

**Emprego de compostos naturais para a obtenção e projeção de um produto destinado ao
tratamento de resíduos de instalações zootécnicas**

**Use of natural compounds for obtaining and projecting a product for the treatment of
confined agricultural and livestock waste**

**Uso de compuestos naturales para obtener y proyectar un producto dispuesto para el
tratamiento de residuos de instalaciones zootecnicas**

Recebido: 15/05/2020 | Revisado: 29/05/2020 | Aceito: 01/06/2020 | Publicado: 16/06/2020

Ana Carlyne Reis Faria

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4001-5832>

Instituto Federal de Minas Gerais, Brasil

E-mail: caarolynereis@gmail.com

Luís Eduardo Reis Faria

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2324-6436>

Instituto Federal de Minas Gerais, Brasil

E-mail: luis.eduardo.reis.faria@gmail.com

Priscila Ferreira de Sales

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9313-9575>

Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: priscila.sales@cefetmg.br

Douglas Henrique Pereira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7700-4769>

Universidade Federal do Tocantins, Brasil

E-mail: doug@uft.edu.br

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo geral elaborar um delineamento experimental que permitisse formular um produto à base de compostos naturais que atuasse de maneira eficiente no tratamento de urina bovina (controle de pH e minimização do odor), sendo que os trabalhos foram correlacionados às ferramentas computacionais. Os resultados evidenciaram que 47 gotas de limão Tahiti foram necessárias para a neutralização de 50 mL de urina, sendo necessário o emprego de três gotas da essência de capim-limão para a minimização do odor. Os cálculos teóricos mostraram como ocorrem as interações do ácido cítrico com a ureia e ácido úrico, evidenciando que o ácido cítrico interage com

aproximadamente a mesma intensidade tanto com a ureia quanto com o ácido úrico, justificando os resultados experimentais encontrados.

Palavras-chave: Limão; Vinagre; Leite; Quimiometria; Ferramentas computacionais.

Abstract

The present research had as general objective to elaborate an experimental design that allowed to formulate a product based on natural compounds that acted efficiently in the treatment of bovine urine (pH control and odor minimization), developed were then corroborated to computational tools. The results showed that 47 drops of Tahiti lemon were necessary for the neutralization of 50 mL of urine, being necessary the use of three drops of the lemongrass essence for the minimization of the odor. The theoretical calculations showed how the interactions of citric acid with urea and uric acid occur, evidencing that citric acid interacts with approximately the same intensity with both urea and uric acid, justifying the experimental results found.

Keywords: Lemon; Vinegar; Milk; Chemometrics; Computational tools.

Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo general elaborar un diseño experimental que permitiera formular un producto basado en compuestos naturales que actuarían eficientemente en el tratamiento de la orina bovina (control de pH y minimización de olores), y los trabajos se correlacionaron con herramientas computacionales. Los resultados mostraron que fueron necesarias 47 gotas de limón Tahití para neutralizar 50 ml de orina, lo que requiere el uso de tres gotas de esencia de hierba de limón para minimizar el olor. Los cálculos teóricos mostraron cómo ocurren las interacciones de ácido cítrico con urea y ácido úrico, mostrando que el ácido cítrico interactúa con aproximadamente la misma intensidad con urea y ácido úrico, lo que justifica los resultados experimentales encontrados.

Palabras clave: Limón; Vinagre; Leche; Quimiometría; Herramientas computacionales.

1. Introdução

Com o aumento do consumo de alimentos é verificado um crescimento na produção animal, o que intensifica a geração de resíduos, sendo que estes, uma vez que não são tratados ou manejados corretamente, causam prejuízos ambientais incalculáveis (Andreazzi, 2015).

Os efluentes orgânicos residuais de sistemas de agropecuária confinada, quando são eliminados sem tratamento prévio, provocam alterações físicas e químicas nos mananciais, oferecendo riscos à saúde pública e ao abastecimento, já que podem estar associados com substâncias patogênicas e/ou tóxicas. Outro grave problema que pode ser ocasionado é o

aumento da demanda de oxigênio no meio aquático, o que leva ao desenvolvimento excessivo de algas e consequente eutrofização nos rios, riachos, lagos e lagoas (Bertocini, 2008; Silva & Roston, 2010; Sperling, 1998).

Além desses fatores, é necessário analisar a questão da ambiência que é importante para a produtividade e para a segurança do trabalhador exposto ao meio. Por serem mais difíceis de detectar, normalmente não recebem a devida atenção por parte dos produtores rurais (Faria et al. 2016).

A urina é um dos principais fluidos de excreção de substâncias nocivas ao organismo. Ela é produto de seletiva e específica filtração do sangue pelos rins, acrescida de células e porventura bactérias presentes nos ureteres, bexiga, uretra e da genitália, resultando normalmente num fluido de coloração amarelada, variando seu tom de acordo com sua concentração (González, 2009; Ortolani, 2002).

Dentre as substâncias que podem ser excretadas pela urina, destaca-se no presente trabalho a ureia, substância indicadora do funcionamento renal (González, 2009). Sua degradação gera a amônia como gás tóxico (Angonese et al., 2007; Domingues & Langoni, 2001). Por ser uma substância tóxica, é eliminada pela maior parte dos seres vivos na forma de ureia e de ácido úrico, juntamente com outros compostos nitrogenados (Jones et al., 2005).

Com relação ao meio ambiente, a amônia na sua forma livre é tóxica principalmente para a biota aquática, pois neste estado sua absorção é mais fácil por causa da permeabilidade nas membranas celulares dos peixes e porque esta pode formar complexos de metais pesados, considerados tóxicos ao meio (Alves et al., 2006; Jornal do Brasil, 2014).

De acordo com abordagens relatadas na literatura, existem processos para remoção da amônia, sendo o biológico o mais conhecido. Porém, quando suas concentrações ultrapassam 50 ppm, a eficiência deste tratamento diminui, uma vez que esta concentração está associada à quantidade da matéria orgânica presente. Para as concentrações variáveis entre 5 e 8 ppm nos recursos hídricos é evidenciada uma maior necessidade de cloro no tratamento da água de abastecimento, o que pode conduzir à formação de subprodutos tóxicos que incluem as cloraminas e compostos orgânicos voláteis (Von Sperling; 2005).

Neste contexto, a legislação brasileira, através do CONAMA, pela Resolução nº 357, de março de 2005, estabelece que o despejo de resíduos da produção animal não seja permitido em rios de Classe I, destinados ao abastecimento doméstico. Em rios das Classes II e III, o despejo pode ser feito desde que tratado para obter os mesmos padrões qualitativos da água do rio, ou seja, permita a autodepuração, o que enfatiza a necessidade de atenção e tratamentos prévios dos resíduos advindos destas instalações (Cunha et al., 2013).

Sendo assim, a utilização de ácidos provenientes de compostos naturais permite reduzir o pH da amostra de ureia, o que possivelmente bloqueará a ação da urease, que transforma a ureia em amônio e amônia. Nesse caso, é possível verificar a minimização do odor, melhorando as condições de ambiência para o trabalhador exposto às instalações zootécnicas, buscando-se ainda a minimização dos riscos à fauna e flora brasileiras.

