR ISO 17512-1 (2011), onde o solo teste com a substância de referência deve apresentar valor inferior a 20% do número total de minhocas.

Figura 14 - Números médios dos organismos *Eisenia fetida* nos grupos: controle negativo (CO-) e positivo (CO+) e nas amostras tratamento



Fonte: Autoria própria (2021).

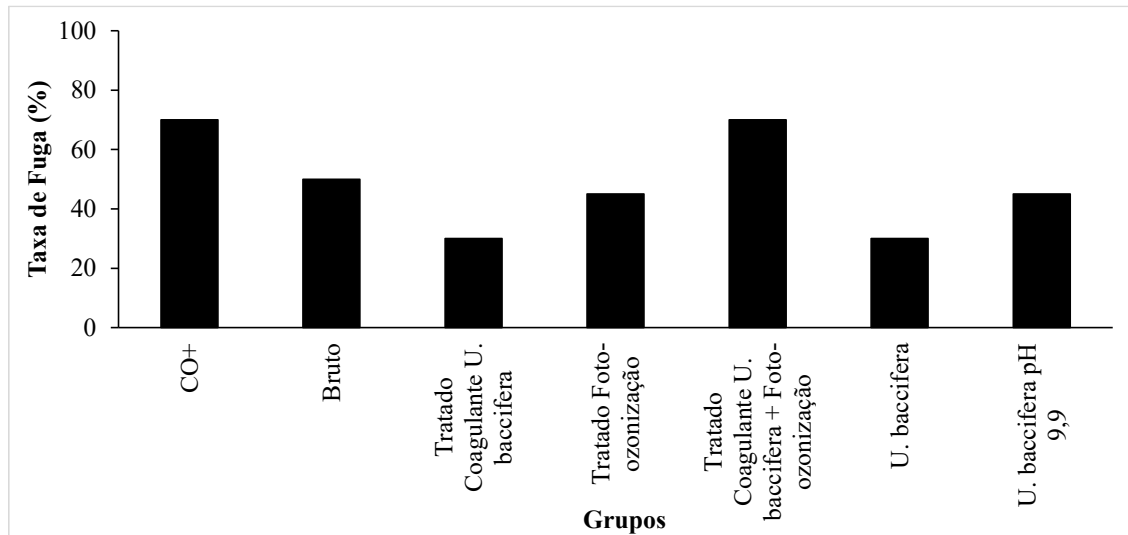
De acordo com os resultados da taxa de fuga (Figura 15) apenas o efluente tratado com coagulação seguido de foto-ozonização apresentou efeito tóxico às minhocas, com taxa de fuga de 70%. De acordo com a NBR ISO 17512-1 (2011), para o solo ser considerado tóxico, a taxa de fuga deve ser superior a 60%. Os resultados apresentados podem ser devido a geração compostos indesejáveis/tóxicos durante o processo de ozonização do efluente tratado com urtiga. Isso porque, os tratamentos somente com o coagulante natural *U. baccifera* e a foto-ozonização isoladas não apresentaram efeito

tóxico e resultaram na diminuição da taxa de fuga do efluente bruto (50%) com taxas de fuga de 30% e 45%, respectivamente.

De acordo com Silva et al. (2001) entre os principais subprodutos da ozonização em tratamentos de efluentes encontra-se ácidos como: oxálico, succínico, fórmico e acético. Segundo Gindri et al. (2014), a planta *U. baccifera* apresenta quantidade significativa de ácido oxálico, que pode ter sido liberada durante o processo de foto-ozonização no presente estudo e resultado no efeito tóxico. Gindri et al. (2014, 2015) justificaram a atividade genotóxica para *Allium cepa* da *U. baccifera* devido a presença do ácido oxálico, que pode, no presente estudo, ter resultado na toxicidade para os animais utilizados no presente estudo.

Entretanto, o extrato de *U. baccifera* sozinho, com ou sem ajuste de pH para 9,9, não apresentou efeito tóxico para as *E. fetida* e, além disso, a análise estatística realizada pelo teste de Fisher unicaudal também não identificou diferenças estatísticas significativas.

Figura 15 - Taxa de fuga dos organismos *Eisenia fetida* nos grupos controle positivo (CO+) e nas amostras tratamento



Fonte: Autoria própria (2021).

