

**MONITORAMENTO DA MICROBIOTA E
DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EM
VINHOTO**

CÁSSIA ROBERTA CAMPOS

2009

CÁSSIA ROBERTA CAMPOS

**MONITORAMENTO DA MICROBIOTA E DOS PARÂMETROS
FÍSICO-QUÍMICOS EM VINHOTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientadora

Profa. Dra. Rosane Freitas Schwan

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Campos, Cássia Roberta.

Monitoramento da microbiota e dos parâmetros físico-químicos
em vinhoto / Cássia Roberta Campos. – Lavras : UFLA, 2009.
97 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.
Orientador: Rosane Freitas Schwan.
Bibliografia.

1. Microbiota. 2. Poluição. 3. Identificação de leveduras. 4.
Identificação de bactérias. 5. Microbiologia ambiental. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 576.16

CÁSSIA ROBERTA CAMPOS

**MONITORAMENTO DA MICROBIOTA E DOS PARÂMETROS
FÍSICO-QUÍMICOS EM VINHOTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, área de concentração em Microbiologia Agrícola, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 30 de dezembro de 2009.

Profa.Dra. Kátia Regina F. Schwan Estrada	UEM
Profa. Dra. Cristina Ferreira Silva	UFLA
Prof. Dr. Romildo da Silva	UFLA
Prof. Dr. Disney Ribeiro Dias	UNILAVRAS

Profa. Dra. Rosane Freitas Schwan
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL.....	i
ABSTRACT GERAL.....	ii
CAPÍTULO 1: Monitoramento da microbiota e dos parâmetros físico-químicos em vinhoto.....	
1 Introdução.....	1
2 Revisão de literatura.....	3
2.1 Vinhoto resultante do processamento da cana-de-açúcar.....	3
2.2 Parâmetros físico-químicos.....	6
2.3 Legislação ambiental – referente ao vinhoto.....	10
2.4 Tratamento de águas residuais.....	11
2.5 Biodegradabilidade do vinhoto.....	15
2.6 Comunidades microbianas.....	17
3 Referências Bibliográficas.....	21
CAPÍTULO 2: Vinhoto armazenado em tanque: avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos.....	28
1 Resumo	29
2 Abstract.....	30
3 Introdução	31
4 Materiais e métodos.....	33
4.1 Obtenção das amostras.....	33
4.2 Análises físico-químicas.....	34
4.3 Análises microbiológicas.....	35
4.4 Identificação e caracterização da microbiana por métodos tradicionais	36
4.4.1 Bactéria.....	36
4.4.2 Levedura.....	36
4.4.3 Fungos Filamentosos.....	36
4.5 Análise de toxicidade.....	36

5 Resultados e discussão.....	37
5.1 Avaliação dos parâmetros físico-químicos.....	37
5.2 Avaliação da diversidade microbiana.....	43
6 Conclusões.....	50
7 Referências bibliográficas.....	51
CAPÍTULO 3 Vinhoto: Monitoramento de parâmetros físico-químicos e microbiológicos nas etapas de neutralização de impacto ambiental.....	
1 Resumo	55
2 Abstract.....	56
3 Introdução.....	57
4 Materiais e métodos.....	60
4.1 Quantidade de vinhoto a ser tratado.....	60
4.2 Etapas do tratamento do vinhoto.....	60
4.3 Obtenção do lodo ativado.....	66
4.4 Análises físico-químicas.....	66
4.5 Análise microbiológica.....	66
4.6 Análise de toxicidade.....	67
5 Resultados e discussão.....	68
5.1 Resultados dos quatro tratamentos.....	68
5.1.1 Tratamento I.....	68
5.1.2 Tratamento II.....	74
5.1.3 Tratamento III.....	78
5.1.4 Tratamento IV.....	82
5.2 Comparação dos parâmetros físico-químicos avaliados nos quatro tratamentos.....	89
6 Conclusões.....	92
7 Pesquisas futuras: Otimização do tratamento.....	93
8 Referências Bibliográficas.....	94

RESUMO GERAL

CAMPOS, Cássia Roberta. **Monitoramento da microbiota e dos parâmetros físico-químicos em vinhoto**. 2009. 97 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal Lavras, Lavras.*

As atividades agroindustriais são responsáveis pela geração de grande quantidade de resíduos líquidos. Na produção de cachaça, a produção de vinhoto é de cerca de 4 vezes mais elevada que a produção da bebida. Tanques para deposição de vinhoto são construídos pelos produtores para receberem o resíduo resultante do processo industrial, durante a safra, o qual precisará de ser processado. Avaliando a autodepuração do vinhoto por meio de microrganismos com capacidade de crescerem naturalmente nesse substrato, como também a avaliação do impacto ambiental causado pelo vinhoto por meio de análises físico-químicas e toxicológicas, aplica-se este trabalho. Foi utilizado vinhoto armazenado em condições ambientais semelhantes às encontradas nas cachaçarias e quatro diferentes tipos de tratamento físico-químico e microbiológico. No vinhoto armazenado em tanque, as bactérias foram agrupadas segundo os resultados de coloração de Gram, motilidade, esporulação e morfologia celular. Dos isolados bacterianos caracterizados, a maioria foi bastonetes, Gram-positivos. Dentre os fungos foram identificadas 15 leveduras e 04 fungos filamentosos. Após 12 meses de armazenamento, houve redução de 94,8% na toxicidade do vinhoto armazenado e 98,6% no vinhoto tratado. Nos tratamentos, houve redução da população microbiana de aproximadamente 7 ciclos log. Após a realização dos tratamentos, o tratamento IV (fermentação lenta e tumultuosa, formação de flocos químicos, diminuição do poder corrosivo, clareamento e desinfecção) foi o mais eficaz na redução dos parâmetros físico-químicos. Pode-se observar que o processo de armazenamento não é suficiente para promover a autodepuração do vinhoto nesse período, o vinhoto não pode ser descartado em corpos d'água. Nesse contexto, o vinhoto deve passar por tratamento que vise a diminuir seu potencial efeito impactante ao ambiente. Sendo necessário um aprimoramento das etapas do tratamento IV.