De um modo geral, o presente trabalho tem por objetivo geral elaborar um delineamento experimental que permita formular um produto que atue de maneira eficiente no tratamento de resíduos provenientes dos processos produtivos de instalações zootécnicas localizadas nas fazendas na região de Bambuí, sendo que os trabalhos desenvolvidos foram corroborados por meio da utilização de ferramentas computacionais.

2. Metodologia

O presente trabalho foi desenvolvido por meio de uma metodologia de pesquisa laboratorial, seguida de sua aplicação em uma pesquisa de campo, sendo empregadas avaliações tanto quantitativas, quanto qualitativas (Pereira et al., 2018).

2.1 Compostos naturais empregados

Para a projeção do tratamento dos resíduos foram utilizados como compostos naturais: limões (caipira, galego, siciliano e tahiti), leite e vinagre, sendo obtidos em supermercados locais de modo a tornar o processo economicamente viável.

O limão foi escolhido por ser uma das frutas mais utilizadas no país e possuir versatilidade e benefícios. Apesar de sua enorme variedade, as mais conhecidas no Brasil são: limão caipira, limão galego, limão siciliano e limão tahiti (Super Gentil, 2017).

O leite foi buscado como alternativa visto que a sua química tornou-se muito importante para a qualidade e o desenvolvimento de produtos laticínios, sendo que seu estudo envolve especialistas de diversas áreas, em razão da complexidade das interações entre os constituintes que esse coloide contém (MILK POINT 2020).

O vinagre foi escolhido por ser uma substância líquida e ácida, produzida a partir da fermentação de bebidas alcoólicas como vinho, ou por meio de algumas frutas. Por possuir ácido acético e enzimas, é considerado um potencial composto antioxidante (Meneguzzo & Rizzon, 2006).

2.2 Determinação da acidez nos compostos naturais

A acidez de compostos naturais é dependente da concentração de ácidos específicos

em cada composto. Desse modo, a acidez do vinagre está relacionada com o teor de ácido acético, a do leite com o teor de ácido láctico e a das frutas cítricas com o teor de ácido cítrico. Neste caso foi empregada a técnica de titulação com a finalidade de determinação da composição percentual de ácidos orgânicos nas amostras.

2.2.1 Determinação da composição percentual de ácido acético (MM=60,05 g/mol) no vinagre:

Foram pipetados 2 mL de vinagre, os quais foram transferidos para um erlenmeyer e adicionados 20 mL de água. Em seguida, foram inseridas 3 gotas de fenolftaleína. O sistema foi titulado com solução de hidróxido de potássio 0,1 mol L⁻¹ padronizada até o aparecimento da cor rosa.

2.2.2 Determinação da composição percentual de ácido láctico (MM=90,08 g/mol) no leite:

Foram pipetados 25 mL de leite, os quais foram transferidos para um erlenmeyer. Em seguida, foram adicionadas 3 gotas de fenolftaleína. O sistema foi titulado com solução de hidróxido de potássio 0,1 mol L⁻¹ padronizada até o aparecimento da cor rosa.

2.2.3 Determinação da composição percentual de ácido cítrico (MM=192,12 g/mol) no limão:

Os limões foram espremidos e os sucos filtrados em papel de filtro de poros grandes. Em seguida, foram pipetados 10 mL do suco, os quais foram transferidos para um balão volumétrico de 100 mL, sendo que os volumes foram completados com água destilada. Alíquotas de 20 mL foram transferidas para um erlenmeyer e foram adicionadas 3 gotas de fenolftaleína. O sistema foi titulado com solução de hidróxido de potássio 0,1 mol L⁻¹ padronizada até o aparecimento da cor rosa.

2.3 Determinação do pH das soluções

As medidas de pH envolvidas em todo o delineamento experimental de pH foram feitas em um pHmetro (marca: HANNA) com resolução de 0,01.

2.4 Otimização das variáveis – Teste em bancada utilizando solução de ureia

Os testes de bancada, a nível laboratorial, foram conduzidos empregando solução de ureia (VETEC P.A.), visto que a mesma é precursora da amônia, presente na urina bovina e

de odor característico, desagradável e prejudicial aos trabalhadores.

2.4.1 Influência do volume de gota dos compostos naturais

Neste delineamento experimental foi avaliada a quantidade de gotas dos compostos naturais (leite, vinagre e limões) necessária para neutralizar o pH inicial de 100 mL de uma solução de uréia na concentração de 100 g L⁻¹. O experimento foi conduzido com cada composto natural até que o pH ficasse próximo ao neutro (pH= 7).

2.4.2 Estudo cinético para a avaliação da estabilidade do pH após a adição das gotas

A fim de verificar a estabilidade do pH após a adição dos ácidos: láctico, acético e ácido cítrico contidas nos compostos naturais, foi realizado um estudo cinético nos seguintes tempos de contato com a solução: 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 60 minutos e uma semana (10080 minutos). Os experimentos foram conduzidos com 100 mL de solução de ureia na concentração de 100 g L⁻¹. A fim de verificar se a diferença de pH foi significativa ao longo do estudo cinético, foram calculados os seguintes parâmetros estatísticos: média, desvio padrão da média e coeficiente de variação.

2.4.3 Estudo teórico para a comprovação dos ácidos orgânicos utilizados

Com a finalidade de verificar a nível molecular a interação dos ácidos com a ureia, bem como validar os resultados experimentais, cálculos teóricos foram empregados. Os ácidos acético, láctico, cítrico e úrico juntamente com a molécula de ureia foram otimizados com o funcional M06-2X (Zhao et al., 2008) e função de base aug-cc-pVTZ (Dunning, 1989). Para confirmar se as estruturas otimizadas estavam em seu mínimo de energia, cálculos de frequência foram empregados e nenhuma frequência imaginária foi evidenciada. Para considerar o efeito de solvente (água) foi empregado o modelo de solvente contínuo SMD (Marenich et al., 2009).

O processo de interação foi realizado e as energias dos complexos formados foram quantificados pela equação 1:

$$E_{\text{int}} = E_{\text{complexo AB}} - [E_{\text{espécie A}} + E_{\text{espécie B}}] \quad (1)$$

Todos os cálculos foram realizados utilizando o programa Gaussian 09 (Frisch, et al., 2009).

2.4.4 Delineamento experimental destinado à neutralização do pH

A fim de definir as quantidades de gotas dos compostos naturais que poderiam ser empregadas na projeção do tratamento de resíduos, foi empregado um Planejamento Fatorial Completo com Ponto Central, empregando a solução de ureia na concentração de 100 g L⁻¹. Para tanto, foram excluídos os compostos que necessitaram de mais gotas para a neutralização ou que apresentaram maior coeficiente de variação de acordo com as análises estatísticas conduzidas no estudo cinético.

Esse tipo de delineamento envolveu 3 pontos fatoriais e 3 pontos centrais. Para as três variáveis estudadas, o número total de experimentos foi 11, conforme descrito a seguir:

$$\text{Número de ensaios} = 2^n + n_c \quad (2)$$

em que n consiste do número de fatores analisados e n_c, o número de pontos centrais.

