

INVESTIGAÇÃO DE WETLANDS CONSTRUÍDOS EMPREGANDO RESÍDUO DE FILTRO DE CERVEJARIA NA RETENÇÃO DO HORMÔNIO 17 α -METILTESTOSTERONA

ANDREA PAULA JARDIM CASTANHA^{1*} , MATHEUS BORGHEZAN ALBERTON² , DHENIFFER SANDRA DE OLIVEIRA BUFFON² , CLEBER ANTONIO LINDINO^{1,2} 

¹ Grupo de Estudos e Pesquisas em Ciências Ambientais (GEPECIA), Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Rua da Faculdade, 645. Jardim Santa Maria. CEP 85903-000, Toledo, Paraná, Brasil.

² Laboratório de Estudos em Química Analítica Limpa (LEQUAL), Grupo Interdisciplinar de Pesquisas em Fotoquímica e Eletroquímica Ambiental (GIPEFEA), Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Rua da Faculdade, 645. Jardim Santa Maria. CEP 85903-000, Toledo, Paraná, Brasil.

* Autor para correspondência: jardim.andreapaula@gmail.com

Recebido em 12 de setembro de 2019. Aceito em 06 de março de 2020. Publicado em 31 de março de 2020.

RESUMO - O lançamento de efluentes da piscicultura contendo o hormônio sintético 17 α -metiltestosterona, amplamente empregado na masculinização dos alevinos, evidencia a necessidade de adequar técnicas de tratamento de efluentes para sua remoção ou imobilização na mitigação de possíveis impactos ambientais. Com o intuito de investigar um tratamento adequado e acessível para o efluente contendo o hormônio 17 α -metiltestosterona, assim como utilizar material alternativo descartado de processos industriais, foram montados quatro protótipos de *wetlands* construídos contendo como substrato areia de filtro de piscina ou o resíduo de filtro de cervejaria terra diatomácea, realizando-se análises de UV/VIS, pH, condutividade elétrica, turbidez, DBO₅ e DQO, verificando o desenvolvimento vegetal, retenção do hormônio, hidrodinâmica do sistema, a caracterização do resíduo de terra diatomácea e análises de MEV e EDS de amostra da terra diatomácea *in natura* e a granulometria da areia, sendo empregados dois tipos de processos de tratamento: batelada e em fluxo contínuo. O sistema contendo o resíduo terra diatomácea favoreceu o desenvolvimento vegetal e todos os parâmetros aferidos ficaram de acordo com a legislação vigente e não houve presença detectada do hormônio a jusante do sistema proposto.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento de efluente; Piscicultura; Terra diatomácea; Poluentes emergentes.

INVESTIGATION OF CONSTRUCTED WETLANDS USING OF BREWERY FILTER RESIDUES IN RETENTION OF HORMONE 17 α -METHYLTESTOSTERONE

ABSTRACT - The wastewater release of from fish farming using the hormone 17 α -methyltestosterone, widely used in the masculinization of fingerlings, demonstrates the need for wastewater treatment techniques to remove or immobilize them in mitigation of possible environmental impacts. In order to investigate an appropriate and accessible treatment for the wastewater containing the hormone 17 α -methyltestosterone, and use alternative material discarded from industrial processes, were assembled four prototypes of wetlands constructed containing as substrate pool filter sand, or the brewery filter diatomaceous earth residue, with analysis of UV/VIS, pH, electrical conductivity, turbidity, BOD and COD. It verified the development of vegetable, retention of the hormone, hydrodynamics of the system, characterization of diatomaceous earth residue and analysis of SEM and EDS sample diatomaceous earth *in nature* and grain size, using batch and continuous processes. The systems containing diatomaceous earth residue favored the plant development and all parameters measured were in accordance with the current legislation and there was no presence detected of the hormone downstream of the proposed system.

KEYWORDS: Wastewater treatment; Fish farming; Diatomaceous earth; Emerging pollutants.

INVESTIGACIÓN DE *WETLANDS* CONSTRUIDOS EMPLEANDO RESIDUO DE FILTRO DE CERVEZA EN LA RETENCIÓN DE HORMONA 17 α -METILTESTOSTERONA

RESUMEN - El lanzamiento de efluentes de la piscicultura que contiene la hormona sintética 17 α -metiltestosterona, ampliamente empleado en la masculinización de los alevines, pone de relieve la necesidad de adecuar técnicas de tratamiento de aguas residuales para su remoción o inmovilización en la mitigación de posibles impactos ambientales. Con el propósito de investigar un tratamiento adecuado y asequible para el efluente que contiene la hormona 17 α -metiltestosterona, así como utilizar material alternativo resultante de procesos industriales, se montaron cuatro prototipos de *wetlands* construidos conteniendo como sustrato arena de filtro de piscina, o el residuo de filtro de cerveza de tierra diatomea, realizando análisis de UV/VIS, pH, conductividad eléctrica, turbidez, DBO₅ y DQO, verificando el desarrollo vegetal, retención de la hormona, hidrodinámica del sistema, la caracterización del residuo de tierra diatomea y análisis de MEV y EDS de muestra de la tierra diatomea in natura, y la granulometría de la arena, empleándose dos tipos de procesos del tratamiento: bateado y en flujo continuo. El sistema que contenía el residuo de tierra diatomea favoreció el desarrollo vegetal y todos los parámetros medidos quedaron de acuerdo con la legislación vigente y no hubo presencia detectada de la hormona aguas abajo del sistema propuesto.

PALABRAS-CLAVE: Tratamiento del efluente; Piscicultura; Tierra diatomea; Contaminantes emergentes.

INTRODUÇÃO

A piscicultura vem obtendo destaque na produção nacional e em 2018 registrou o montante de 519,2 mil toneladas, sendo que dentro deste, a tilápia representou 58,4% do total da despensa nacional (IBGE 2017). No entanto, para chegar a este nível de produção comercial a atividade passou por adaptações, visto que um dos principais entraves da tilapicultura era a característica reprodutiva das fêmeas que superpovoavam os tanques e dificultava o cultivo comercial (Oliveira et al. 2007). Apenas com a adoção de técnicas de masculinização tornou-se possível superar o problema, maximizar o crescimento dos peixes e, assim, obter melhor nível de desempenho zootécnico na produção (Oliveira et al. 2007).

Para a masculinização dos alevinos emprega-se o hormônio sintético 17 α -metiltestosterona (MT), que é adicionado na ração logo que se inicia o estado pós-larva, durante os seus primeiros 30 dias de vida, ainda quando o sexo não está definido (Kubitza 2009). Comumente, o hormônio é utilizado em excesso para garantir maior taxa de indivíduos masculinos (Barbosa et al. 2013; Rima et al. 2017). Logo, nos tanques nos quais realiza-se a reprodução e masculinização de peixes pode ocorrer a adsorção do hormônio no sedimento e, caso ocorra a ressuspensão do sedimento, parte das substâncias retidas ficam em suspensão no perfil aquático e são carregadas junto ao efluente.

No Brasil, há poucos estudos sobre a contaminação do ambiente aquático e principalmente pelas mudanças que ocorrem nos organismos submetidos a esta contaminação. Contudo, no estudo realizado por Rivero-Wendt et al. (2016), expondo embriões de peixe-zebra à concentrações de MT comumente utilizadas no país, com efeito agudo, constatou-se que este hormônio pode provocar alterações, sobretudo má formação de cauda, edemas, desenvolvimento anormal da cabeça e atraso na eclosão, indicando possíveis efeitos toxicológicos no ambiente.

Logo, o tratamento do efluente é imprescindível para mitigar a saturação do ambiente natural por substâncias que causam a degradação ambiental. Devido à similaridade do efluente doméstico com o efluente gerado na piscicultura, podem ser empregados diversos tipos de tratamento convencional porém, o custo elevado para a atividade inviabiliza-o economicamente. Desta forma, outros tratamentos menos onerosos estão sendo incorporados na atividade, dentre eles destaca-se os tratamentos naturais (ecotecnologia) com macrófitas aquáticas (Zaniboni 2005), principalmente os *wetlands* construídos.

Na literatura, pesquisas destacam o potencial de adaptabilidade do sistema de *wetlands* construídos e alta eficiência no tratamento de efluente doméstico (Roussou et al. 2018; Santos et al. 2018). De acordo com Gorgoglione e Torretta (2018), este tipo de sistema apresenta ambiente anóxico com a presença de zonas aeróbicas próximas às raízes e promovem a versatilidade de seu uso em diversos tipos de tratamento de efluentes pela ação da oxidação do efluente e a alternância nos ambientes aeróbio e anaeróbio, no qual há o desenvolvimento de diversos tipos de microrganismos que auxiliam no processo de redução de macronutrientes e a adsorção de substâncias químicas no substrato.