* Comitê Orientador: Rosane Freitas Schwan – UFLA (Orientadora), Romildo da Silva – UFLA

GENERAL ABSTRACT

CAMPOS, Cássia Roberta. **Monitoring of microbiota and physicochemical parameters in vinasse**. 2009. 97 p. Thesis. (Ph.D. in Agricultural Microbiology) – Federal University of Lavras, Lavras.*

The agro-industrial activities are responsible for generating large amounts of liquid waste. In the production of cachaça, the production of vinasse is about 4 times higher than the production of the spirit. Usually, tanks for deposition of vinasse are constructed by the producers to receive the residue from the manufacturing process. The main aim of this work was to assess the self-purification of vinasse by micro-organisms capable of growing naturally on the substrate, and also evaluate the physical-chemical and toxicological changes and the environmental impact caused by vinasse. It was used vinasse stored in environmental conditions similar to those found in cachaça industries and applied four different types of physical-chemical and microbiological treatments. The bacteria isolated were grouped according to Gram stain, motility, sporulation and cell morphology. The great majority of the bacterial isolates were rods Gram-positive. Among the fungi it was identified 15 yeast and 04 filamentous fungi species. It was observed a reduction of 94.8% in the toxicity of vinasse stored after 12 months of storage, and reduction of 98.6% in the treated vinasse. The reduction of the microbial population was approximately of 7 log cycles. The IV treatment (slow and tumultuous fermentation, chemical floc formation, decreased corrosiveness, disinfection and bleaching) was the most effective treatment in reducing the physical and chemical parameters. It could be observed that the storage process was not sufficient to promote self-purification of vinasse after 6 months; the vinasse residue must not be dropped in rivers or soils. In this context, the vinasse should undergo treatment aimed to reduce its potentially impacting the environment. Improvements are needed in the stages of treatment IV.

* Guidance Committee: Rosane Freitas Schwan – UFLA (Advisor), Romildo da Silva – UFLA

CAPÍTULO 1

MONITORAMENTO DA MICROBIOTA E DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EM VINHOTO

1 INTRODUÇÃO

As atividades agroindustriais geram grande quantidade de resíduos. Nas cachaçarias, o resíduo líquido resultante do processo é chamado de vinhoto.

As etapas da produção de cachaça envolvem corte de cana-de-açúcar, moagem, diluição do caldo, fermentação e destilação. Do processo de destilação resultará o produto final – cachaça – e ficará retido na panela do alambique um resíduo líquido – o vinhoto.

O vinhoto é caracterizado por um odor forte, baixo valor de pH, altos valores de DQO (demanda química de oxigênio), DBO (demanda bioquímica de oxigênio), coloração marrom escuro, composto por macro e micronutrientes.

Atualmente, há um grande número de indústrias de cachaça operando de forma direta e indireta. A maioria dos produtores operam de forma indireta, não sendo cadastros ao Ministério da Agricultura, sendo isentos de fiscalização. Uma outra parcela de produtores são cadastrados e seguem as normas exigidas pelos órgãos ambientais.

De acordo com a Portaria Minter nº 323, de 29 de novembro de 1978, o lançamento de vinhoto em mananciais hídricos é proibido, porém como não são fiscalizados, alguns produtores o lançam em rios ou o utilizam para adubação do canavial. Vale ressaltar que nos primeiros anos de adubação, o vinhoto aumenta a fertilidade do solo, porém, com o passar dos anos, causará um desequilíbrio entre os nutrientes do solo causando a esterilidade do mesmo. Quando lançado em água, em razão dos altos valores de DQO e DBO, causam grande impacto ambiental sobre a fauna e flora aquática.

Produtores de cachaça cadastrados ao Ministério da Agricultura, como em todo processo industrial, têm a obrigatoriedade de dar um destino ao resíduo produzido. Portanto, constroem tanques para captação do vinhoto. Durante a

safra, o vinhoto é armazenado e quando atinge o volume total do tanque, surge um questionamento: “O que fazer agora com o vinhoto armazenado?”

Esse questionamento se deve ao fato de que, na próxima safra, o tanque deverá ter a mesma finalidade, receber o vinhoto produzido. Nesse contexto, surge a necessidade de avaliar se dentro da entresafra, ou mesmo durante a safra o vinhoto tem a capacidade de autodepuração, ou necessitará de tratamentos físico-químicos e microbiológicos para ser descartado ao ambiente ou reutilizado na própria indústria.