As respostas obtidas na medida de pH foram ajustadas a quatro modelos matemáticos: linear, quadrático, quadrático puro e de interação, sendo avaliado o modelo que melhor se adequou aos dados, levando em consideração parâmetros estatísticos em um teste conduzido com 95% de confiança.

Para o delineamento experimental, bem como a obtenção das condições ideais para a otimização do sistema foi empregado o programa Chemoface na versão 1.4.

2.4.5 Análise das variáveis e otimização das condições: Gráfico e Pareto e aplicação da superfície de resposta

Após os resultados obtidos por meio da realização do delineamento experimental, foram avaliados os efeitos das variáveis e suas interações no processo em estudo através da construção do gráfico de Pareto. As condições ideais necessárias para a neutralização do pH foram fornecidas por meio da análise de um gráfico bidimensional, o qual foi construído com as interações que foram significativas nos testes conduzidos a 95% de confiança. Para tanto foi empregado o programa Chemoface na versão 1.4.

2.5 Testes laboratoriais empregando a urina de confinamento animal

Com os resultados obtidos do delineamento experimental e das análises quimiométricas, foi definido o ácido cítrico comercial (VETEC, 99,5% de pureza), a concentração e a quantidade de solução ácida que seria necessária para a neutralização do pH da urina, que posteriormente poderia ser aplicada em situações reais nas fazendas próximas à

região de desenvolvimento do trabalho.

2.6 Aplicação do produto nas fazendas da região de Bambuí

Após a realização dos testes com a urina bovina a nível laboratorial, foi formulado um produto que contendo os compostos naturais e a essência de capim-limão (marca: Now) para a minimização do odor, atendendo às exigências de neutralização do pH e melhoria das condições de ambiência dos produtores rurais.

A análise de odor foi conduzida de maneira qualitativa, sendo verificada a quantidade de gotas necessária para a minimização do cheiro forte no ambiente em que o produto formulado foi aplicado.

3. Resultados e Discussão

3.1 Determinação da acidez e pH dos compostos naturais

Os resultados provenientes da análise de acidez e determinação do pH dos compostos naturais estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1- Resultados percentuais de acidez dos compostos naturais

Composto natural	Acidez percentual (%)			pH da solução
	1 ^a Determinação	2 ^a Determinação	3 ^a Determinação	
Limão china	6,610	6,670	6,700	2,06
Limão galego	6,090	6,210	6,150	2,23
Limão siciliano	6,300	6,350	6,380	3,25
Limão tahiti	5,890	5,860	5,800	2,04
Leite	0,195	0,179	0,183	6,76
Vinagre	4,110	4,000	4,080	2,71

Fonte: os autores

Conforme pode ser observado na análise da Tabela 1, dentre os compostos naturais avaliados, os limões apresentaram os maiores valores de acidez. Tais resultados estão de acordo com a literatura, uma vez que as frutas cítricas são constituídas, dentre outros componentes, pelo ácido cítrico, sendo que o mesmo pode estar presente em até 7% em massa no suco de limão. Também conhecido como citrato de hidrogênio, constitui-se do ácido mais

utilizado na indústria alimentícia por apresentar propriedades antioxidantes, flavorizantes, sequestrantes e reguladoras de acidez (Scopel *et al.*, 2017).

Ainda na análise da Tabela 1, verifica-se que o leite é o menos ácido dentre todos os compostos analisados, sendo que os resultados estão de acordo ao que é descrito na literatura, já que sua faixa se estende de 0,12% a 0,23%. Como a acidez desse composto está associada com a quantidade percentual de ácido láctico presente na matriz, a pequena elevação observada, quando comparada à literatura, possivelmente está associada à transformação da lactose por enzimas microbianas, que conduz à formação de ácido láctico (Venturini *et al.*, 2007).

Por fim, a acidez volátil do vinagre, a qual corresponde ao teor de ácido acético (componente mais importante do vinagre), está coerente com resultados dispostos na literatura, uma vez que o produto utilizado para consumo está em uma faixa compreendida entre 4% e 6%, sendo que pela legislação brasileira, o seu teor mínimo é de 4% (Rizzon, 2006).

Como as variedades de limões não apresentaram valores similares e a fim de verificar se de fato os mesmos diferiam pela quantidade de ácido cítrico e se pertenciam a grupos distintos, foram empregados simultaneamente: análise de variância e Teste de Tukey, respectivamente em uma análise conduzida com 95% de confiança. Os resultados para a análise de variância estão representados na Tabela 2.

Tabela 2- Análise de variância para análise da acidez dos limões conduzida a 95% de confiança

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Fonte de acidez	3	1,040426	0,346808	147,057	0,0000
Erro	8	0,018867	0,002358		
Total corrigido	11	1,059292			
CV (%)	0,78				
Média geral	6,25083333		Número de observações		12

Fonte: os autores

Os resultados das análises estatísticas (Tabela 2) revelaram que $F > F_{\text{crítico}}$ e que o valor de p é inferior a 0,05, indicando que a acidez analisada entre os limões apresenta diferença significativa, permitindo inferir que todos os limões devem ser analisados nos testes

posteriores. Os resultados para o teste de Tukey no nível de confiança de 95% estão representados na Tabela 3.

Tabela 3- Teste de Tukey (95% de confiança) para análise de acidez nos limões

Tratamento	Média
Limão china	6,66 ^a
Limão galego	6,15 ^c
Limão siciliano	6,34 ^b
Limão Taiti	5,85 ^d

Fonte: os autores

Como a acidez diferiu nas espécies de limão utilizadas (Tabela 3), pode-se presumir que a concentração no meio reacional será distinta quando os mesmos forem adicionados na solução de ureia. Após a determinação da acidez de todos os compostos naturais, foram avaliados como alguns fatores podem influenciar na neutralização do pH da solução de ureia, conforme se segue.

3.2 Influência do volume de gota

Como no metabolismo das proteínas dos mamíferos, a ureia, representada pela fórmula $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ é o principal produto nitrogenado excretado pela urina a mesma foi utilizada nos testes laboratoriais. Os resultados laboratoriais foram conduzidos empregando 100 mL da solução desse reagente.

Os resultados da influência da quantidade de gotas dos compostos naturais necessária para a neutralização do pH são apresentadas na Figura 1.

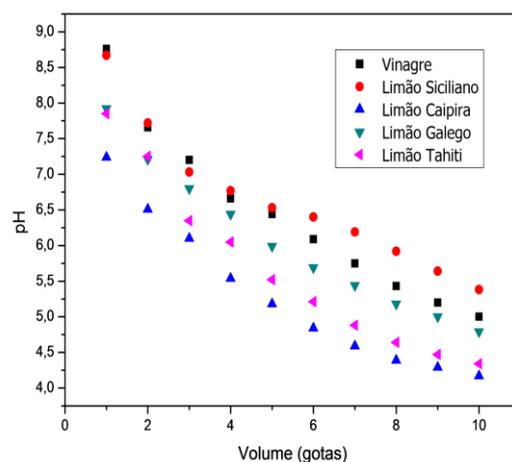


Figura 1- Influência da quantidade gotas para a neutralização do pH da solução de ureia.