6.3.2.3 Teste de citotoxicidade com cultura de células de mamíferos

Os dados da Tabela 12 apresentam o percentual da viabilidade celular para os tempos de 24, 48 e 72 horas de cada dos efluentes bruto ou tratados, nas três concentrações

avaliadas. Os resultados mostram que nenhuma concentração do efluente bruto, tratado com o coagulante natural *U. baccifera* ou a coagulação seguida de foto-ozonização apresentou absorvância média estatisticamente diferente do controle negativo e, assim, não foram citotóxicas para esta linhagem normal avaliada.

Tabela 12 - Percentual de viabilidade de células (VC) normais LLC-MK2, tratadas com as diferentes concentrações (1:10, 1:100 e 1:1000) das amostras tratamento, por 24, 48 e 72 horas, pelo teste do MTT

Grupos	Célula LLC-MK2		
	VC [%]		
	24 h	48 h	72 h
CO-	100,00	100,00	100,00
CO+	26,80*	26,77*	30,80*
Efluente Bruto [10]	102,50	141,15	65,28
Efluente Bruto [100]	81,39	124,57	69,67
Efluente Bruto [1000]	84,49	145,43	87,80
Tratado Coagulante <i>U. baccifera</i> [10]	104,41	123,30	117,47
Tratado Coagulante <i>U. baccifera</i> [100]	107,83	84,45	72,79
Tratado Coagulante <i>U. baccifera</i> [1000]	100,94	105,58	85,19
Tratado Foto-ozonização [10]	119,49	96,541	138,24*
Tratado Foto-ozonização [100]	128,58	135,59	82,39
Tratado Foto-ozonização [1000]	101,94	122,62	110,33
Tratado Coagulante <i>U. baccifera</i> + Foto-ozonização [10]	102,43	110,06	85,63
Tratado Coagulante <i>U. baccifera</i> + Foto-ozonização [100]	97,21	88,44	67,29
Tratado Coagulante <i>U. baccifera</i> + Foto-ozonização [1000]	91,40	116,90	81,32
<i>U. baccifera</i> [10]	152,99	73,270	34,94*
<i>U. baccifera</i> [100]	138,43	59,31	92,44
<i>U. baccifera</i> [1000]	137,78	81,32	38,44*
<i>U. baccifera</i> pH 9,9 [10]	131,10	132,04	128,53
<i>U. baccifera</i> pH 9,9 [100]	103,99	98,583	132,34*
<i>U. baccifera</i> pH 9,9 [1000]	107,55	145,37	108,04

* Resultado estatisticamente significativo pelo teste de Dunnet ($p < 0,05$, $n=4$).

Entretanto, no tempo de 72 horas, as concentrações de 1:10 e 1:1000 da amostra de urtigão apresentaram efeito citotóxico para as células normais de rim de macaca, com redução da viabilidade celular para 34,94% [1:10] e 38,44% [1:1000]. Estes resultados corroboram com os do trabalho de Gindri et al. (2014, 2015) já citados, que identificaram citotoxicidade para as células vegetais do extrato de *U. baccifera*.

Por outro lado, a concentração de 1:100 do urtigão com pH ajustado para 9,9 para todas as amostras testadas apresentou absorvância média e viabilidade celular estatisticamente maior que a do controle negativo. Esse resultado pode ser devido a um aumento na divisão celular ou da atividade mitocondrial dessas células e indica um efeito do pH na citotoxicidade do extrato de urtigão para as células normais de rim de macaca.

Resultado semelhante foi observado com a concentração de 1:10 do efluente tratado com foto-ozonização, que apresentou viabilidade celular, no tempo de 72 horas, de 138%. Esse aumento na viabilidade celular pode ter sido em decorrência de um estresse celular provocado por pelo ozônio ou produto da reação dele com o efluente, ou ainda o tratamento acabou beneficiando o desenvolvimento das células.