Portanto, este trabalho visa a isolar e identificar a microbiota presente nos tanques de decantação de vinhoto por métodos tradicionais e avaliar os impactos ambientais por meio de métodos físico-químicos e toxicológicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Vinhoto resultante do processamento da cana-de-açúcar

Uma das bases mais importantes da economia brasileira, segundo Soccol & Vandenberghe (2003) é a agricultura que apresenta como uma de suas produtividades a cana-de-açúcar que contribui para o desenvolvimento da economia. No entanto, esta produção é responsável pela geração de grande quantidade de resíduos que causam problemas ambientais.

Vários setores da produção industrial têm voltado sua atenção para problemas ambientais e ecológicos por meio de fatores como a avaliação do fluxo de produtos, a identificação de pontos críticos do processamento que envolve problemas ambientais, a busca de soluções que podem neutralizar os subprodutos ou resíduos como materiais secundários, o decréscimo ou eliminação de processamento que são não-compatíveis, a otimização da utilização de energia e água, o controle da emissão gasosa e resíduos sólidos/líquidos e o estudo de tecnologia alternativa que contribuem com o ambiente, (Vaccari et al., 2005). O Brasil é um país agroindustrial, com potencial biotecnológico para a reutilização de resíduos agroindustriais e agregação de valor aos agroprodutos (Lara et al., 2005).

Tanto as bebidas alcoólicas, quanto as destilarias de álcool combustível geram um volume elevado de vinhoto crescente e causador de impactos ambientais. Resíduos de atividades agroindustriais, nesse contexto, podem ser utilizados com benefícios mútuos, tanto em nível ambiental quanto econômico. De acordo com Dawson & Boopathy (2006), esses resíduos são fontes renováveis que podem ser utilizadas para a produção de etanol e outros produtos adicionais.

O vinhoto é um resíduo líquido, resultante do processo de destilação do fermentado de caldo de cana-de-açúcar, proveniente de destilarias de álcool e bebidas alcoólicas como aguardente, cachaça e rum (Ohgren et al., 2006). Na produção de cachaça, a produção de vinhoto é de cerca de 4 litros por litro de cachaça e, segundo Cardoso (2001), o vinhoto é gerado na proporção de 15 a 17% do caldo trabalhado. Basicamente, em função da sua riqueza em matéria orgânica, apresenta elevado índice de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), caracterizando-se como poluente quando descartado na água.

A DBO indica o valor da poluição produzida por material orgânico oxidável biologicamente, e corresponde à quantidade de oxigênio que é consumida pelos microrganismos na oxidação biológica. Essa demanda pode consumir todo o oxigênio da água, condicionando a morte de todos os organismos aeróbios subaquáticos. DQO (Demanda Química de Oxigênio) caracteriza a quantidade de material orgânico em água e mede a quantidade de oxigênio requerido para oxidar quimicamente a matéria orgânica em CO_2 e H_2O .

O vinhoto apresenta a característica de reter material insolúvel após o processo de fermentação e destilação do caldo de cana. Por esta capacidade de retenção, constitui um dos resíduos mais recalcitrantes (Navarro et al., 2000).

O descarte de águas residuais nos rios tem contribuído para a deterioração da qualidade das águas dos mananciais, principalmente em regiões onde há a escassez e comprometimento dos recursos hídricos. Águas residuais são líquidos obtidos de processamentos, as quais apresentam características poluentes e, portanto, devem ser submetidas a tratamentos prévios antes de serem lançadas ao ambiente (Simeonov & Queinnec, 2006). Diante da crise de falta de água, trazida como desafio para o novo século, faz-se necessária a discussão sobre o futuro da água e da vida, interligados pela imensa necessidade recíproca.

Acredita-se que o resíduo líquido do processo de fabricação de bebidas destiladas no Brasil, como a aguardente e a cachaça, em sua maioria são lançados diretamente nos mananciais. Portanto, essa água residual consiste em um problema ambiental agravante, perante o elevado número de fábricas de bebidas e etanol já implantadas e em execução no país.

O efluente, de acordo com Satyawali & Balakrishnan (2008), das destilarias é caracterizado pela alta demanda química e bioquímica de oxigênio, baixo pH, odores fortes e de coloração marron escura, presença de elementos minerais como nitrogênio, fósforo e potássio que causam a eutrofização do corpo d'água. Componentes de baixo peso molecular também são encontrados em vinhoto como ácido láctico, glicerol, etanol e ácido acético.

A coloração escura deve-se a 2% de melanoidinas presente no vinhoto, que retarda a fotossíntese pelo bloqueio de luz e é, portanto, deletéria a vida aquática. Melanoidinas são polímeros de alto peso molecular formada como produtos finais das reações de Maillard, entre compostos amino e açúcares, ocorrendo normalmente a 50 °C em pH entre 4-7. A melanoidina é degradada em processos de tratamento de efluentes tanto em aerobiose quanto em anaerobiose. Melainodina é um composto tóxico, em razão das suas propriedades antioxidante a muitos microrganismos envolvidos no tratamento de águas residuais. Além deste, o vinhoto pode conter outros corantes como compostos fenólicos, caramelo e melanina (Godshall, 1999; Sirianuntpiboon et al., 2004; Gonzalez et al., 2000; Rivero-Pérez et al., 2002; Martins & Boekel, 2004; Kalavathi et al., 2001).

Segundo Baruah et al. (1993), a DBO atinge 8 Km de extensão no rio a partir da descarga do efluente, com valores entre 1600-21000 mg/L, consequentemente tratamentos adequados são imperativos à descarga do efluente. Em adição aos impactos ambientais, a regulamentação ambiental força

as destilarias a implantarem alguma forma de tratamento e expor métodos alternativos na administração do efluente.