Dentre as substâncias químicas removidas pelos *wetlands* construídos está o conjunto denominado de micropoluentes ou contaminantes químicos emergentes e, dentre a relação destes poluentes está o hormônio empregado na aquicultura (Dotro et al. 2017). De maneira geral, o sistema de *wetlands* construídos (WC) é denominado conforme o escoamento, que pode ser superficial ou subsuperficial, assim como seu fluxo e o emprego da técnica mais adequada dependerá da finalidade do tratamento bem como da eficiência almejada. O escoamento subsuperficial é empregado no tratamento de esgoto doméstico e amplamente utilizado na Europa, e este é dividido de acordo com seu fluxo, em vertical, horizontal ou híbrido. Neste sistema, o tipo de vegetação empregada é a macrófita tipo Emergente (Vymazal 2007; Dotro et al. 2017; Gorgoglione e Torretta 2018).

A utilização desta técnica com efluente de piscicultura vem sendo pesquisada com o intuito de melhorar a qualidade das águas dos tanques. Silva et al. (2013) destacam como vantagens do uso dos sistemas na piscicultura a ausência de produção de lodo que pode ser substituído pela produção da biomassa vegetal, efluentes com características físico-químicas e biológicas propícias para o descarte ou reaproveitamento e a versatilidade na sua construção.

O sistema de *wetlands* construído mais comum realiza o tratamento de efluentes com o escoamento subsuperficial de fluxo vertical, o qual é composto por substratos, nos quais as plantas (macrófitas aquáticas) se fixam (enraízam) e utilizam nutrientes para o desenvolvimento vegetal. A planta macrófita emersa *Eleocharis mutata* (L.) Roem. & Schult. foi utilizada para vegetar os protótipos montados de acordo com Alves et al. (2015) e trata-se de espécie nativa brasileira. Esta planta demonstrou eficiência e adaptabilidade no tratamento de efluente doméstico verificado por Caselles-Osorio et al. (2011), e por Castanha e Gomes (2017) no tratamento de efluente de piscicultura, e em ambos estudos, os resultados demonstraram melhora no índice de qualidade da água.

Além das funções de fixação, o substrato também auxilia na condução hidráulica do efluente, fornece área apropriada para os microrganismos aderirem e contribui na filtração e sorção de poluentes (Gorgoglione e Torretta 2018). Na investigação de materiais alternativos com características filtrantes, para compor o substrato do sistema, pode-se empregar o resíduo de cervejaria terra diatomácea.

A terra diatomácea ou diatomita *in natura* trata-se de matéria prima mineral de origem sedimentar e biogênica, constituída a partir do acúmulo de carapaça de algas diatomáceas que foram fossilizando-se em depósitos de sílica, com valor comercial agregado, e apresenta-se como um material leve e poroso, empregado nos processos de filtração (França et al. 2005). O material quando empregado como material filtrante na indústria cervejeira satura com a passagem do afluente (cerveja) e fica colmatada (perda de permeabilidade). Posteriormente, o material filtrante saturado por leveduras e partículas de materiais orgânicos suspensos é descartado pela indústria.

Com a premissa de contribuir para o desenvolvimento sustentável na piscicultura, este trabalho estudou a remediação da contaminação do hormônio sintético 17 α -metiltestosterona em meio aquoso, por meio do sistema de *wetlands* construídos com a reutilização de resíduo de terra diatomácea como substrato.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização do experimento

O experimento foi montado nas dependências da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, campus de Toledo, de coordenadas geográficas latitude 24°43'27" sul e longitude 53°45'34" oeste, elevação 577 m (Figura 1). De acordo com a classificação de Köppen-Geiger, o clima predominante é tipo climático Cfa - clima subtropical com pequena porção do tipo climático Cfb - clima temperado (Simepar 2008).

Figura 1. Localização do experimento - Município de Toledo, Oeste do Paraná.

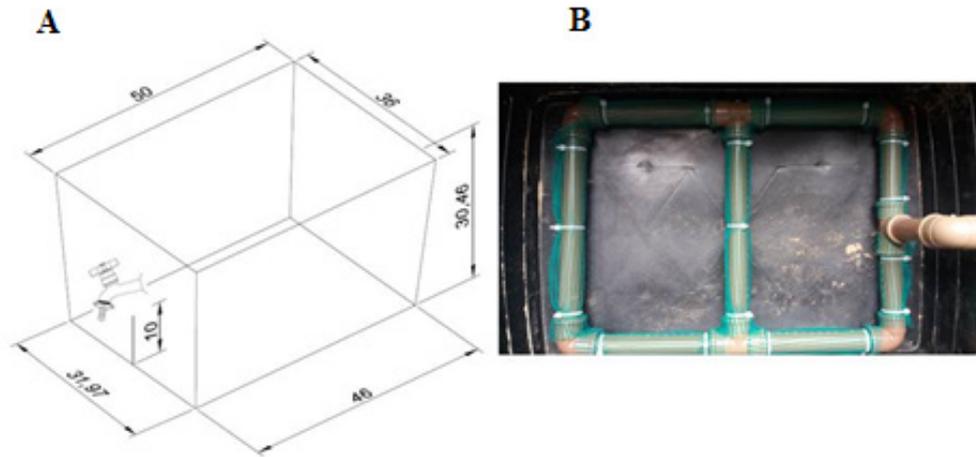


Fonte: Toledo (2015).

Montagem dos protótipos

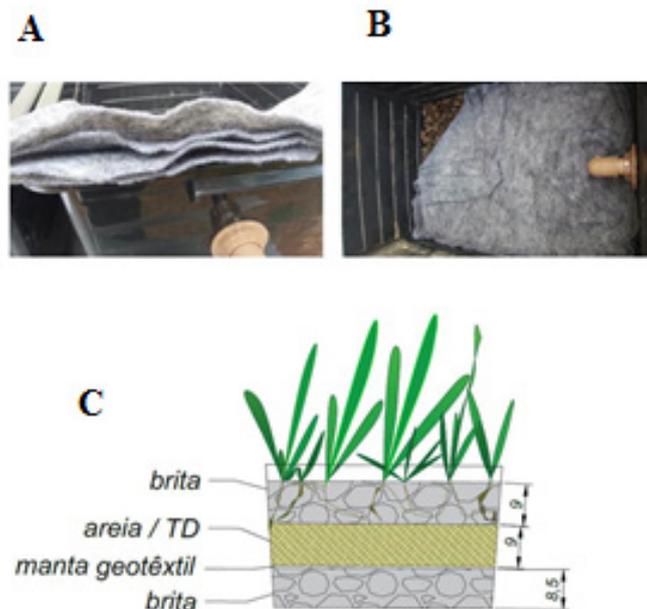
O sistema de drenagem foi composto por tubos e conexões soldáveis de PVC com 2,5 cm de diâmetro, perfurados a cada 1 cm, com orifícios de 0,5 cm de diâmetro acoplados por conexões (com “joelho” de 90°, adaptador e T) sem o uso de adesivos. O sistema de drenagem foi introduzido em uma caixa tipo container de polietileno e conectado ao adaptador soldável conectado a uma torneira. Posteriormente o sistema de drenagem foi envolvido com tela fina, fixada por abraçadeiras com clips de fixação em PVC, para evitar o bloqueio dos orifícios do sistema drenante (Figura 2).

Figura 2. Em (A) desenho com as dimensões em centímetros da caixa container e, em (B) o sistema de drenagem após ser acoplado na caixa container, com a fixação da tela fina.



O material suporte foi composto por quatro camadas, com a seguinte configuração: zona de saída (primeira camada) e a zona de entrada do efluente (quarta camada) compostas por pedra brita comercial tamanho um. O segundo material foi composto por um arranjo de quatro partes de manta geotêxtil drenante com 0,5 cm de espessura, constituído do material classificado como Geossintético, composto por fibras ou filamentos, com característica tanto flexível como permeável, e este material foi utilizado para reter as partículas advindas da camada superior (terceira camada), que foi constituído por dois materiais distintos (meio filtrante) areia de filtro, comumente empregada em filtro de água de piscina em dois protótipos e o resíduo de cervejaria terra diatomácea seca (TD) nos outros dois (Figura 3).

Figura 3. Imagem do substrato, em (A) disposição das quatro camadas de manta geotêxtil (segunda camada) e a pedra brita (camada inferior) com a manta geotêxtil em (B), e em (C) o *layout* e dimensões em centímetros de cada camada do substrato do sistema.



O resíduo do filtro de cervejaria (TD) foi doado por indústria cervejeira localizada no município de Toledo-PR. O material é composto por terra diatomácea, marca comercial CELATOM, fornecida pela empresa Ever Intec, com proporção de 65% de TD FW-50, de diâmetro médio de partícula de 42 μ m e permeabilidade de

3.500 darcy e 35% de TD FW-14 com diâmetro médio de partícula de 28 μm e permeabilidade de 1.300 darcy. O resíduo de TD apresentava aspecto de suspensão aquosa com partículas finas que, em repouso apresentava-se nas fases sólido/líquido.