Santos (2018) também utilizou cultura de células de mamífero (C2C12 - mioblasto de camundongo) para avaliar a citotoxicidade da água de um rio contaminado com efluentes doméstico e industriais. As análises mostraram que o teste foi eficiente na determinação da citotoxicidade, pois um ponto não apresentou citotoxicidade, para outro ela foi intermediária e para outros dois a citotoxicidade foi relativamente significativa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O efluente de laticínio analisado apresentou pH básico, elevado teor de turbidez, óleos e graxas e matéria orgânica, identificados pela elevada DQO, DBO₅ e sólidos. Assim, necessita de tratamento antes de lançado nos corpos hídricos, a fim de atender os limites dos parâmetros estabelecidos pelas legislações ambientais nacionais (BRASIL, 2005, 2011) e estaduais (PARANÁ, 2009).

O planejamento experimental avaliando o coagulante natural *U. baccifera* mostrou que este apresentou resultados satisfatórios na redução da turbidez e dos óleos e graxas, sendo que a melhor condição de tratamento foi com o ajuste do pH do efluente para 9,9, com dosagem do coagulante para 14 mL/100 mL e tempo de decantação de 12,8 minutos. Este tratamento também auxiliou no ajuste do pH do efluente bruto e na redução dos sólidos sedimentáveis, atingindo os limites da legislação para lançamento deste efluente para a turbidez e os sólidos sedimentáveis. Entretanto, elevou a DBO₅, a DQO e os sólidos voláteis e fixos, provavelmente em função da concentração alta deste extrato. O mesmo efeito foi observado com o tratamento utilizando o coagulante natural seguido de foto-ozonização. Desta forma, este tratamento (coagulação) deveria ser utilizado com um pré-tratamento, seguido de outro tratamento, como o biológico, antes de ser liberado no recurso hídrico.

O tratamento realizado com a foto-ozonização apresentou os melhores resultados físico-químicos em termos de redução dos óleos e graxas, DBO₅, DQO, sólidos totais e fixos, porém ainda fora dos limites estabelecidos para lançamento deste efluente, podendo ser utilizado com tratamento pré-tratamento para atingir o preconizado pelas legislações.

Com relação aos testes de ecotoxicidade, pode-se verificar a toxicidade do efluente bruto somente para o bioindicador *A. salina*. Com relação a toxicidade dos efluentes tratados, pode-se destacar que os tratamentos do efluente bruto não reduziram a toxicidade deste para a *A. salina*, até elevaram a mesma para os tratamentos com foto-ozonização e coagulação seguida de foto-ozonização, pois resultaram em efeito tóxico desde as menores concentrações avaliadas. Para o bioindicador *E. fetida* o tratamento do efluente bruto com o coagulante *U. baccifera* seguido de foto-ozonização deve ter liberado maior quantidade de ácidos oxálicos, succinico, fórmico e acético do extrato de urtigão e, assim, resultado na sua toxicidade. Para a cultura de células de rim de macaca, somente o extrato de urtigão sozinho resultou em citotoxicidade.

Assim, em termos ecotoxicológicos, percebe-se que outros tratamentos devem ser aplicados ao efluente bruto, principalmente para a redução da toxicidade para o bioindicador *A. salina*. Entretanto o uso do extrato de *U. baccifera* como coagulante natural pode ser promissor, pois, além de reduzir parâmetros físico-químicos do efluente bruto de laticínio, não resultou no aumento e nem na geração de toxicidade para *E. fetida* e a cultura de mamífero utilizada no presente estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A.C.C, **Efeitos da exposição ao herbicida Atrazina degradado por fotocatalise e dos seus metabólitos: análise por bioindicadores em Astyanax altiparanae (Characiformes, Characidae)**, 2018. Dissertação (Mestrado Biologia Comparada)- Universidade Estadual de Maringá, Maringá PR 2018.

ANDREA, M.M. **O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos**. Acta ZoológicaMexicana, São Paulo, v27, n2, p.9 5-107, 2010.

APHA - American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22nd ed. Washington: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Pollution Control Federation, 2012.

ARAÚJO, K. S. DE, ANTONELLI, R., & GAYDECZKA, B. GRANATO.A.C, MALPASS.GRP . **Processos oxidativos avançados : uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais - 11 N2 TAUBATÉ**. 2016.

AZZOLINI J C e FABRO. L F. **Monitoramento da eficiência do sistema de tratamento de efluentes de um laticínio da região meio-oeste de santa catarina**. Unoesc & Ciência- Joaçaba Vol 04. N1 P. 43 A 60, 2013.