Muitos produtores de cachaça, para atenderem a regulamentação ambiental, constroem tanques de deposição de vinhoto, o qual passada a entresafra (período aproximado de seis meses) poderá ser descartado sem tratamento nos corpos d'água. Nesse contexto, surge a necessidade de adequação tecnológica direcionada aos produtores de cachaça quanto ao tratamento do vinhoto.

2.2 Parâmetros físico-químicos

De acordo com Instituto Mineiro de Gestão das Águas - IGAM, (2004), os parâmetros que aferem a qualidade do efluente podem ser divididos em físicos e químicos.

Os parâmetros físicos são representados pela condutividade elétrica, sólidos totais, sólidos dissolvidos, sólidos suspensos, cor, turbidez, alcalinidade bicarbonato, dureza. Já, nos parâmetros químicos, encontram-se pH, oxigênio dissolvido, DBO, DQO, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal, nitrato, fósforo, cloretos, ferro, potássio, sódio, magnésio, manganês, zinco, cobre.

Visando a agrupar os parâmetros de acordo com o tipo de caracterização que determinarão o efluente, Sperling (2009) descreveram os parâmetros abaixo e os dividiram em: parâmetros de caracterização genérica do efluente (pH, cor, turbidez); parâmetros para caracterização do grau de mineração (alcalinidade, dureza, condutividade, sólidos totais dissolvidos); parâmetros para avaliação do grau de oxigenação e poluição orgânica (oxigênio dissolvido, DBO, DQO); presença de sólidos (sólidos em suspensão, sedimentáveis, totais); presença de nutrientes (ortofosfato, fosforo, nitrogenio total, nitrogenio amoniacal, nitrito, nitrato); presença de sais (sulfato, cloretos, fluoretos) e pela presença de

elementos-traço e eventuais contaminantes (fenóis, cobre, ferro, magnésio, manganês, potássio, sódio, zinco).

A cor é determinada pelos sólidos dissolvidos e é originada da decomposição da matéria orgânica é indicada por Unidade de cor (uC). A turbidez indica o grau de interferência com a passagem da luz por meio da água, conferindo uma aparência turva, presente em sólidos em suspensão e, originada de rocha, argila, silte, algas e microrganismos, medida por Unidade uT (unidade de turbidez).

O pH representa a concentração de íons H^+ em escala antilogarítmica, dando indicação sobre a condição de acidez, neutralidade ou alcalinidade do efluente. As águas superficiais possuem pH entre 4 e 9. Às vezes, são ligeiramente alcalinas em razão da presença de carbonatos e bicarbonatos. O pH muito ácido ou alcalino está associado à presença de despejos industriais. A alcalinidade é a quantidade de íons na água que reagirão para neutralizar íons H^+ confere a capacidade da água em neutralizar ácidos (capacidade de resistir às mudanças de pH). É constituída por bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos, cuja distribuição das três formas é em função do pH e estão presentes na forma de sólidos dissolvidos e originados da dissolução de rochas, reação de CO_2 com água (CO_2 atmosférico ou da decomposição da matéria orgânica). Em valores de pH acima de 9, indica a presença das formas de hidróxidos e carbonatos, entre 8,3 e 9,4 carbonatos e bicarbonatos, 4,4 e 8,3 bicarbonatos.

Material em suspensão é caracterizado por materiais particulados não dissolvidos, encontrados suspensos no corpo d'água, compostos por substâncias orgânicas, inorgânicas, organismos planctônicos e microrganismos. Influencia a transparência da água, impedindo a penetração da luz. Substâncias inorgânicas constituem os sólidos em suspensão inerte que provocam turbidez, reduzindo ou anulando a penetração dos raios solares. Sólidos são todos os contaminantes da água com exceção de gases. São divididos de acordo com suas características

físicas, de acordo com tamanho e estado (sólidos em suspensão e sólidos dissolvidos); quanto às características químicas (sólidos voláteis e sólidos fixos) e quanto à decantabilidade em sólidos sedimentáveis e não sedimentáveis. Portanto, os sólidos totais são representados pelos sólidos voláteis, responsivos à matéria orgânica; pelos sólidos fixos que estão relacionados com a matéria inorgânica, porém, os sólidos sedimentáveis correspondem à decantabilidade do material em suspensão correspondente a uma hora. Os sólidos são responsáveis pelo aumento da turbidez, impedimento da penetração da luz no corpo d'água, formação de espuma superficial, depósito de lodo, geração de maus odores e diminuição do volume útil nos reservatórios.

Ferro e manganês estão presentes na forma insolúvel em grande quantidade no solo e, na ausência de oxigênio dissolvido, eles apresentam na forma solúvel, se expostos ao ar voltam a oxidar na forma insolúvel, conferindo cor à água. Estão presentes em sólidos em suspensão ou dissolvidos e se originam da dissolução de compostos. Cloretos são íons resultantes da dissolução de minerais advindos da dissolução de sais, presentes em sólidos dissolvidos e originam da dissolução de minerais.