O resíduo TD foi exposto ao sol por sete dias para secagem e eliminação de álcool (etanol), água e outros materiais orgânicos voláteis.

Caracterização do Meio Filtrante

O resíduo de TD foi caracterizado com os parâmetros de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO_5), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Fósforo Total, Nitrogênio Total Kjeldahl, Sólidos Totais, Sólidos Fixos e Sólidos Voláteis, de acordo com metodologias do Standard Methods (APHA 2012).

Para determinar a quantidade do material orgânico, o resíduo de TD foi inicialmente seco a 105°C por 3 horas em estufa Solab SL-100, para eliminar o excesso de água e voláteis como etanol, pesado em cadinhos de porcelana (duplicata) e submetidos a tratamento em mufla EDG W-one a 700°C por 3 horas com taxa de aquecimento de 10°C min^{-1} . Após atingir a temperatura ambiente, os cadinhos foram mantidos em dessecador com sílica gel até temperatura ambiente e em seguida pesados até massa constante.

Para estudos de cristalinidade da terra diatomácea *in natura*, utilizou-se medidas de Difractometria de Raios-X com equipamento Brucker modelo D2Phaser com radiação $K\alpha$ do Cu com $\lambda = 1,5406$ Angstroms e varredura de ângulo $2\theta^\circ$ entre 5° e 100° com incremento de 0,02°.

A avaliação da morfologia e a proporção dos átomos da terra diatomácea *in natura* foi realizada com Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS). As amostras foram colocadas em porta amostra sobre fita de carbono dupla face, sendo posteriormente secas e metalizadas com uma fina camada de ouro na superfície (*sputtering*). As análises foram realizadas em equipamento da marca TESCAN, modelo VEGA3. As micrografias foram obtidas em diversos aumentos em módulo SE (*secondary electron*) com detector de elétrons secundários. A composição química das microrregiões das amostras foi analisada por EDS com detector de Raios X da marca OXFORD INSTRUMENTS, modelo X-ACT.

No material areia de filtro, utilizada especialmente em filtro de piscina, foi realizado o ensaio granulométrico de acordo com a metodologia da NBR 7181 (ABNT 1984). Mediante os dados obtidos, elaborou-se a curva granulométrica da areia, verificando sua uniformidade e o diâmetro efetivo.

Plantio das macrófitas e aplicação do Hormônio 17 α -metiltestosterona

As plantas macrófitas aquáticas (Cadastro SisGen nº A71BC19) foram coletadas em janeiro de 2018, nas proximidades da Microbacia Hidrográfica do Rio Piava, área de Preservação Ambiental, nas coordenadas geográficas de latitude 23°39'23" sul e longitude 53°16'50" oeste com elevação de 362 m. As macrófitas foram aclimatadas no local do experimento e posteriormente replantadas oito mudas em cada sistema no mês de março de 2018.

Para cada protótipo (terra diatomácea ou areia de filtro) montou-se sistemas de referências nos quais não foi aplicado o hormônio MT, seguindo a mesmas configurações de montagem (Figura 4).

Figura 4. Imagem dos sistemas de *wetlands* construídos no início do replantio das mudas. Protótipos PI e PII: substrato terra diatomácea e pedra brita; Protótipos PIII e PIV: areia de filtro e pedra brita.



Procedimento experimental etapa processo batelada

A água utilizada (afluente) nos protótipos foi proveniente de fonte subterrânea com 232 m de profundidade e 68,8 m de nível estático. Esta água e as amostras do efluente na saída da torneira de cada protótipo, sem a adição do hormônio MT e após a sua adição foram avaliadas com parâmetros de pH, condutividade elétrica e turbidez. A condutividade da água foi medida por condutivímetro LUTRON CD-4303 (precisão de 2% da escala), calibrado com solução padrão de KCl de $146,9 \mu\text{S cm}^{-1}$ ($\pm 0,5\%$); o pH foi medido em pHmetro LABMETER PHS-3B (resolução $\pm 0,01$) e eletrodo de vidro combinado, calibrado com soluções tampão pH 7,0 ($\pm 0,05$) e pH 4,0 ($\pm 0,02$); e a turbidez foi medida usando um turbidímetro digital Tecnopon TB1000 (resolução 0,8) calibrado com padrões entre 0,1 e 1000 NTU. Após o período de desenvolvimento vegetal realizou-se a determinação da DBO_5 e da DQO na água do efluente do protótipo. A aplicação da solução de hormônio MT foi realizada nos protótipos PII e PIV, deixando-se como referência os protótipos PI e PIII.

A solução estoque contendo o hormônio foi preparada com o hormônio MT, de pureza de $101,5 \pm 2,0\%$, em etanol a 95% (v/v), com a concentração final de $0,09985 \text{ mol L}^{-1}$.

A solução foi aplicada nos protótipos PII e PIV a cada 72 horas, distribuindo-se uniformemente em toda superfície, com a concentração a cada aplicação de $1,54 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($4,65 \text{ mg L}^{-1}$) no PII e de $1,57 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($4,75 \text{ mg L}^{-1}$) no PIV, com a concentração média de $4,70 \text{ mg L}^{-1}$ de MT. A quantidade total aplicada foi de 217,43 mg no sistema com terra diatomácea (PII) e 181,2 mg no sistema com areia (PIV), de acordo com o volume de cada protótipo. Após a aplicação foram realizadas coletas de amostras a cada 24 horas, com três aplicações em nove dias, totalizando 18 dias de aplicações e coleta de amostras, entre os meses de maio e junho.

As amostras do efluente na saída dos protótipos foram analisadas medindo-se a absorvância na região espectral do UV-visível entre 200 e 1100 nm, com resolução de $\pm 1 \text{ nm}$ no espectrofotômetro Shimadzu PC-1800 duplo feixe, para avaliar a presença de MT e de matéria orgânica, considerando-se que, de acordo com Savaris et al. (2018), o hormônio MT apresenta o máximo de absorvância no comprimento de onda de 249 nm.

Procedimento experimental etapa processo em fluxo contínuo

Para estudar o processo em fluxo contínuo foi realizada a montagem de um sistema contendo um reservatório de 54 litros a montante, contendo duas torneiras e mangueiras, para condução do efluente até os protótipos PII e PIV (Figura 5), nas torneiras dos protótipos (zona de saída) e foram conectadas mangueiras para conduzir o efluente até o reservatório a jusante. A mangueira apresentava orifícios pelos quais o efluente era distribuído uniformemente em fluxo contínuo, em conduto livre.

Figura 5. Imagem da montagem do sistema em fluxo contínuo.



Para a preparação do efluente utilizou-se 0,0054 g de MT diluído diretamente em 54 L de água armazenados no reservatório a montante, com a concentração de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$. Regulou-se a vazão de entrada e saída do efluente em fluxo contínuo. Foram realizadas coletas de amostras contendo 10 mL do efluente na zona de saída, a cada 30 minutos, totalizando oito amostras. Foram realizadas três etapas de aplicação em fluxo contínuo. As amostras foram analisadas medindo-se a absorvância na região espectral do UV-visível, com o mesmo procedimento descrito na etapa batelada.

Determinação da hidrodinâmica do sistema

Realizou-se testes com traçador salino NaCl, no mês de novembro, utilizando a concentração de $66,67 \text{ g L}^{-1}$ como empregada por Matos et al. (2015). A solução traçadora foi preparada adicionando 400 g de sal fino comercial em 6 litros de água. Este método foi empregado para verificar a velocidade de percolação no substrato, assim como a possível colmatagem do meio filtrante. A vazão média de saída do protótipo foi fixada em 140 mL min^{-1} em fluxo contínuo. Para medir a condutividade elétrica do efluente na saída do sistema utilizou-se condutivímetro portátil Modelo 795P marca Quimis com faixa de 0 a $10.000 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização do Resíduo de Terra Diatomácea

O processo de filtração em cervejarias visa retirar as impurezas que não decantaram e estão presentes na bebida após o processo de maturação, sendo que o resíduo gerado pode conter alto conteúdo nitrogenado (Santos e Ribeiro 2005). De forma geral, o afluente da indústria cervejeira apresenta valores moderados ou elevados de carga orgânica. Segundo Viana et al. (2017), os resíduos gerados na indústria cervejeira necessitam de alto grau de tratamento e apresentam fitotoxicidade devido suas características com concentração elevada de matéria orgânica, característica constatada no ensaio realizado na amostra de resíduo de TD (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização do resíduo de filtro de cervejaria com terra diatomácea.

Parâmetros	Resultados (mg L ⁻¹)
DBO ₅	1,98 x10 ⁵
DQO	230,10 x10 ⁵
Fósforo Total	119,60
Nitrogênio Total Kjeldahl	3.990
Sólidos Totais	382,26
Sólidos Fixos	333,34
Sólidos Voláteis	48,92

Fonte: Laboratório de Limnologia, Gerpel/Unioeste.