BRAUN , A, HILGEMANN.M, **Avaliação de diferentes coagulantes para remoção de fósforo em efluentes de industria de laticínios**. UNISC Santa Cruz do Sul. VOL.18 N 1 P.19 A 23 ,2014.

BADILLA, B.; MORA, G.; POVEDA, L. J. Anti-inflammatory activity of aqueous extracts of five Costa Rica medicinal plants in Sprague-Dawley rats. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v. 47, n. 4, p. 723-727, 1999.

BARBOSA A C A **Monitoramento ambiental na bacia do rio sergipe utilizando macroinvertebrados bentônicos como indicador**, 2018. Dissertação(Conclusão do curso Engenharia Ambiental e Sanitária), Universidade Federal de Sergipe, SE, 2018.

BATISTA, N.B.S; AGUIAR, A. **Estudo de parâmetros fisico-químicos e suas correlações para efluentes de laticínios do estado de minas gerais**. Universidade Federal de Itajubá/Instituto de Recursos Naturais, Itajuba, MG, 2018.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução N° 357/2005**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Disponível em 10/06/2022 http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO_CONAMA_n_357.pdf. Acesso em: 10 junho 2022.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução N° 430/2011**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 de Maio, 2011 Disponível em 10/06/2022

<https://www.vgresiduos.com.br/blog/resolucao-conama-n-430-11-o-que-ela-dispoe-e-o-que-mudou>. Acesso em: 10 junho 2022.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução N° 81**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 de outubro de 2010. Disponível em :10/06/2022, https://www.google.com/search?rlz=1C1PNBB_pt-BRBR894BR894&q=lei+6938/81+atualizada&sa=X&ved=2ahUKEwik_9TY0qP4AhVLkZUCHeLABhUQ1QJ6BAgyEAE&biw=1536&bih=722&dpr=1.25. Acesso em : 10/06/2022

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução N° 6.938**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 6 de julho de 1990. Disponível em : 10/06/2022. <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/1980-1987/lei-6938-31-agosto-1981-366135-publicacaooriginal-1-pl.html>. Acesso em : 10/06/2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento **INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 77**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 de novembro, 2018. Disponível em 10/06/2022. https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-77-de-26-de-novembro-de-2018-52749887. Acesso em : 10/06/2022.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada – **RDC N°360**,. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 de dezembro, 2003. Disponível em : 10/06/2022. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-360-de-23-de-dezembro-de-2003.pdf>. Acesso em : 10/06/2022.

BOHRER, J.K., **Avaliação da presença e degradação de hormônios estrógenos em estação de tratamento de esgoto usando processos oxidativos avançados**. Exame de qualificação de mestrado. UTFPR, 2020.

COSTA, MONTEIRO C A B, BATISTA, N.J.C Avaliação genotóxica e mutagênica de amostras de efluentes tratados por lagoas de estabilização em Teresinha- Piauí. **Revista DAE N°209 VOL. 66**, 2017.

DIAS, O.A, et al **Lodo de industria de laticínios:requisito para disposição no solo, Lodo**. IX SBEA, Simposio brasileiro de engenharia ambiental, 2018.

DIAS, F, et al Tratamento de efluente da industria de laticínios aplicado o processo oxidativo avançado(H₂O₂/ TiO₂/UV), **Revista GEAMA- Ciencias Ambientais e Biotecnologia** , 2018.

DÜSMAN, E . **Efeito do processamento, da irradiação pós-colheita e do sistema de produção, de sucos de *Vitis labrusca* L., sobre a citotoxicidade e a mutagenicidade, em células de HTC Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular - Universidade Estadual de Maringá, Maringá - Paraná - Brasil**

EISENBRAND, G.; POOL-ZOBEL, B.; BAKER, V.; BALLS, M.; BLAAUBOER, B.J.; BOOBIS, A.; CARERE, A.; KEVEKORDES, S.; LHUGUENOT, J.C.; PIETERS, R.; KLEINER, J. **Methods of in vitro toxicology**. Food and Chemical Toxicology. v. 40, n. 2-3, p. 193–236, 2002.