O nitrogênio alterna entre as várias formas e estados de oxidação, em nitrogênio livre, amônia, nitrito e nitrato. A presença de amônia e nitritos denuncia a presença de poluição recente, uma vez que essas substâncias são oxidadas rapidamente na água, graças a presença de microrganismos nitrificantes. Quando em excesso, gera crescimento acelerado de algas, promovendo a eutrofização. Estão presentes em sólidos em suspensão e sólidos dissolvidos e são originados de proteínas, clorofila e compostos biológicos.

O fósforo está presente na forma de ortofosfato, polifosfato e fósforo orgânico e são encontrados nos sólidos em suspensão e sólidos dissolvidos e originados da decomposição do material orgânico. Ortofosfatos são diretamente disponíveis para o metabolismo biológico, sem necessidade de conversões a

formas mais simples. Proporciona a manutenção das células bacterianas para crescimento, porém, em excesso, leva ao crescimento de algas em valores acima de 0,02 mg/L, alterando o ambiente em eutrófico. Polifosfatos tendem a se hidrolizarem em meio aquoso, transformando em formas estáveis de ortofosfatos e estes, por meio da decomposição biológica transformam em fosfato. É originado da dissolução de compostos do solo e da decomposição da matéria orgânica.

Oxigênio dissolvido indica indiretamente a presença de carbono biodegradável na material orgânico, é utilizado por microrganismos aeróbios, sendo constituinte de gases dissolvidos, e em concentração inferior a 9,2 mg/L é indicativo de material orgânico. Porém, quando consumido pelos microrganismos, tende a utilizar e estabilizar a matéria orgânica. O oxigênio dissolvido se reduz ou desaparece, quando a água recebe grandes quantidades de substâncias orgânicas biodegradáveis. Os resíduos orgânicos despejados nos corpos d'água são decompostos por microrganismos que utilizam o oxigênio na respiração. Quanto maior a carga de material orgânico, maior o número de microrganismos decompositores e maior o consumo de oxigênio, resultando na morte de outros seres vivos que habitam as águas.

O material orgânico é o principal problema de poluição das águas. Origina da matéria orgânica vegetal e animal, constituída pelos sólidos em suspensão e sólidos dissolvidos. Microrganismos utilizam e a estabilizam por meio do consumo de oxigênio dissolvido.

Substâncias orgânicas são quantificadas indiretamente pela composição de proteínas, carboidratos, gorduras, uréia, surfactantes, fenóis, presentes no material orgânico, por meio do potencial poluidor, sendo detectados na medição de consumo de oxigênio por meio da DBO e DQO.

Taninos são polifenóis, compostos de pigmentação, de origem vegetal, contendo hidroxilas e carboxilas que formam complexos fortes com proteínas e outras macromoléculas

Por meio do monitoramento biológico para determinar se a amostra de vinhoto poderá apresentar efeitos tóxicos na biota aquática, há avaliação toxicológica. Nesse contexto, ecotoxicologia determina o impacto potencialmente deletério de substâncias ou compostos químicos sobre organismos vivos (Dias et al., 2006).

2.3 Legislação ambiental referente ao vinhoto

De acordo com a Portaria Minter nº 323, de 29 de novembro de 1978 fica proibido a partir da safra de 1979/1980, o lançamento direto ou indireto do vinhoto em qualquer coleção hídrica. Considera-se também que o efeito tem se agravado em decorrência do aumento da produção das destilarias de álcool, recomendando a adoção de medidas que resguardem o equilíbrio e o meio ambiente.

A Portaria nº 158 de 3/11/1980, do Ministério do Interior, delega aos estados a competência de fiscalizar a fabricação de aguardente e destilarias de álcool, porém, acredita-se que o resíduo líquido do processo de fabricação de bebidas destiladas como a aguardente e a cachaça, no Brasil, em sua maioria são lançados diretamente nos mananciais, mesmo com a Deliberação Normativa do COPAM (Comissão de Política Ambiental) nº 10 de 16 de dezembro de 1986 que regulamenta as normas de armazenamento e efluentes de usinas de açúcar e destilarias de álcool e aguardente para disposição de vinhoto no solo . Portanto, este resíduo líquido consiste em um problema ambiental agravante, perante o elevado número de fábricas de bebidas e etanol já implantadas e em execução no Brasil.

Segundo o Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC) e o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), portaria nº 126 de 24 de junho de 2005, dentre os requisitos para a etapa de destilação da cachaça, deverá haver um destino ao vinhoto, não sendo permitido o descarte em cursos d'água ou locais que possam contaminar o meio ambiente.

A Portaria nº 738, de 07 de novembro de 2005, regulamenta a produção de cachaça em processo de alambique. De acordo com as normas gerais para a produção de cachaça de alambique e o regulamento técnico de produção de cachaça por processo de alambique fica determinado que sobre a área temática de educação ambiental, é procedimento obrigatório o destino adequado de efluentes conforme a legislação vigente. A área temática de plano de controle ambiental estabelece que deverá haver um destino aos resíduos líquidos e sólidos de acordo com as normas ambientais, recomendando a elaboração de um plano de controle ambiental, formalizado em tratamento de resíduos.

A disposição sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes é realizado sob a Deliberação normativa conjunta COPAM/CERH-MG nº1, de 05 de maio de 2008 que estabelece as condições e padrões de lançamentos de efluentes.