Vale salientar que não foram inseridos no gráfico os dados provenientes da utilização de leite visto que foram gastos aproximadamente 50 mL para que o pH se mantivesse em 7,14, sendo observado um lento abaixamento da variável estudada, o que provavelmente se encontra associada à formação de um sistema tamponado (Farmacognosia, 2018).

Para os demais compostos, verifica-se um abaixamento do pH na medida em que os mesmos são adicionados na solução de ureia, o que possivelmente se encontra associado ao fato dos mesmos conterem ácidos em suas composições, que podem interagir e reagir com a solução de ureia.

Como um dos objetivos do trabalho consiste em neutralizar o pH inicial da solução de ureia, foram definidas as quantidades de três gotas para o limão siciliano e de duas gotas para os demais limões utilizados, três gotas para o vinagre e de cinquenta mililitros para o leite.

3.3. Estudo cinético para a avaliação da estabilidade do pH

Os resultados da análise de estabilidade do pH após a adição das substâncias químicas (ácido acético, ácido cítrico e ácido láctico) contidas respectivamente no vinagre, limão e leite estão apresentados na Tabela 4 e Figura 2, respectivamente.

Tabela 4 - Resultados da análise de pH na análise cinética

Tempo (minutos)	Determinação do pH					Leite
	Vinagre	Limão caipira	Limão siciliano	Limão Tahiti	Limão galego	
0	7,02	7,06	6,97	7,39	7,36	7,3

10	7,04	7,3	7,3	7,47	7,43	7,35
20	7,12	7,48	7,23	7,38	7,47	7,31
30	7,26	7,4	7,16	7,52	7,51	7,33
60	7,57	7,63	7,37	7,65	7,63	7,34
10080	7,77	7,86	7,75	7,89	7,98	7,54
Média dos valores de pH						
	7,297	7,455	7,297	7,550	7,563	7,362
Desvio-padrão dos valores de pH						
	0,308	0,251	0,238	0,177	0,223	0,082
Coefficiente de variação (%)						
	4,221	3,367	3,262	2,344	2,949	1,114

Fonte: os autores

A análise dos resultados revela que todas as substâncias químicas adicionadas não modificaram os valores de pH de maneira significativa, visto que os resultados provenientes de tal análise apresentaram baixos valores para o desvio-padrão da média, bem como o valor do coeficiente de variação, sendo que em todos os casos, este parâmetro foi inferior a 5%, o qual pode estar associado a erros experimentais.

Tais resultados permitem inferir que as substâncias adicionadas conferiram ao meio uma adequada estabilidade relacionada com a medida de pH. Verifica-se ainda que o leite apresentou o menor coeficiente de variação, o que permite inferir que o pH do sistema foi mantido praticamente constante, confirmando mais uma vez a formação de uma solução resistente à variação de pH, possivelmente associado a sua composição química (Venturini *et al.*, 2007).

A análise do tempo de contato na determinação do pH é apresentada na Figura 2.

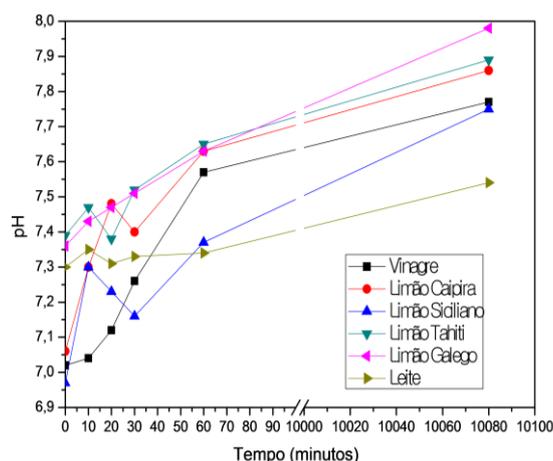


Figura 2- Influência do tempo de contato no pH da solução.

Verifica-se que para todas as substâncias adicionadas, o pH da solução sofreu uma elevação quando foi medido depois de uma semana. Este fato pode estar associado às medições conduzidas em dias distintos e à perda da capacidade tamponante em tempos superiores.

Entretanto, como a variação de pH não excedeu uma unidade, pode-se inferir que os ácidos adicionados apresentam aplicação considerável na manutenção do pH do meio. Do ponto de vista prático, estes resultados são considerados promissores e satisfatórios na medida em que o pH se manteve neutro ou levemente alcalino, não ocasionando problemas ambientais para um possível descarte de rejeitos.

Com os resultados apresentado até o momento optou-se por excluir o limão siciliano pelo fato do mesmo apresentar alto custo, um dos maiores coeficientes de variação, sendo ainda inserida uma maior quantidade de gotas, quando comparado aos demais limões. O leite também foi excluído por apresentar um sistema tamponado e necessitar de um volume expressivo do mesmo para a reação de neutralização da solução de ureia. E por fim o vinagre foi excluído por apresentar odor desagradável e irritante, além de possuir o maior coeficiente de variação nos testes conduzidos na análise cinética.

3.4 Delineamento experimental destinado à neutralização do pH

A fim de verificar as condições ideais de otimização para a neutralização do pH, os ensaios foram conduzidos empregando-se limão caipira, limão tahiti e limão galego, cujos resultados obtidos são descritos na Tabela 5.

Tabela 5- Matriz contendo os resultados para o teste de neutralização da solução de ureia.

Ensaio	Volume de gota de limão caipira	Volume de gota de limão Tahiti	Volume de gota de limão galego	pH
1	0	0	0	8,50
2	0	0	2	6,92
3	0	2	0	6,59
4	0	2	2	6,15
5	2	0	0	6,68
6	2	0	2	6,02
7	2	2	0	5,60
8	2	2	2	5,42
9	1	1	1	6,47
10	1	1	1	6,38
11	1	1	1	6,27

Fonte: os autores

Os resultados apresentados nas condições descritas no delineamento experimental revelaram a diminuição do pH quando foram adicionadas gotas dos limões analisados, o que possivelmente se encontra associado com a reação de neutralização da ureia, reagente de caráter básico. Foi estudada teoricamente como ocorre a interação dos ácidos cítrico, acético e láctico com a molécula de ureia. Inicialmente foram testadas diferentes possibilidades de interação entre as moléculas dos ácidos com o reagente básico empregado.

Para todas as interações estudadas, a mais efetiva e que será discutida na Figura 3 ocorre entre o grupo- COOH dos ácidos e o grupo -CONH₂ da ureia.