O alto índice de matéria orgânica verificado no resíduo do filtro de terra diatomácea, de acordo com os valores de DBO₅ e DQO, indicou que a quantidade de carbono orgânico biodegradável (DBO₅) é menor que a quantidade de carbono oxidável ou não biodegradável (DQO). A razão DQO/DBO₅ de 116,21 indica alta quantidade de matéria oxidável, características de efluentes com alta carga orgânica e propicia maior grau de dificuldade na degradação microbiana (Giansante 2002). A alta quantidade de sólidos totais, que é a somatória de sólidos em suspensão e sólidos dissolvidos, indica que o material pode aumentar a quantidade de material sedimentável se disposto inadequadamente, aumentando a turbidez em meio líquido. O baixo teor de sólidos voláteis, em relação aos sólidos totais, refere-se à presença de etanol e compostos orgânicos voláteis provenientes do processo de filtração da cerveja.

O tratamento do material em mufla indicou que a quantidade de matéria orgânica total no resíduo é de 46,48% ± 0,04 (n = 3), com coeficiente de variação (CV) = 0,09%.

A alta carga orgânica, associada aos teores de nitrogênio e fósforo totais, possibilita o uso do resíduo de filtro de cerveja como fertilizante, auxiliando no desenvolvimento da biomassa.

Caracterização de Terra Diatomácea in natura

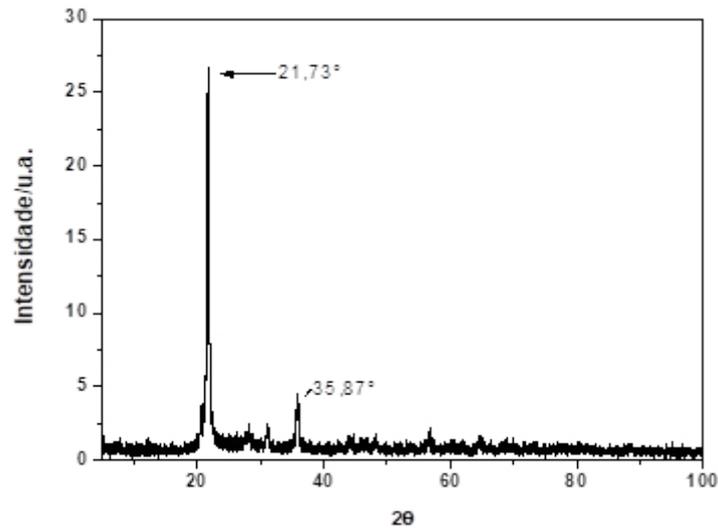
A composição química da terra diatomácea *in natura* utilizada, de acordo com o laudo do fabricante Iver Intec é de 89,0% de SiO₂; 4,10% de Al₂O₃ e 1,50% de Fe₂O₃ e 5,4% de outros óxidos.

O difratograma (Figura 6) da terra diatomácea FW-14 mostra pico intenso em 21,73°, característico da sílica (SiO₂), e pico em 35,83° referente à caulinita (2SiO₂.Al₂O₃.2H₂O) (Souza et al. 2003). Os resultados nos valores de 2θ encontrados para a terra diatomácea FW-50 diferem menos de 1%. Os valores de cristalinidade e tamanho do menor cristalito também diferem em torno de 1,0 a 1,7% (Tabela 2). A porcentagem de cristalinidade encontrada indica que a maioria dos cristais no material é uniforme e com dimensões definidas, tal como ilustra as imagens de micrografias eletrônicas de varredura (Figura 7).

Tabela 2. Características das partículas da Terra diatomácea *in natura*.

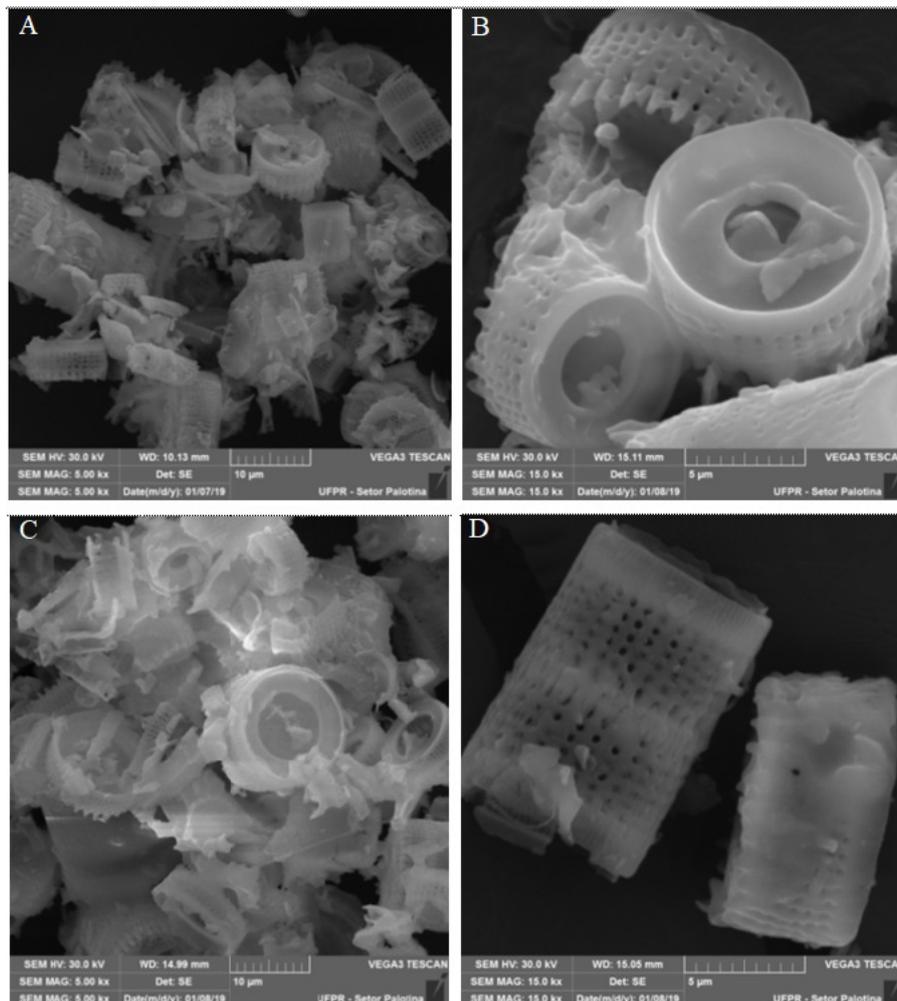
Terra diatomácea	Cristalinidade (%)	Tamanho menor cristalito (nm)
FW-14	63,2	26,65
FW-50	63,8	27,10

Figura 6. Difratometria de Raio-X (DRX) da terra diatomácea FW-14 *in natura*.



Nas imagens das micrografias (Figura 7) das amostras de TD FW-14 e da FW-50 *in natura* observou-se morfologia uniforme e que ambos os tipos de TD apresentam em sua maior proporção frústula de diatomácea de formato cilíndrico, com orifícios nas laterais e abertura central longitudinal com característica porosa.

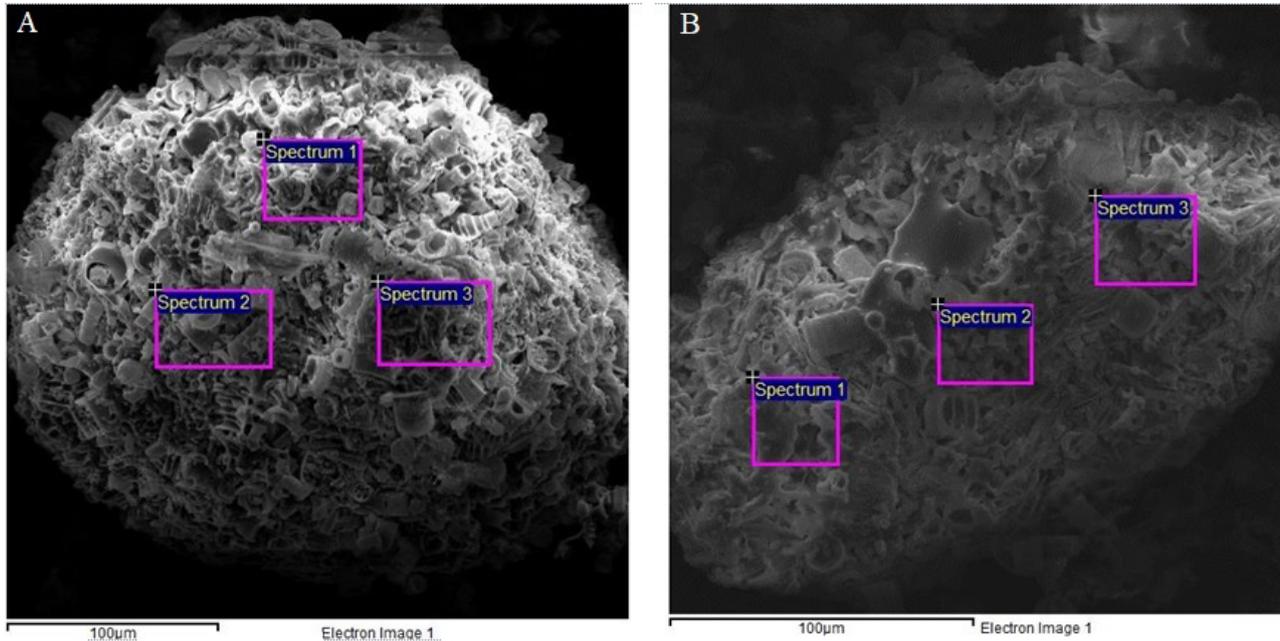
Figura 7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da terra diatomácea *in natura* FW-14, em (A) com a ampliação de 5.000 vezes, em (B) a ampliação de 15.000 vezes. Microscopia Eletrônica de varredura da terra diatomácea *in natura* FW-50 em (C) com a ampliação de 5.000 vezes, em (D) a ampliação de 15.000 vezes.