2.4 Tratamento de águas residuais

Subprodutos oriundos do processamento industrial, resultam em águas residuárias, como o vinhoto, o qual representa uma importante fonte de nutrientes, especialmente para a fertilização orgânica. Atualmente, a aplicação de resíduos orgânicos, segundo Tejada et al. (2007), com alto conteúdo de material orgânico em muitos municípios, representam prática comum ambiental

para a restauração do solo, manutenção de material orgânico, recuperação de áreas degradadas e suplementação de nutrientes vegetais.

Águas residuais são líquidos obtidos de processamentos, as quais apresentam características poluentes, portanto, devem ser submetidas a tratamentos prévios, antes de serem lançadas ao ambiente. O tratamento de águas residuais pelo processo de digestão anaeróbica tem sido utilizado para geração de energia elétrica e solução de problemas ecológicos na agricultura e com os agrosíduos. O material orgânico nos biorreatores é decomposta por microrganismos em gás metano e dióxido de carbono, sendo fermentada na ausência de oxigênio (Simeonov & Queinnec, 2006).

Porém, Tejada et al. (2007) argumentaram que a influência nas propriedades do solo, pelo material orgânico, dependem do tamanho da material orgânico, tipo e quantidade adicionada ao solo. O efeito de cada material orgânico nas propriedades do solo depende do componente dominante.

No Brasil, o vinhoto é utilizado para fertilização do solo em razão do conteúdo de nitrogênio, fósforo e compostos orgânicos, aumentando a produtividade da cana e, sob condições controladas, o efluente é capaz de substituir a aplicação de fertilizantes inorgânicos (Satyawali & Balakrishnan, 2008). Porém, em grande quantidade, o vinhoto apresenta mau cheiro, putrefação e com o decorrer da aplicação ao solo, altera o ambiente de tal forma que o torna em uma desagradável paisagem. Sendo necessário a agro-indústria um local para captação deste resíduo, em uma localização geográfica específica para esta finalidade, de modo que não atinja o lençol freático e contamine a água.

A adição de vinhoto ao solo, segundo Demattê et al. (2004), comporta-se como um fertilizante rico em potássio, utilizado nas plantações de cana-de-açúcar situadas próximas às destilarias. Como apresenta vantagens, sua

aplicação no solo tem sido indiscriminada nestas duas últimas décadas, sérios problemas causando com o aumento de potássio em relação ao equilíbrio químico do solo, resultando em queda da fertilidade do solo, como também representando riscos à poluição das águas.

Em razão da rica constituição química apresentada pelo vinhoto, sua aplicação ao solo pode minimizar os efeitos de erosão, uma vez que ocorrerá o acúmulo de matéria-orgânica na camada superficial do solo, camada esta mais atingida por este tipo de impacto (Tejada & Gonzalez, 2006).

O vinhoto e o sulfato de hidrogênio em baixa concentração podem ser processados em reatores onde ficam expostos à anaerobiose (Zee et al., 2007). Embora o vinhoto apresente baixa concentração de H_2S , esta fase foi removida completamente, após o processamento anaeróbio em reator.

Através da digestão anaeróbica, houve redução entre 60-75% de DQO no tratamento de vinhoto. Esse efluente contém alta proporção de compostos fenólicos recalcitrantes, em torno de 33% de DQO, incluindo ácido gálico, melanoidina e ácido tânico, os quais não são degradados com o tratamento biológico nos digestores (Figaro et al., 2006).

Dentre as propriedades dos compostos fenólicos supracitados, pode-se citar a melanoidina que é constituída por polímeros formados pela reação amino-carboxil de Maillard, com propriedades antioxidantes e tóxica. Os ácidos gálico e tânico apresentam atividade inibitória aos microrganismos. Ácido tânico é encontrado na superfície da água como resultado da decomposição da vegetação e no solo. Ácido gálico pode combinar com ácido tânico, que podem reagir com o desinfetante, formando compostos orgânicos halogênicos, os quais serão insuficientemente biodegradáveis (Figaro et al., 2006).

Um pós-tratamento do vinhoto é necessário para que possa ser descartado no ambiente natural, dentro dos padrões para reutilização da água.

Uma possível solução seria o tratamento do vinhoto pelo uso de carvão ativado para adsorção de poluentes, a partir desse resíduo, o qual demonstrou ser um bom adsorvente, após a digestão anaeróbica (Figaro et al., 2006).

A digestão anaeróbica, de acordo com Uzal et al. (2003), é a melhor opção para tratamentos de efluentes, que contém componentes biodegradáveis. O efluente cuja DBO é alta, é originado de alimentos, fermentação, indústrias de papel e bebidas e pode apresentar redução nesses valores, após a digestão anaeróbica.

Os resíduos líquidos de destilarias são processados em reatores que podem ser divididos em duas fases, durante a digestão anaeróbica: uma fase fermentativa (acidogênica) e a fase acetogênica/metanogênica. Na fase acidogênica, ocorre a conversão inicial da DQO em ácidos graxos voláteis. Por meio da digestão anaeróbica, ocorre redução no tempo de retenção hidráulica e nos valores de DQO e DBO. Os ácidos graxos voláteis são utilizados como substrato no estágio acetogênico/metanogênico (Uzal et al., 2003).

Na etapa de floculação e coagulação, emprega-se cloreto férrico no tratamento de águas residuais de indústrias para desestabilizar os materiais coloidais, culminando com a agregação de pequenas partículas dentro de flocos (Amuda & Amoo, 2006). A remoção da material orgânico (DQO), fósforo e sólidos suspensos, usando cloreto férrico, indicaram que o pH ideal seria 9, na concentração de 100 mg/L e 25 mg/L respectivamente, resultando em uma redução de 60% no volume de lodo.