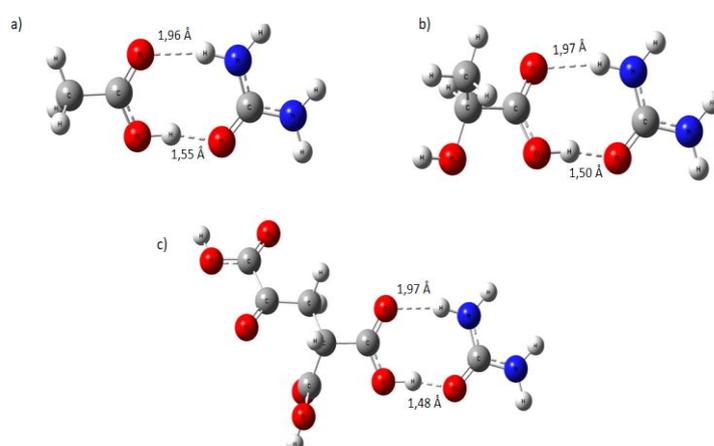


Figura 3- Distâncias calculadas (em Å) para a interação mais provável da molécula de ureia com os ácidos: a) acético; b) láctico e c) cítrico.

Os dados descritos na Figura 3 evidenciam que os comprimentos de interação entre os ácidos e a ureia são muito próximos, sendo que o ácido acético foi o que apresentou a maior distância entre o átomo de hidrogênio da carboxila do ácido e o oxigênio da carbonila da ureia (1,55 Å) seguido do ácido láctico (1,50 Å) e por fim o cítrico (1,48 Å).

Para avaliar a magnitude da interação foi calculada a energia de interação eletrônica (E_{int}), conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6- Energias de Interação eletrônica (E_{int}) a 0 Kelvin para os complexos. Os valores foram obtidos em fase aquosa com o nível de teoria M06-2X/avg-cc-pVTZ.

Complexos	E_{int} (kcal mol ⁻¹)
ácido acético – ureia	-8,90
ácido láctico - ureia	-9,59
ácido cítrico – ureia	-10,04

Fonte: os autores

Os valores da E_{int} evidenciam que interação da ureia com os ácidos segue a ordem: ácido cítrico > ácido láctico > ácido acético. Pode-se ainda verificar pequenas variações nos valores de E_{int} , o que possivelmente se encontra associado ao mesmo sítio de interação que foi analisado. Vale ainda ressaltar que os resultados descritos ratificam os obtidos experimentalmente, justificando a exclusão do leite e do vinagre nas análises posteriores.

Os valores negativos das energias encontradas indicam que a interação entre os ácidos e a ureia é efetiva, justificando a inserção dos mesmos para uma possível projeção de tratamento de resíduos provenientes de instalações zootécnicas.

3.5 Aplicação do gráfico de Pareto para análise do efeito das variáveis

Diante dos resultados experimentais obtidos, os quais foram comprovados pelos descritos por ferramentas computacionais, foram avaliadas a influência da quantidade de gotas dos limões caipira, tahiti e galego e suas interações na neutralização do pH. Nesse contexto, o gráfico de Pareto (Nunes *et al.*, 2009) foi utilizado e os resultados dessa análise são apresentados na Figura 4.

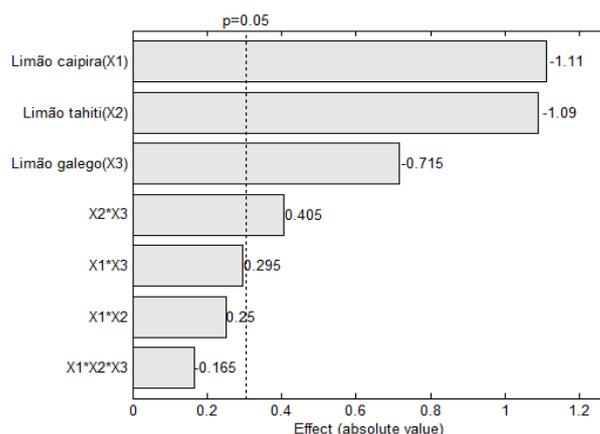


Figura 4- Gráfico de Pareto para a análise das variáveis e de suas interações para a neutralização do pH da solução de ureia

Os resultados apresentados revelaram que as três variáveis analisadas apresentaram significância no teste conduzido com 95% de confiança, que as gotas de limão adicionadas foram satisfatórias para a minimização do pH e que dentre as interações possíveis, apenas a existente entre as gotas dos limões tahiti e galego foi significativa, o que pode ser explicado pelo fato dos valores de pH serem similares no início do experimento quimiométrico, sendo de respectivamente, 2,41 e 2,42.

A análise de regressão para o modelo de interação é apresentado na Tabela 7.

Tabela 7- Análise de regressão para o modelo de interação.

	Desvio-padrão	Grau de liberdade	Variância estimada	F	p
Regressão	6,1909	4	1,5477	23,1711	$8,5802 \times 10^{-4}$
Residual	0,4008	6	0,0668		
Falta de ajuste	0,3807	4	0,0952	9,4860	0,0976
Erro puro	0,0201	2	0,0100		
Total	6,5917	10			
r^2	0,9392				
r^2 explicado	0,9970				

Fonte: os autores

Diante dos modelos de regressão aos quais os dados podem ser ajustados, verifica-se pela análise da Tabela 7 que o de interação foi o mais adequado para se explicar o processo de neutralização da base pela adição do ácido proveniente de compostos naturais.

Tal fenômeno pode ser observado pela análise da qualidade do ajuste para a superfície de resposta verificada pelo resultado de variância, o qual indicou que a regressão foi significativa para o modelo de interação, uma vez que o valor do coeficiente de correlação (r^2) foi de 0,9392 considerando os valores de b significativos. O valor de p correspondente a $8,5802 \times 10^{-4}$ valida a utilização desse modelo para se estudar o efeito das gotas de limão adicionadas na reação de neutralização da solução de ureia.

De acordo com os valores de pH significativos, o pH final da solução de uréia pode ser escrito em função dos volumes de gotas adicionadas pela equação 3:

$$y=8,3870-0,8275X_1-0,8725X_2-0,7025X_3+0,2025X_2X_3 \quad (3)$$

Na Figura 5 é apresentada a análise bidimensional para a interação que foi significativa no teste conduzido com 95% de confiança.

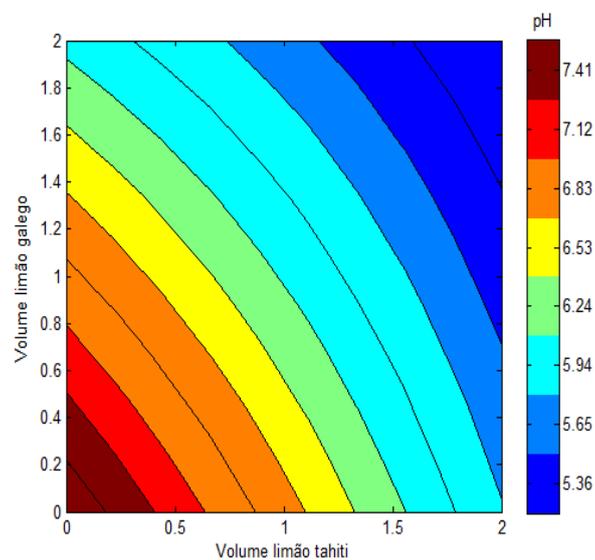


Figura 5- Gráfico bidimensional para a interação significativa para a determinação do pH da solução.