Fonte: Laboratório de Microscopia Eletrônica/UFPR- Campus Palotina

As análises de EDS das TD FW-14 e FW-50 (Figura 8) apresentam a composição semiquantitativa dos principais elementos químicos presentes, com alta proporção de silício (Si) e oxigênio (O), indicativo da presença de sílica (SiO_2) e caulinita ($2\text{SiO}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Na Tabela 3 estão apresentados os valores das médias, com resultados de três zonas selecionadas em cada amostra de terra diatomácea.

Figura 8. Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) de amostras *in natura* de terra diatomácea FW-14 em (A); e amostras da terra diatomácea FW-50 em (B).



Fonte: Laboratório de Microscopia Eletrônica/UFPR - Campus Palotina.

Tabela 3. Quantidade dos elementos principais presentes nas amostras de TD FW-14 e FW-50, a partir da análise EDS.

Amostra ¹	C	O	Na	Al	Si	Ca	Fe
FW-14	4,26 ± 0,89	54,59 ± 3,01	2,23 ± 0,48	1,19 ± 0,33	36,24 ± 1,16	0,35 ± 0,10	1,14 ± 0,47
FW-50	2,41 ± 0,40	55,84 ± 1,81	3,00 ± 1,15	1,36 ± 0,53	35,74 ± 2,91	0,43 ± 0,19	1,22 ± 0,61

Fonte: Laboratório de Microscopia Eletrônica/UFPR - Campus Palotina.

¹Média dos valores em % com desvio padrão das medidas em triplicata.

A somatória dos elementos Si, O e Al encontrados por EDS é de 92,02% para a TD FW-14 e de 92,94% para a TD FW-50, resultados próximos ao laudo do fabricante que indica o percentual de 93,10%, na somatória para sílica e caulinita, para ambas as TD.

Análise granulométrica da areia de filtro

Ao elaborar a curva granulométrica da areia empregada como material filtrante nos protótipos PIII e PIV, obteve-se o diâmetro efetivo (d_e) ou d_{10} de 0,44 mm e d_{60} de 1,14 mm e o coeficiente de uniformidade ($U = d_{60}/d_{10}$) de 0,39, e o resultado, de acordo com Almeida (2004), classifica a areia utilizada como areia com grau uniforme.

Avaliação do wetlands construídos em processo batelada

A partir dos dados do monitoramento dos parâmetros apresentados na Tabela 4, observou-se que no protótipo PI e PII contendo TD, a turbidez e a condutividade elétrica apresentaram valores maiores em relação aos que continham areia de filtro. Tal diferença deve-se ao fato de que o resíduo de terra diatomácea apresenta minerais extremamente finos, compostos iônicos e catiônicos e sólidos dissolvidos em água (matéria orgânica). Entretanto, as características físico-químicas não excederam os parâmetros preconizados na Resolução CONAMA nº 357 e 430 (Brasil 2005; Brasil 2011).

Nas análises de DBO_5 e DQO observa-se que, após a aclimação e desenvolvimento das plantas, há a eficiência de 99,99 % de remoção nos dois parâmetros, nos protótipos PI e PII (Terra diatomácea).

Tabela 4. Resultados do monitoramento físico-químicos e biológicos dos protótipos, referente às aplicações de MT. Valores expressam resultados das análises do efluente (saída) dos protótipos.

Amostras	Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)				pH				Turbidez (NTU)				DBO ₅ * mg L ⁻¹	DQO* mg L ⁻¹
	Maio	Jul.	Set.	Nov.	Maio	Jul.	Set.	Nov.	Maio	Jul.	Set.	Nov.	Nov.	Nov.
Afluente	93,29	88,12	126,5	89,35	6,25	6,73	6,48	6,25	0,04	0,01	0,1	0,07	-	-
P I	460	370	250	450	6,83	6,18	5,91	6,04	12,2	3,6	1,01	1,21	1,34	21,42
P II	270	440	410	320	6,55	6,17	6,08	6,3	4,9	2,1	0,97	1,25	1,37	23,13
P III	105,7	204	213	250	6,31	6,21	6,2	6,13	1,81	0,56	0,27	0,26	<1,00	11,01
P IV	134,5	240	229,3	260	6,44	6,34	6,18	6,46	1,49	0,19	0,1	0,73	<1,00	16,69

*Análises realizadas pelo Laboratório de Limnologia, Gerpel/Unioeste.

Após a aclimação e o desenvolvimento das plantas observou-se que todas desenvolveram raízes, no entanto o desenvolvimento vegetal nos sistemas PI e PII foram maiores, enquanto que as dos sistemas PIII e PIV, mesmo estando aclimatadas, apresentaram regressão no desenvolvimento vegetal, ou seja, as mudas que *a priori* estavam com folhas firmes, com talos grossos e coloração verde escura, passaram a apresentar folhas na coloração verde claro e talos finos (Figura 9). Esta diferença no desenvolvimento deve-se ao fato do protótipo composto por areia teve pouca adição de nutrientes, necessários para o desenvolvimento das plantas, indicando o potencial fertilizante do material retirado do filtro de cervejaria para as macrófitas.

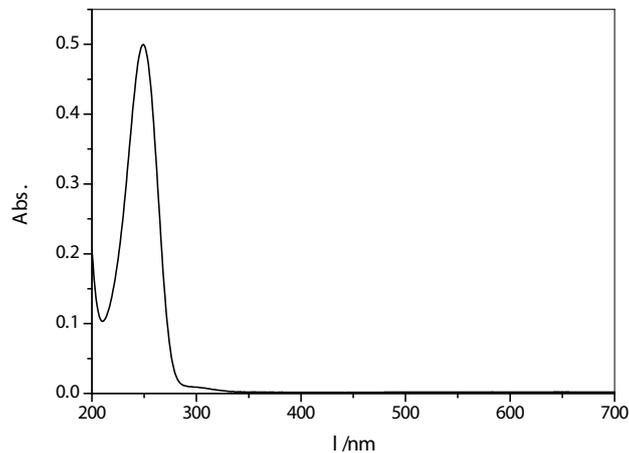
Segundo Bettioli e Camargo (2006) nitrogênio e fósforo são macronutrientes essenciais para o desenvolvimento dos vegetais e demais seres vivos presentes no solo, exceto quando há a decomposição do resíduo, que podem provocar o aumento da condutividade elétrica, caso não haja o lixiviamento das substâncias, e interferir no desenvolvimento dos vegetais, como foi observado no protótipo PI, que apresentou no início do monitoramento condutividade elétrica maior e desenvolvimento vegetal mais lento nos primeiros 30 dias de plantio; porém após este período as plantas se desenvolveram normalmente igualando-se ao protótipo PII, Figura 9.

Figura 9. Fotografia dos protótipos, após o desenvolvimento vegetal e início da aplicação do hormônio 17α -metiltestosterona.