A coagulação e floculação no vinhoto tem sido proporcionada pela utilização de cal (CaO) que reduz a DQO em 82,5% e reduz 67,6% a coloração em um período de 30 min, sendo aplicada na concentração de 10 g/L. Aplicando-se 30 g/L ocorre uma redução de 93% da cor, em razão da capacidade de íons cálcio desestabilizar a carga negativa da melanoidina, formando fluoreto

de cálcio que precipita. A aplicação de coagulantes convencionais também tem sido realizada, com a adição de sulfato ferroso, sulfato férrico e Percol 47 (este composto reduz em 99% a coloração e 87 e 92% os índices de DQO e DBO, respectivamente). Outra alternativa seria a aplicação de água sanitária seguida de sulfato de alumínio, na concentração de 5 g/L e 3g/L, respectivamente, com redução de 96% e 97% na cor e demanda de oxigênio (Satyawali & Balakrishnan, 2008).

O tratamento biológico é realizado por meio de microrganismos degradadores de material orgânico. A caracterização microbiana destaca-se como importante fator, uma vez que vários microrganismos apresentam capacidade de sobreviver em ambientes diversos, podendo contribuir de alguma maneira na manutenção dos padrões ambientais desejáveis. Segundo Ringot et al. (2005), leveduras isoladas do vinhoto, apresentaram capacidade de biosorção de compostos tóxicos encontrados em alimentos.

Satyawali & Balakrishnan (2008) relataram que o sistema de reatores em batelada tem futuro promissor no tratamento de vinhoto, principalmente nas pequenas fábricas, o qual seria composto por um tanque receptor, um tanque de retenção intermediária, 2 tanques de armazenamento e um tanque de tratamento aeróbio.

Os tratamentos biológicos empregados no vinhoto resultaram na remoção de DQO e DBO, reduzindo a carga orgânica, mas dificilmente eliminam todos os compostos de coloração pela repolimerização das substâncias. Nesse contexto, vários tratamentos físico-químicos têm sido explorados, como a adsorção, coagulação/floculação, processos de oxidação, tratamento com membranas e evaporação/combustão (Satyawali & Balakrishnan, 2008).

2.5 Biodegradabilidade do vinhoto

A biodegradação é um dos principais fatores para a solução de problemas ambientais, que é influenciada por parâmetros de toxicidade, persistência e, principalmente, pelo seu destino ao ecossistema aquático ou terrestre (Raymond et al., 2001). A biodegradabilidade pode ser aferida pela DBO, como também pela DQO. A DBO é o parâmetro no processo de tratamento ambiental mais importante, uma vez que essa análise retrata a quantidade de O₂ necessária para estabilizar biologicamente o material orgânico carbonáceo presente. Porém, a DQO mede a quantidade total de O₂ necessária para a oxidação do material orgânico, utilizando agente oxidante forte.

De acordo com Sperling (2009), a biodegradabilidade depende do estado inicial da material orgânico, que pode ser classificada em matéria orgânica inerte e biodegradável. O material orgânico inerte (não biodegradável) não apresenta mudança em sua forma. A fase solúvel não sofre alterações e a particulada (em suspensão) é envolvida pela biomassa, formando o lodo que sedimenta. Já, o material orgânico biodegradável sofre alterações sendo representada pela fase rapidamente biodegradável, na forma solúvel, moléculas simples que são utilizadas diretamente por bactérias heterotróficas. A fase lentamente biodegradável apresenta-se na forma particulada, moléculas complexas que não são utilizadas diretamente pelas bactérias, sendo necessária a sua conversão em material solúvel por meio de reações enzimáticas, resultando em uma demora no consumo de material orgânico.

A biodegradação de um químico orgânico em um sistema natural pode ser classificada como primária, que resulta na alteração da integridade da molécula principal, na qual ocorre a completa mineralização, como conversão a compostos inorgânicos e/ou processos metabólicos normais e aceitável que apresenta um índice de toxicidade média. Porém, na literatura é comum a

classificação da biodegradação primária e principal como degradação aeróbica (Boethling et al., 1994).

Na biodegradação primária, ocorre indução biológica que transforma a estrutura da matriz do composto, alterando a integridade desta molécula. Na biodegradação principal, haverá a conversão biológica de compostos orgânicos em inorgânicos e seus produtos associados com o processo metabólico normal, e na biodegradação aceitável a degradação biológica de um composto orgânico será processada até que a toxicidade ou características desejáveis sejam alcançadas (Boethling et al., 1994).

2.6 Comunidade microbiana

O material orgânico é o principal problema de poluição das águas. Origina-se do material orgânico vegetal e animal, constituída pelos sólidos em suspensão e sólidos dissolvidos. Microrganismos a utilizam e a estabilizam por meio do consumo de oxigênio dissolvido (Sperling, 2009).

De acordo com Metcalf & Eddy Inc. (1991) os microrganismos desempenham diversas funções relacionadas com a transformação do material dentro dos ciclos biogeoquímicos. Dentre os microrganismos de interesse na engenharia ambiental estão as bactérias, as principais responsáveis pela conversão do material orgânico. Archeobactérias são importantes nos processos anaeróbios; algas podem deteriorar a qualidade da água; fungos decompõem o material orgânico e os protozoários mantêm o equilíbrio entre os diversos grupos microbianos.