A análise do gráfico bidimensional revela que o aumento do volume dos limões empregados (quantidade de gotas dos limões avaliados) reduz o pH da solução inicial de

ureia, chegando a valores de pH na escala ácida para as misturas com quantidades superiores a 50% de cada um dos limões estudados.

De acordo com a análise desse gráfico e com a equação apresentada para o pH da solução de ureia (equação 3), definiu-se como a condição mais ideal o experimento delineado pelo ensaio 2, no qual foram adicionadas 2 gotas do limão galego, sendo que experimentalmente o valor obtido da solução de ureia foi de 6,92, enquanto que o modelo previsto pelo modelo é correspondente a 6,97.

3.6 Desenvolvimento de um produto para ser aplicado nas instalações zootécnicas empregando reagentes laboratoriais

Uma das grandes vantagens da urina consiste da sua fácil coleta e frente a viabilidade de se trabalhar com esse tipo de fluido, foram realizados testes com amostras reais de urina de ruminantes em uma fazenda localizada na região onde foi desenvolvido o projeto.

Vale ressaltar que para fins comerciais e produção em larga escala é mais viável quando são utilizados reagentes. Nesse sentido, levando em consideração as análises realizadas até o momento foi preparada uma solução de ácido cítrico na concentração de 63,44 g L⁻¹, sendo que a mesma foi adicionada a 50 mL de urina e os resultados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8- Resultados provenientes da inserção de solução de ácido cítrico na urina: aplicação em amostra real.

pH da solução de ácido cítrico	1,93
pH da urina	8,48
pH após a inserção da solução de ácido cítrico (aproximadamente 3,9 mL)	7,00

Fonte: os autores

Os resultados descritos na Tabela 8 evidenciam que a ureia está sendo degradada em amônio, uma vez que de acordo com abordagens relatadas na literatura esse processo ocorre por bactérias ruminantes da urina quando o pH desse fluido é superior a 7,3.

De acordo com a literatura, o pH urinário de ruminantes é variável entre 5,5 e 8. Entretanto, o pH observado no presente trabalho é superior o que pode ser explicado pela hora da coleta, esta que foi realizada com a primeira urina da manhã e em jejum.

Ainda na análise da Tabela 8 é observado que o volume necessário à neutralização em amostra real foi superior aos testes conduzidos em bancada, o que se mostra justificável pelo fato da urina da vaca ser composta por: água, sais, ácido úrico e ureia (Angonese *et al.*, 2007). Abordagens disponíveis na literatura evidenciam que o ácido úrico apresenta uma forte interação com o ácido cítrico, impedindo o abaixamento instantâneo do pH quando a solução do referido ácido foi adicionada.

Neste contexto também foi avaliado teoricamente a interação do ácido cítrico com o ácido úrico. Diversas hipóteses de interações foram avaliadas conforme descrito na Figura 6.

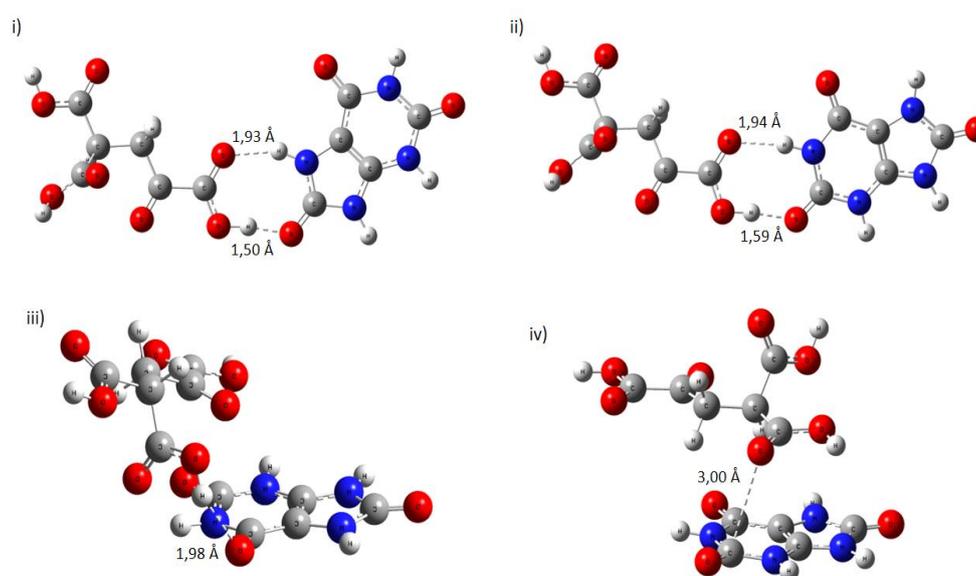


Figura 6- Interações e distâncias de ligações calculadas (em Å) para as diferentes hipóteses de interação entre o ácido cítrico e o ácido úrico (i, ii, iii e iv).

Pelos resultados das otimizações descritos na Figura 6 (hipóteses i, ii e iii) é possível observar que houve interação entre os átomos de hidrogênio e de oxigênio dos ácidos, enquanto que para a hipótese iv, é evidenciada a interação da molécula de ácido cítrico sobre os anéis da molécula de ácido úrico. Os valores de energias de interação para todas as hipóteses foram calculados e são apresentados na Tabela 9. Os resultados das energia de interação é uma propriedade importante por permite mensurar a força de interação entre as substâncias químicas.

Tabela 9- Energias de Interação eletrônica (E_{int}) a 0 Kelvin para os complexos. Os valores foram obtidos em fase aquosa com o nível de teoria M06-2X/aug-cc-pVTZ.

Complexos	E_{int} (kcal mol ⁻¹)
-----------	-------------------------------------

ácido cítrico – ácido úrico (Hipótese i)	-8,75
ácido cítrico – ácido úrico (Hipótese ii)	-8,63
ácido cítrico – ácido úrico (Hipótese iii)	-9,61
ácido cítrico – ácido úrico (Hipótese iv)	-7,43

Fonte: os autores

Observa-se que as interações possuem valores de E_{int} que se estendem na faixa de -9,61 a -7,43 kcal mol⁻¹, indicando que todas as interações ocorrem, conforme pressupostos descritos nos resultados experimentais.

Comparando os valores da E_{int} do ácido cítrico-ureia (-10,04 kcal mol⁻¹) com os encontrados para as interações entre o ácido cítrico e o ácido úrico, é possível inferir que o ácido úrico também interage, o que faz com que a quantidade de gotas do ácido cítrico adicionado seja superior quando se trabalha com a amostra de urina, confirmando os resultados experimentais que foram obtidos anteriormente.

3.7 Utilização de limões e essência de capim-limão para a obtenção do produto

Foi verificado que o teste de odor indicou que o mesmo ainda não era adequado para a exposição de trabalhadores em setores zootécnicos. Diante de tal situação, optou-se por utilizar os limões nos testes reais, sendo acrescentada a essência de capim-limão, com a finalidade de manter o pH adequado e melhorar as condições de ambiência. Também se optou por trabalhar nesta etapa com todos os limões que foram analisados por ferramentas quimiométricas, visto que a adição dos mesmos reduziu o pH da solução de ureia.