FURTADO, O. A, **Investigação do potencial citotóxico e mutagênico de efluentes bruto e tratados de uma lavanderia hospitalar em sistema teste vegetal**, 2018 Dissertação,(Mestrado em Biotecnologia Ambiental) Universidade Estadual de Maringá-2018.

FIEIRA, C, BATISTELLA, E.P, VINCOSKI, J.V.A, ROSA, M.P.S, POKRYWIECKI, J.C, GOMES, E.M.V, OLIVEIRA, A.P, POKRYWIECKI, T.S, DÜSMAN, E., **Tratamento de efluentes, contendo tiametoxante e avaliação de sua eficiência na redução da toxicidade**, 2019. Dissertação(Engenharia Ambiental: Análise e Tecnologia Ambiental), Revista Tecnologia Ambiental, Francisco Beltrão-2019.

FIGUEIREDO, M. SANTOS, E.P, SCHMACHTENBERG, Processos oxidativos avançados: fundamentos e aplicação ambiental. **Revista eletrônica em gestão, educação e tecnologia digital**. Universidade Federal de Santa Maria, v. 18, nº1, p. 79-91, (UFSM). 2014.

GALLIO, L T. , **Avaliação de métodos alternativos no processo de clarificação do caldo de cana de açúcar processado**. Dissertação, 2019 (Trabalho de Conclusão de Curso), Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR- 2019.

GINDRI, A.L, **Análise Fitoquímica das Raízes e Folhas e Morfo-Anatomia dos Caules e Fohas de *Urera baccifera* Gaudich**, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2012.

IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, **Pesquisa da Pecuária Municipal** , 2017.

IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, **Pesquisa da Pecuária Municipal, em 2020**, Acessado em 09 de março, 2022.

JÚNIOR, O. B. C. **Ozonização como pós-tratamento de efluente de esgoto doméstico**. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília, DF. 2018

KUHN, D; REISDÖRFER, G. **Avaliação da eficiência da aplicação de coagulante orgânico em chorume para remoção de carga orgânica e nutrientes**. Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil, Tecno-Lógica, Santa Cruz do Sul, v. 19, n. 2, p. 64-68, jul. 2015.

HENARES, J. F, **Caracterização do Efluente de Laticínio: análise e proposta de tratamento**, Universidade Tecnológica Federal do Paraná Departamento Acadêmico de Alimentos Curso Superior de Engenharia de Alimentos, Campo Mourão, 2015.

HIDROTA, B.C.K.; PAULA, C.S.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D **Avaliação de toxicidade in vitro**: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente á *Artemia Salina*. Visão Acadêmica, Curitiba, v.13n.2, 2012.

LEGRINI, O.; E.; BRAUN, A.M. **Photochemical processes for water treatment**. *Chemical reviews*, v.93,n.2,p.671-698,2003.

VICTOR VINICIUS BATISTA MACHADO, V.V.B, **análise ecotoxicológica e química da estação de tratamento de efluentes de uma indústria de laticínios em goiás**, Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, Goiania, 2011.

MAGNONI, D M , **Genotoxicidade, morfo em *Astynax altiparanae* expostos aos efluentes, bruto e quimicamente tratados, gerados no processo de anodização de alumínio**. 2019 Dissertação(Mestrado Biotecnologia Ambiental) Universidade Estadual de Maringá.2019 .

MARCO, I.G, **Avaiiação do Extrato de *Urera Baccifera* como coagulante no tratamento de efluente liquido de industria de pescado**, Universidade Tecnologica do Paraná, 2021

MENDES. S A **Avaliação da toxicidade dos rios do campo e km 119 no município de Campo Mourão Pr. Sob influência de atividades antropicas, 2019**. Dissertação (Mestrado em Inovações Tecnológicas), UTFPR Campo Mourão, 2019.

MORAIS, N,W,S e SANTOS, A,B. Análise dos padrões de lançamento de efluentes em corpos hidricos e de reuso de águas residuarias de diversos estados do Brasil, . Artigos Tecnicos, **Revista DAE**, num.2015/vol. 67, janeiro/março , Ceara,2019

NADAL, A. B, HENKEINER, M, BRIAO,V.B **Electrolytic and nanofiltration processes for wastewater production from dairy effluents**. (September), 160–164, 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos), Univercidade de Passo Fundo RS ,2018.