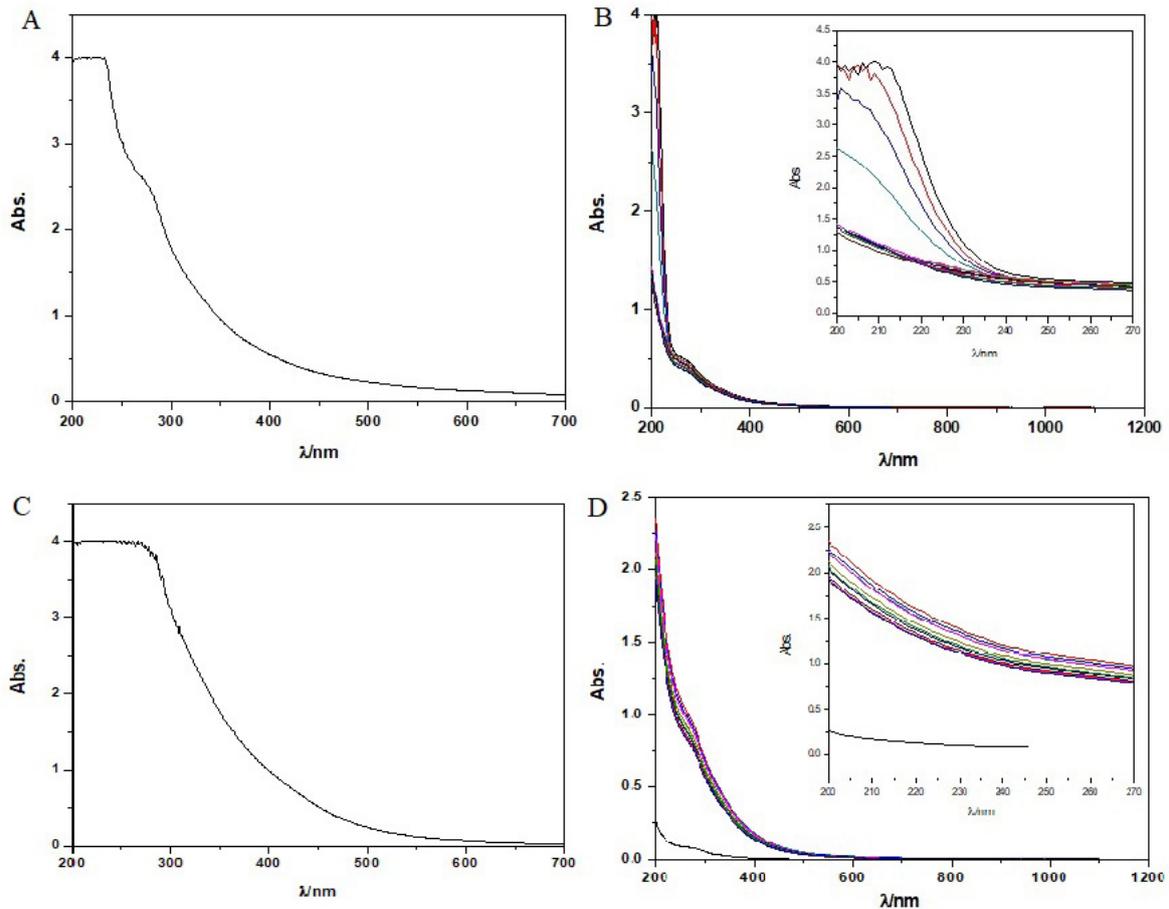
A Figura 10, na região espectral do ultravioleta-visível (UV-vis), apresenta o pico característico de maior absorção do hormônio 17α -metiltestosterona em meio aquoso em comprimento de onda (λ) de 249 nm.

Figura 10. Espectro característico do hormônio 17α -metiltestosterona em meio aquoso, na concentração de $8,89 \text{ mg L}^{-1}$. $\lambda_{\text{m\acute{a}x}} = 249 \text{ nm}$.



Ao analisar os resultados obtidos após a adição do hormônio MT, o pico característico está ausente em todas as análises realizadas (Figura 11). Entretanto, foi possível visualizar que as amostras apresentaram absorção intensa na região de 200 a 250 nm e banda larga entre 250 a 400 nm, nos Protótipos PI e PII, os quais apresentam alta carga orgânica pela presença do resíduo de TD. Resultados semelhantes foram verificados por Canellas et al. (2000), Azevedo et al. (2006), Cunha et al. (2007) e Santos et al. (2008) ao analisarem espectros com a presença de substâncias com ácidos húmicos e ácidos fúlvicos, característicos de ambientes com carga orgânica elevada, principalmente em relação à absorção em 254 nm.

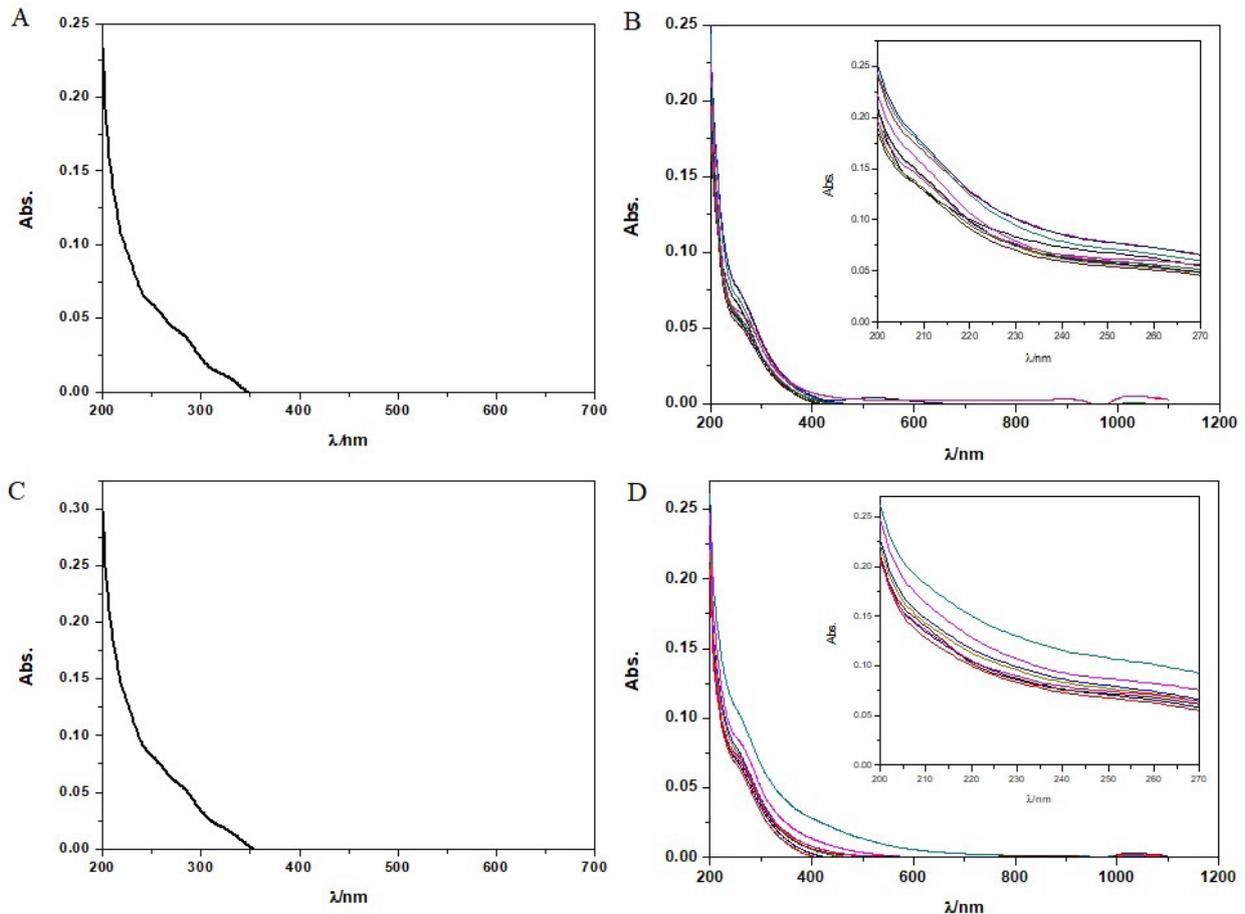
Figura 11. Espectros UV-vis do efluente dos protótipos PI e PII. Protótipos PI antes da aplicação da MT em (A) e, em (B) após a aplicação da MT. Protótipo PII antes da aplicação da MT em (C) e, após da aplicação em (D). Os gráficos em destaque (*insert*) em b e d ampliam a região entre 200 e 270 nm para melhor visualização do resultado.



O espectro obtido do efluente dos Sistemas PIII e PIV (Figura 12) também não apresenta o pico característico, mas apresenta absorções características de substâncias húmicas e fúlvicas, em menor quantidade, devido a menor biomassa formada. As absorvâncias para o protótipo PIV são, em média, 63,1% menores que as obtidas para o protótipo PII, indicando menor quantidade de substâncias húmicas e fúlvicas geradas no efluente.

Cunha et al. (2007) indicam que a razão entre as absorvâncias em 465 e 665 nm (E4/E6) possam ser parâmetro de humificação do sistema. De acordo com Saab e Martin-Neto (2007), se esta razão decresce, isto indica um aumento na condensação de anéis aromáticos, pois em 465 nm refere-se a grupos menos condensados presentes na estrutura e em 665 nm refere-se a policondensação de carbonos aromáticos. O efluente do protótipo PIV apresenta razão E4/E6 de 6,13, maior que a encontrada para o efluente do protótipo PII, com razão de 4,72, indicando menor grau de humificação no protótipo PIV.

Figura 12. Espectros UV-vis do efluente dos protótipos PIII e PIV. Protótipos PIII antes da aplicação da MT em (A) e, em (B) após a aplicação. O Protótipo PIV antes da aplicação da MT em (C) e, após a aplicação em (D).