Nesse caso, para os respectivos limões: caipira, tahiti e galego foram necessárias para a neutralização do pH de 50 mL de urina as quantidades de 50 gotas, 47 gotas e 45 gotas. Os resultados da análise cinética dos limões com a adição de três gotas de essência de capim-limão são apresentados na Figura 7.

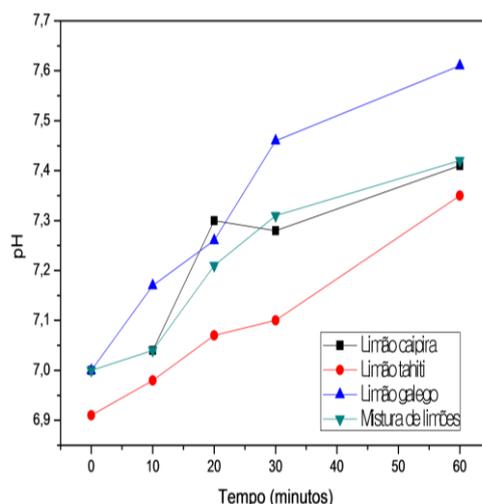


Figura 7- Análise cinética do pH da urina bovina após a adição de gotas dos limões estudados.

Na análise da Figura 7 é possível avaliar a estabilidade cinética após a adição das gotas dos limões que foram selecionados e a mistura dos mesmos, sendo possível verificar que os resultados se mostram promissores na medida em que a diferença entre os valores de pH inicial e final se diferem em menos de uma unidade.

Entretanto, como graficamente é inadequado avaliar os resultados que são mais promissores para a continuação do trabalho, a partir dos resultados apresentados na Figura 7, foi conduzida uma análise estatística para posteriormente fazer uma projeção do tratamento de resíduos. Os resultados são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10- Resultados da análise cinética de pH em urina real utilizando a os limões: caipira, tahiti e galego e sua mistura.

Tempo (minutos)	Determinação do pH			
	Limão caipira	Limão tahiti	Limão galego	Mistura de limões
0	7,00	6,91	7,00	7,00
10	7,04	6,98	7,17	7,04
20	7,30	7,07	7,26	7,21
30	7,28	7,10	7,46	7,31
60	7,41	7,35	7,61	7,42
Média dos valores de pH				
	7,28	7,07	7,26	7,21

Desvio-padrão dos valores de pH			
0,178	0,177	0,168	0,240
Coefficiente de variação (%)			
2,445	2,504	2,314	3,329

Fonte: os autores

A análise da Tabela 10 indica que os resultados são satisfatórios e adequados na medida em que se observa pequenos valores de desvio-padrão e coeficientes de variação inferiores a 5% em todos os sistemas analisados, indicando que os mesmos podem ser adequados para posterior aplicação.

Apesar de o limão Tahiti apresentar o segundo maior coeficiente de variação, observa-se que quando foi utilizado este limão, o pH se manteve próximo de 7 em até 30 minutos, o que o torna adequado para a neutralização e possível tratamento de resíduos provenientes de instalações zootécnicas e fazendas de confinamento animal. É importante destacar que o limão Tahiti não é um tipo de planta exigente de solo, é uma das espécies cítricas de maior importância comercial e é considerado o mais popular no país, além de ser encontrado em todas as épocas do ano (Embrapa, 1998).

A análise da Tabela 10 ainda evidencia que o limão galego que foi o que apresentou menor coeficiente de variação e que a mistura dos três limões não foi satisfatória na minimização do odor, sendo descartada essa possibilidade para a possível aplicação em setores nos quais há presença da urina bovina.

Além da análise de pH, foi conduzido um teste de odor, no modo qualitativo, sendo avaliada a influência da quantidade da essência de capim-limão adicionada na minimização do cheiro desagradável e possível melhoria na qualidade de vida dos trabalhadores expostos a esse fluido animal, sendo verificado experimentalmente que a adição de três gotas da essência sobressaiu ao cheiro forte da urina e não modificou o pH do sistema analisado.

Diante dos resultados apresentados, pode-se presumir que as quantidades ideais e definidas para a elaboração do produto destinado ao tratamento de resíduos de instalações zootécnicas e aplicações em fazendas de confinamento animal seriam de três gotas da essência e quarenta e sete gotas do limão Tahiti.

4. Considerações Finais

Nas fazendas nas quais acontece o confinamento de animais é imprescindível minimizar os impactos ambientais e à saúde humana que os resíduos podem gerar o que fez com que este trabalho se tornasse de fundamental importância para se otimizar condições de tratamento e obtenção de um produto destinado à neutralização do pH e minimização do odor da urina.

A utilização dos ácidos provenientes de compostos naturais permitiu reduzir o pH da amostra, o que possivelmente bloqueará a ação da uréase, que transforma a ureia em amônio e amônia. O Vale salientar que os testes laboratoriais foram conduzidos primeiramente ao nível de bancada pelo fato de envolver volumes menores do que os resíduos gerados, sendo observado que os mesmos se mostraram satisfatórios na medida em que evidenciaram que as ferramentas quimiométricas empregadas foram úteis para a projeção de tratamentos das amostras reais, as quais são provenientes dos resíduos de instalações zootécnicas.

As ferramentas computacionais utilizadas permitiram compreender a nível molecular as interações entre os componentes utilizados e evidenciaram que o ácido cítrico interage tanto com a ureia quanto com o ácido úrico validando a pesquisa e justificando os resultados experimentais encontrados. Diante dos resultados apresentados, verificou-se que o trabalho apresentou caráter inovador na medida em que propôs uma aliança entre química e sociedade em prol do âmbito de desenvolvimento sustentável.

Para aplicações futuras, sugere-se que o produto final obtido seja aplicado em outras fazendas e setores zootécnicos, buscando-se avaliar qualitativamente as mudanças nas condições de ambiência e da vida do trabalhador exposto.

Agradecimentos

Ana Carolyne Reis Faria, Luís Eduardo Reis Faria e Priscila Ferreira de Sales agradecem ao Instituto Federal de Minas Gerais- Campus Bambuí pela possibilidade de desenvolvimento do trabalho e à Coordenadoria de Extensão do Campus pela concessão da bolsa de extensão. Douglas Henrique Pereira agradece ao Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho (CENAPAD), em São Paulo, UNICAMP (Universidade Estadual de Campinas) e à FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - Centro de Engenharia e Ciências da Computação, Grant 2013/08293-7 e Grant 2017/11485-6) pelos recursos computacionais.