OLIVEIRA. N T, NASCIMENTO, K.P, GONÇALVES, B.O, LIMA, F.C., COSTA, A.L.N, Tratamento de água com moringa olífera como coagulante/ floculante natural. **Revista científica da faculdade de educação e meio ambiente**.v.09, n°1 2018.

PAPP, G.T, CORSO, A., MEES, J.R, **Pós-Tratamento Físico-Químico por Flotação Fad em Efluentes de Laticínios**. TECNO-LÓGICA, Santa Cruz do Sul, v.23, n. 2, p. 77-86, UNISC- 2019.

PANIAGO G G. SAMPAIO, S.C, ROSA, D.M, TESSARO, D. MALDANER, P.A, MODEL, K.J, CORRÊA, M.M, REMOR, M.B, Ecotoxicidade da água residual de suinocultura usando minhocas *Eisenia andrei* como bioindicador. **Revista de Ciências Agrarias**, p. 447-455. RSCAP 2016

PEREIRA,M.M.O, BARBOSA,BB, B. C.C ,ANTUNES, L.G.R, FERREIRA, MC, ANTONELLI, L.M, **Como tem se dado a inovação ambiental em laticínios? Uma análise a partir da percepção de gestores**. XIX ENGEMA. 2017 .

SCHEEREN, M B, KUNZ, A. STEINMETZ, L.R, DRESSLER, V. O Processo ANAMMOX como Alternativa para Tratamento de Águas Residuárias, Contendo Alta Concentração de Nitrogênio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.12, p 1289-1297, Campina Grande -PB, 2011.

SKORONSKI, E. et al. Estudo de aplicação de tanino no tratamento de água para abastecimento captada no rio Tubarão, na cidade de Tubarão, SC. **Revista Ambiente & Água**, Taubaté, v. 9, n. 4, 2014.

SILVA, M.AS, ALMEIDA, S.N.R, ALMEIDA, R..P.P,ECLIVANEIDE, C. A. C. CRISPIM, D.L. . A problemática ambiental decorrente dos resíduos sólidos gerados no processo produtivo de queijos, **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável** .2015.

SILVA, A.C.A **Biomarcadores de Contaminação Ambiental** , Universidade Fernando Pessoa. Dissertações de Mestrado, Faculdade de Ciências da Saúde Universidade Fernando Pessoa Porto2016.

SILVA.,R.R, SIQUEIRA, E.Q, NOGUERIA, I.S., **Impactos ambientais de efluentes de laticínios em cursos da água, na bacia do rio pomba**. Eng Sanit Ambient/v23n2/, Goiânia - GO, março 2018.

SOUZA, A.T.; CHAGAS, D., **Avaliação da Eficiência de Agentes Coagulantes em Efluente de Frigorífico**. Universidade do Oeste Paulista- UNOESTE, Colloquium Exactarum, v.12, n1, p.11-19, Presidente Prudente, SP. 2020.

SOUZA, F.S.; HEMKEMEIER, M., **Pós tratamento por eletrocoagulação de efluente de processamento do soro de leite tratado por reator anaeróbio**, Universidade de Passo Fundo, Research, Society and Development, v.9 n.9, Passo Fundo -RS. 2020.

TERAN, F. Aplicação de fotocatalise heterogênea e homogênea para a remoção de cor em efluentes provenientes de indústria de procesamento de couro. **Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas (UFMS)**, 3316–3325, Santa Maria, 2014 .

TAKASHINA, T A. **Tratamento de efluente sintético de café com uso de processos baseados em ozônio**, 2018. (TESE DOUTORADO), Universidade Federal do Paraná, 2018.

TRINTINAGLIA, L. et al. **Cytotoxicity assays as tools to assess water quality in the Sinos River basin. Brazilian Journal of Biology** [online]. 2015, v. 75, n. 2 suppl [Accessed 27 July 2021], pp. 75-80. Available from: <<https://doi.org/10.1590/1519-6984.0113>>. ISSN 1678-4375. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.0113>.

ZHOU, Q., ZHANG, J., FU, J., SHI, J., JIANG, G. **Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem**. Elsevier B.V. All rights reserved. *Analytica chimica acta* 606 (2008) 135–150.