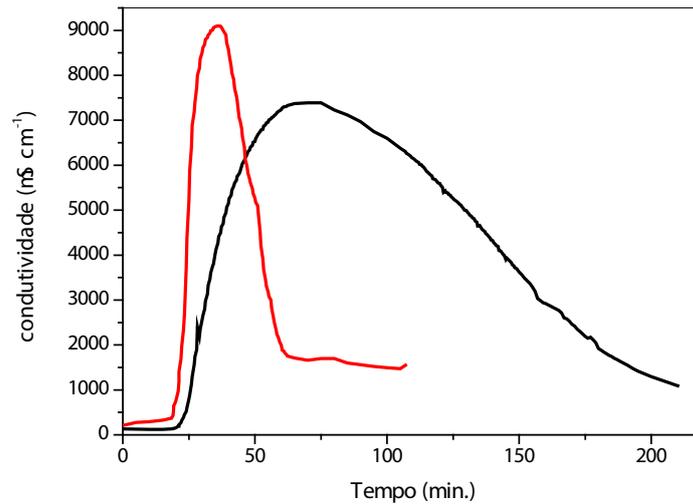
Avaliação da hidrodinâmica do sistema com traçador salino

A partir de testes realizados com o traçador salino NaCl, traçou-se a curva de condutividade elétrica ao longo do tempo (Figura 13). A curva do protótipo PII apresentou maior pico de condutividade elétrica evidenciando menor retenção hidráulica, caracterizado pela rápida passagem da solução pelo substrato, haja vista que a curva do protótipo PIV apresentou valor de pico menor, porém a curva ficou mais larga; tal contraste justifica-se pelo desenvolvimento vegetal maior no Protótipo PII, pois as raízes, mais desenvolvidas, podem favorecer a condução de substâncias contidas na zona de entrada (camada superior), para a zona de saída do efluente.

Na fase final do monitoramento, os dados apontam que o protótipo PII tem maior queda na condutividade elétrica durante 2h e 30 min. A redução na condutividade a partir deste período apresenta queda suave no final da curva, e no protótipo PIV a queda mantém-se constante com a inclinação da curva. O resultado indica a capacidade de sorção do meio filtrante do protótipo PII composto por terra diatomácea, que retém parte da solução salina e libera-o lentamente. O protótipo PIV com areia não possui esta característica, pois libera a solução salina gradativamente. No aspecto hidráulico, o protótipo PII apresenta maior condutividade hidráulica e nos dois sistemas não há a colmatação do substrato.

Com as curvas de distribuição, calculou-se para os protótipos PII e PIV os valores de tempo de retenção (t_r) de 25 minutos para o PII e 72,5 minutos para o PIV e largura do pico ($W_{1/2}$), sendo 17,8 minutos para o PII e 40,2 minutos para o PIV (Figura 13). Observou-se que o uso do traçador salino não provocou alteração na coloração ou morfologia vegetal das macrófitas aquáticas.

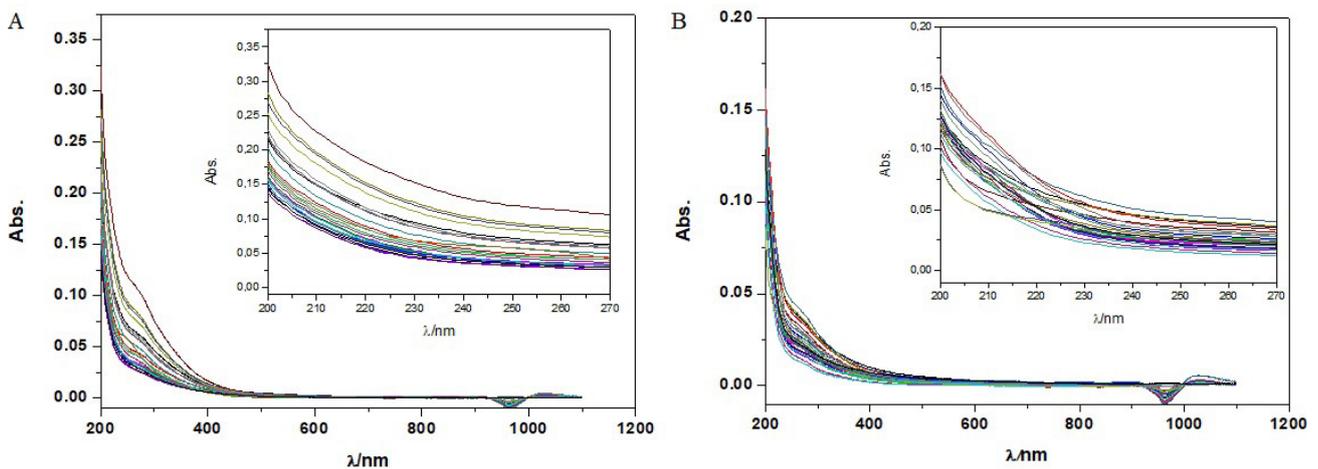
Figura 13. Curva de distribuição da condutividade elétrica do efluente em função do tempo. (- -) protótipo PII; (—) protótipo PIV.



Avaliação dos sistemas de WC na Etapa em Fluxo contínuo

Após realizar as análises das amostras coletadas verificou-se que o afluente com MT, contido no reservatório, após passar pelos sistemas, não apresentou a curva característica do hormônio MT em 249 nm (Figura 14), e, no *insert* das Figuras, assim como na etapa em batelada, constata-se que a curva entre 200 a 270 nm, não apresenta pico de absorção da MT. No entanto verifica-se a presença de substâncias húmicas no espectro da Figura 14 (a) pela presença de banda larga na região de 250 a 400 nm, o que não ocorre em (b).

Figura 14. Espectros UV-vis do efluente dos protótipos PII e PIV, fluxo contínuo. Protótipo PII em (A) e protótipo PIV em (B). As diferentes curvas referem-se a oito amostras coletadas em cada um dos três testes de fluxo contínuo realizados.



Os resultados indicam que o hormônio MT permanece adsorvido ou imobilizado no substrato dos *wetlands* construídos tanto nos testes em batelada como em fluxo contínuo. Este fenômeno de estabilização do hormônio foi observado também no trabalho de Homklin et al. (2011), que verificaram o acúmulo do hormônio 17α -metiltestosterona em sedimentos devido a presença de Fe(II), de nitratos, matéria orgânica e maior teor de sais (efeito salino). Também segundo estes autores, em sedimentos aeróbios, a atividade microbiana pode degradar lentamente o hormônio impedindo-o de contaminar as águas naturais.

O potencial da tecnologia de *wetlands* construídos na redução ou remediação do impacto da atividade humana devido ao manejo em pisciculturas é grande, evitando a disseminação do hormônio 17 α -metiltestosterona nos compartimentos naturais, nos quais causaria eventuais modificações na fauna ali presente. O uso de um resíduo da atividade industrial, a terra diatomácea, na montagem do sistema de filtração permite diminuir o seu possível impacto ambiental, além de promover mais eficazmente o desenvolvimento das espécies vegetais utilizadas em *wetlands*, devido ao fornecimento de nutrientes que aumentam a massa vegetal, necessária para a efetividade de filtração. A terra diatomácea, mesmo após seu uso industrial, apresenta capacidade absorvedora, importante característica para seu reaproveitamento. Ressalta-se a importância da caracterização química de um resíduo industrial que será utilizado em outras atividades, mesmo que para mitigação de danos ambientais, para determinar se há a presença de substâncias com toxicidade.

CONCLUSÃO

O resíduo de terra diatomácea proveniente de filtros de cervejaria apresenta características fertilizantes e pode ser empregado em sistemas de *wetlands* construídos, contribuindo positivamente no desenvolvimento das macrófitas aquáticas. Além disso, o sistema demonstrou eficiência no tratamento de águas que contenham o hormônio 17 α -metiltestosterona, retendo ou imobilizando o hormônio durante o processo, nos sistemas de batelada e em fluxo contínuo, destacando a eficiência dos dois sistemas montados. A pesquisa ressaltou com os testes realizados com traçador salino, que não há colmatagem nos protótipos PII e PIV, com destaque para a característica de sorção do resíduo terra diatomácea (PII), o qual liberou lentamente os íons do traçador salino NaCl. O resíduo de terra diatomácea, mesmo após o descarte na indústria, apresenta permeabilidade e pode ser reutilizado como material filtrante para a remoção do hormônio.

A ecotecnologia empregada neste trabalho indica ser uma opção no tratamento de efluente da piscicultura atuando como medida mitigadora de passivos ambientais da atividade. Assim, é possível que esta metodologia de tratamento seja também utilizada para prevenção de contaminação do hormônio por ser de menor custo que outros tratamentos convencionais, por agregar resíduos da atividade industrial que seriam descartados e por utilizar espécies vegetais da própria região para construção dos *wetlands*, disseminando a técnica mesmo para pequenos produtores.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pelo apoio financeiro, e a Silvio Antônio Corso, Mestre cervejeiro da INAB Cervejaria.