Referências

Alves MV, Baretta D, Cardoso EJBN (2006). Fauna edáfica em diferentes sistemas de cultivo no estado de São Paulo. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 5(33). <http://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/5376>

Andreazzi MA, Santos JMG, Lazaretti RMJ (2015). Destinação dos resíduos da suinocultura em granjas das regiões noroeste e sudoeste do Paraná. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, 19. <https://periodicos.ufsm.br/reget/article/viewFile/17911/pdf>

Angonese AR, Campos AT, Welter RA. (2007). Potencial de redução de emissão de equivalente de carbono de uma unidade suinícola com biodigestor. *Engenharia Agrícola*, 27. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69162007000400007

Bertocini EI. (2008). Tratamento de Efluentes e reuso da água no meio agrícola. *Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária*, 29. <http://www.apta.sp.gov.br>. Acesso em: 01 abril 2020.

Coelho YS, Cunha Sobrinho AP, Magalhães AFJ, Passos OS, Nascimento AS, Santos Filho HP & Soares Filho WS.(1998). *Limão-taiti*. 2.ed. Brasília: Embrapa. [https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=643585&biblioteca=CPAC&busca=autoria:"CUNHA%20SOBRINHO,%20A.%20P.%20da"&qFacets=autoria:"CUNHA%20SOBRINHO,%20A.%20P.%20da"&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1](https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=643585&biblioteca=CPAC&busca=autoria:)

Cunha DGF, Calijuri MC, Lamparelli MC, Júnior NM (2013). Resolução CONAMA 35/2005: Análise espacial e temporal de não conformidades em rios e reservatórios do estado de São Paulo de acordo com seus enquadramentos. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v.18. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1413-41522013000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=pt

Dunning Jr TH. (1989). Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations I. The atoms boron through neon and hydrogen. *The Journal of Chemical Physics*, 90. <https://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.456153>

Faria CHR, Faria ACR, Junior HS, Costa CRS (2016). Análise ergonômica no processo de ordenha mecânica do setor de bovinos de um instituto de ensino superior do centro Oeste Mineiro. (36): 1-13, João Pessoa, Paraíba. <http://brjd.com.br/index.php/BJB/article/view/2968>

Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; G.; Scalmani, V.; Barone, B.; Mennucci, G.; Petersson, H.; Nakatsuji, M.; Caricato, X.; LI, H.P. Hratchian, A.F.; Izmaylov, J.; Bloino, G.; Zheng, J.L. ; Sonnenberg, M. ; Hada, M.; Ehara, K.; Toyota, R.; Fukuda, J. ; Hasegawa, M.; Ishida, T.; Nakajima, Y.; Honda, O. ; Kitao, H.; Nakai, T.; Vreven, J.A.; Montgomery, J.E.; Peralta, F.; Ogliaro, M.; Bearpark, J.J.; Heyd, B.E.K.N.; Kudin, V.N.; Staroverov, R.; Kobayashi, J.; Normand, K.; Raghavachari, A.; Rendell, J.C.; Burant, S.S.; Iyengar, J.; Tomasi, M.; Cossi, N. ; REGA, J.M. ; Millam, M.; Klene, J.E.; Knox, J.B.; Cross, V.; Bakken, C. ; Adamo, J. ; Jaramillo, R. ; Gomperts, R.E.; Stratmann, O. ; Yazyev, A.J. ; Austin, R. Cammi, C.; Pomelli, J.W.; Ochterski, R.L.; Martin, K.; Morokuma, V.J.; Zakrzewski, G.A.; Voth, P. Salvador, J.J.; Dannenberg, S.; Dapprich, A.D.; Daniels, O. ; Farkas, J.B.; Foresman, J.V.; Ortiz, J. Cioslowski, D.J.; Fox, D. 0109, REVISION D. 01, GAUSSIAN, INC., WALLINGFORD, CT

González FHD. (2009) Ferramentas de diagnóstico e monitoramento de doenças metabólicas. *Ciência Animal Brasileira*, 1. <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/7662>.

Jones EKM, Wathes CM, Webster AJF (2005). *Applied Animal Behaviour Science*. cap. 3. Bristol : Elsevier.

Marenich AV, Cramer CJ, Truhlar DG. (2009). Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 113. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jp810292n>

Meneguzzo, J & Rizzon L (2019). Sistema de produção de vinagre. *Sistemas de Produção (Embrapa Uva e Vinho)*, Bento Gonçalves. <http://www.cnpuv.embrapa.br/pulica/sprod/Vinagre>

Nunes, C.A.; Freitas, M.P.; Pinheiro, A.C.M.; Bastos, S.C. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. (2012). Journal of Brazilian Chemical Society, 23, http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532012001100007

Ortolani E (2002). Resumos do 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Gramado, Brasil.

Pereira AS, Shitsuka DM, Parreira FJ & Shitsuka R (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Rizzon L A. (2006) Sistema de produção de Vinagre. EMBRAPA Uva e Vinho. Sistema de Produção, 13.

Scopel E, Conti PP, Dalmaschio CJ, Silveira VC (2017). Extração de Ácido Cítrico do Limão e sua Utilização para a Remoção da Dureza da Água: Um Método Alternativo para Aulas de Química. Revista Virtual de Química, 9. <http://rvq-sub.sbg.org.br/index.php/rvq/article/view/1857>

Silva EM, R. Roston DM (2010). Tratamento de efluentes de sala de ordenha de bovinocultura: lagoas de estabilização seguidas de leite cultivado. Scielo,30 (67). <http://www.scielo.br/pdf/eagri/v30n1/a07v30n1.pdf>

Sítio da Revista Super Gentil. (20017). Conheça os tipos de limões e as diferenças de cada um. www.supergentil.com.br/blog/2017/12/conheca-os-tipos-de-limoes-e-as-diferencas-de-cada-um/. Acesso em 01 março 2020.

Super Gentil. (2017). Conheça os tipos de limões e as diferenças de cada um. Sítio da Revista Super Gentil. www.supergentil.com.br/blog/2017/12/conheca-os-tipos-de-limoes-e-as-diferencas-de-cada-um/. Acesso em 01 março 2020.

SBFgnosia. (2018). Química do Leite. Sítio da Sociedade Brasileira de Farmacognosia. www.sbfgnosia.org.br/Ensino/quimica_do_leite.html. Acesso em 01 março 2020.

JB. (2014). Amônia um risco para a saúde. Sítio do JORNAL DO BRASIL. <http://www.jb.com.br/ciencia-e-tecnologia/noticias/2014/01/17/amonia-um-risco-para-a-saude/>. Acesso em 01 março 2020.

MP. (2020). Síntese e composição do leite. Sítio do MILK POINT. <https://www.milkpoint.com.br>. Acesso em: 5 abril 2020.

Venturini KS, Sarcinelli MF, Silva LC. (2007). Características do Leite. Boletim Técnico da UFES, v.1, 2007. http://agais.com/telomc/b01007_caracteristicas_leite.pdf

Sperling MV (1996). Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 2. ed. Belo Horizonte: Segrac.

Zhao H, Truhlar DG (2008). The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals, Theoretical Chemistry Acc. 120: 215. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00214-007-0310-x>
mil

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Ana Carolyne Reis Faria – 25%

Luis Eduardo Reis Faria – 25%

Priscila Ferreira Sales – 25%

Douglas Henrique Pereira – 25%