REFERÊNCIAS

ABNT. NBR 7181:1984 - Solo: Análise Granulométrica - Método. Rio de Janeiro.

Almeida GCP. 2004. **Caracterização física e classificação dos solos** - Apostila. Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Engenharia, Departamento de Transporte, p.72-75, 2004. Disponível em: http://ufrj.br/institutos/it/deng/rosane/downloads/material%20de%20apoio/APOSTILA_SOLOS.pdf . Acesso em: 26 jun. 2019.

Alves M, Hefler SM, Trevisan R, Silva Filho PJS, Ribeiro ARO. 2015. *Cyperaceae*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7194> . Acesso em 25 jul. 2017.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 2012. 22 ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1496 p.

Azevedo JC, Teixeira MC, Nozaki J. 2006. Estudo espectroscópico de substâncias húmicas extraídas da água, solos e sedimentos da Lagoa dos Patos-MS, Brasil. **SaBios-Rev. Saúde e Biol.**, 1(2):59-71.

Barbosa IR, Lopes S, Oliveira R, Domingues I, Soares AMVM, Nogueira AJA. 2013. Determination of 17 α -methyltestosterone in Freshwater Samples of Tilapia Farming by High Performance Liquid Chromatography. **American Journal of Analytical Chemistry**, 04(04):207-211. doi:10.4236/ajac.2013.44026.

Bettiol W, Camargo OA. 2006. A disposição de Lodo de Esgoto em solo Agrícola. In: Bettiol W, de Camargo OA, (Ed.). **Lodo de Esgoto: Impactos Ambientais na Agricultura**, Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente. p. 25-35.

BRASIL. **Resolução CONAMA 357 de 17 de maio de 2005**. Dispões sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília: DOU, 2005.

BRASIL. **Resolução CONAMA 430 de 13 de maio de 2011**. Dispões sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Brasília: DOU, 2011.

Canellas LP, Santos GA, Moraes AA, Rumjanek VM, Olivares FL. 2000. Avaliação de características de ácidos Húmicos de resíduos de origem urbana: I. Método espectroscópico (UV-vis, IV, RMN ¹³C-CP/MAS) e microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira Ci. Solo**, 24(4):741-750. doi:10.1590/S0100-06832000000400006.

Caselles-Osorio A, Villafañe P, Caballero V, Manzano Y. 2011. Efficiency of Mesocosm-Scale Constructed Wetland Systems for Treatment of Sanitary Wastewater Under Tropical Conditions. **Water Air Soil Pollut.**, 220(1-4):161-171. doi:10.1007/s11270-011-0743-7.

Castanha APJ, Gomes DC. 2017. Tratamento de efluente de piscicultura utilizando *Wetlands* Construídos de fluxo vertical com diferentes substratos. In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AMBIENTAIS. **Anais**. Toledo: Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Cunha TJ, Bassoi LH, Ribeiro PRA, Simões ML, Martin-Neto L, Petrere VG, Santana RO. 2007. Caracterização Espectroscópicas de ácidos húmicos provenientes de fontes comerciais, em solos fertirrigados, no vale do São Francisco. In: XXXI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. **Anais**. Gramado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/89477/1/Proci-07.00054.pdf>. Acesso em: 26 jan. 2019.

Dotro G, Günter L, Molle P, Nivala J, Puigaguti J, Stein O, Von Sperling M. 2017. **Biological Wastewater Treatment Series: Treatment Wetlands**. Vol. VII, London, UK: IWA Publishing, 154 pp. doi: 10.2166/9781780408774.

França SCA, Luz AB, Inforçati PF. 2005. Diatomita. In Luz AB, Lins FAF. **Rochas e Minerais Industriais: Usos e Especificações**. Rio de Janeiro:CETEM/MCT, p. 399-411.

- Giansante AE. 2002. A variação de relação DQO/DBO em esgotos Sanitários. O caso da ETE de Jundiá. In: VI SIMPÓSIO ÍTALO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. **Anais**. ABES. Vitória.
- Gorgoglione A, Torretta V. 2018. Sustainable Management and Successful Application of Constructed Wetlands: A Critical Review. **Sustainability**, 10(11):1-19. doi:10.3390/su10113910.
- Homklin S, Ong SK, Limpiyakorn T. 2011. Biotransformation of 17 α -methyltestosterone in sediment under different electron acceptor conditions. **Chemosphere**, 82(10):1401-1407. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.11.068
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2017. **Informativo: Produção Pecuária Municipal 2018**. Rio de Janeiro, 45. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=784> . Acesso em 05 mar. 2020.
- Kubitza F. 2009. O uso de metiltestosterona na masculinização de tilápias um desafio para o MPA. **Panorama da Aquicultura**, 19(116):14-21.
- Matos MP, Von Sperling M, Matos AT, Passos RG. 2015. Uso de traçador salino para avaliação da colmatção e das condições hidrodinâmicas em sistemas alagados construídos de escoamento horizontal subsuperficial. **Eng. Agr. Jaboticabal**, 35(6):1137-1148. doi:10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v35n6p1137-1148/2015.
- Oliveira EG, Santos FJS, Pereira AML, Lima CB. 2007. **Produção de Tilápia: Mercado, espécie, biologia e recreia**. Circular técnica 45, Teresina:Embrapa Meio Norte, 12 p.
- Rima NN, Rahman M, Sarker J. 2017. Optimization of 17-alpha Methyltestosterone (MT) Hormone Dose during Masculinization of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fry. **Journal of Noakhali Science and Technology University (JNSTU)**, 1(2):35-41.
- Rivero-Wendt CLG, Oliveira R, Monteiro MS, Domingues I, Soares AMV, Grisolia CK. 2016. Steroid androgen 17 α -methyltestosterone induces malformations and biochemical alterations in zebrafish embryos. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 44:107-113. doi:10.1016/j.etap.2016.04.014.
- Rouso BZ, Santos MO, Freitas MN, Pelissari C, Fechini VY, Sezerino PH. 2018. Avaliação da aptidão de lançamento de efluentes tratados em sistema híbrido de wetlands construídos. **Tecno-Lógica**, 22(1):30-34. doi:10.17058/tecnolog.v22i1.10501.
- Saab SC, Martin-Neto L. 2007. Anéis aromáticos condensados e relação E4/E6: estudo de ácidos húmicos de Gleissolos por RMN de ^{13}C no estado sólido utilizando a técnica CP/MAS desacoplamento defasado. **Química Nova**, 30(2):260-263. doi:10.1590/S0100-40422007000200003.
- Santos HO, Lourenço SR, Oliveira FA. 2008. Caracterização das substâncias húmicas aquáticas com o uso de espectroscopia de UV-VIS. **Revista Tecnológica**, 17(1):29-38. doi:10.4025/revtecnol.v17i1.7766
- Santos MO, Pelissari C, Rouso BZ, Freitas MN, Sezerino PH. 2018. Avaliação dos primeiros anos de operação de um Wetlands construído vertical de fundo saturado aplicado no tratamento de esgoto sanitário. **Tecno-Lógica**, 22(1):25-29. doi:10.17058/tecnolog.v22i1.10500.
- Savaris DL, Matos R, Lindino CA. 2018. Degradation of 17 α -methyltestosterone by hydroxyapatite catalyst. **Ambiente & Água**, 13(1)e2103. doi: 10.4136/ambi-agua .2103

Silva MSGM, Losekann ME, Hisano H. 2013. **Aquicultura: manejo e reaproveitamento de efluentes**. Documento 95, Jaguariúna:EMBRAPA Meio Ambiente, 39 p.

Simepar - Sistema Meteorológico do Paraná. 2008. **Mapa climático do Paraná**. Disponível em: http://www.itcg.pr.gov.br/arquivos/File/Produtos_DGEO/Mapas_ITCG/PDF/Mapa_Climas_A3.pdf. Acesso em: 30 set. 2018.

Souza GP, Filgueira M, Rosenthal R, Holanda JNF. 2003. Caracterização de material compósito Diatomáceo Natural. **Cerâmica**, 49(309):40-43. doi:10.1590/S0366-6913 2003000100009.

TOLEDO. Prefeitura Municipal de Toledo. 2015. **Plano Diretor Participativo Toledo 2050**. Toledo: PMT, 425 p.

Viana LO, Martins KG, de Souza KV, Stroparo EC. 2017. Fitotoxicidade de efluente da indústria cervejeira em sementes de *Lactuca sativa* L. *Revista Internacional de Ciências*, 7(2):265-275. doi:10.12957/ric.2017.30072.

Vymazal J. 2007. Removal of Nutrients in various types of constructed wetlands. **Sci. of the Total Environment**, 380(1-3):48-65. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.09.014.

Zaniboni Filho E. 2005. Tratamento de efluentes da Piscicultura. In: ZOOTEC 2005. **Anais**. Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul. Campo Grande.