Szmrecsányi (1994) relata que a proliferação de microrganismos esgota o oxigênio dissolvido na água, destruindo a flora e a fauna aquáticas e dificultam o abastecimento de água potável.

Os microrganismos podem obter energia por processos respiratórios e fermentativos. Para que haja obtenção de energia, deverão haver aceptores de

elétrons no substrato. No processo respiratório, o aceptor de elétrons é o oxigênio, já, no processo fermentativo, será um composto orgânico presente no substrato. Quando há vários aceptores de elétrons disponíveis no mesmo meio (neste caso o vinhoto) o sistema utiliza aquele que produz mais alta quantidade de energia. Por essa razão, o oxigênio dissolvido é utilizado primeiramente (respiração/aeróbica) e, após a sua exaustão, o sistema deixa de ser aeróbio. Em condições anóxicas, na presença de nitratos, este é convertido em nitrogênio gasoso. Quando estes se extinguem, tem-se as condições anaeróbicas estritas (ausência total de oxigênio), em que são utilizados os sulfatos que serão reduzidos em sulfetos e dióxido de carbono, que é convertido em metano (Arceivala, 1981).

A unidade de massa das células microbianas é normalmente expressa em termos de sólidos em suspensão, uma vez que a biomassa é constituída de sólidos que se encontram suspensos nos efluentes. Nem toda a massa de sólidos participa da conversão do substrato orgânico, havendo uma fração inorgânica. Assim, a biomassa é também expressa em termos de sólidos em suspensão voláteis que representam a fração orgânica da biomassa, já que a matéria orgânica pode ser volatilizada, convertida em gás por oxidação (Sperling, 2009).

As bactérias constituem o grupo de maior presença e importância nos sistemas biológicos de efluentes. Considerando que a principal função de um sistema de efluentes é a remoção de DBO, as bactérias heterotróficas são os principais agentes desse mecanismo. Além da remoção do material orgânico carbonáceo, podem ocorrer outros fenômenos como a conversão da amônia a nitrito, conversão de nitrito em nitrato e de nitrato em nitrogênio gasoso (Sperling, 2009).

De acordo com Sirianuntapiboon & Prasertsong (2008) vários tipos de fungos basidiomicetos e ascomicetos foram isolados de vinhoto. *Coriolus* sp foi a primeira cepa isolada com aplicação para remoção da cor do resíduo,

juntamente com *Coriolus versicolor*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus fumigatus*, *Rhizoctonia* sp. Dentre os isolados bacterianos foram encontrados *Lactobacillus hilgardii*, *Bacillus* sp e bactérias acetogênicas.

A caracterização microbiana destaca-se como importante fator, uma vez que vários microrganismos apresentam capacidade de sobreviver em ambientes diversos, podendo contribuir de alguma maneira na manutenção dos padrões ambientais desejáveis. Segundo Ringot et al. (2005), leveduras derivadas do vinhoto, apresentam capacidade de biosorção de compostos tóxicos encontrados em alimentos.

Embora o tratamento com lodo ativado composto de uma cultura microbiana mista seja eficiente no tratamento de águas residuais, atualmente busca-se a obtenção de uma cultura pura para o tratamento aeróbio e anaeróbio, aumentando a eficácia da biodegradabilidade (Satyawali & Balakrishnan, 2008).

O tratamento do vinhoto com fungos da espécie *Penicillium decumbens* proporcionou uma queda nos valores de DQO, e *Geotrichum candidum* eliminou compostos fenólicos (Jiménez et al., 2003, 2004; Borja et al., 1993).

A digestão anaeróbia com *Penicillium decumbens*, seguida de tratamento aeróbio resultou na remoção da acidez e eficiência na queda de DQO, com diminuição de tempo de retenção hidráulica (HRT) (Jiménez et al., 2003).

Vários fungos filamentosos têm sido utilizados no tratamento de vinhoto, dentre eles, *Phanerochaete chrysosporium*, *Coriolus hirsutus* que atuam na descoloração do vinhoto; *Trametes versicolor* que mineraliza a melanoidina e detoxifica pela degradação de furanos; *Flavodon flavus* que promove a descoloração e detoxificação de compostos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; *Aspergillus niger*, *A. niveus* os quais agem na descoloração; *A. fumigatus* que degrada rapidamente a melanoidina (Gonzalez et al., 2000; Miyata et al., 1998; Raghukumar et al., 2004; Angayarkanni et al., 2003; Miranda et al., 1996).

De acordo com Satyawali & Balakrishnan (2008) e Friedrich (2004) leveduras têm sido amplamente estudadas no tratamento de resíduo líquido de destilarias, caracterizadas por um rápido crescimento e menor susceptibilidade de contaminação por outros microrganismos. *Citeromyces* tem a capacidade de reduzir a cor e o material orgânico; *Hansenula* produz proteínas com a redução de DBO. Como as leveduras também utilizam lactato e acetato que são inibidores da produção de etanol, o tratamento do efluente pode ser utilizado como água de diluição na fermentação, diminuindo em 70% a quantidade de vinhoto residual que deverá ter um destino pré-determinado pelo fabricante. *H. anomala* reduz em 74% o conteúdo de carbono orgânico total; *Saccharomyces cerevisiae*, é promissora em resultados em grande escala, o uso de cultura pura tem a capacidade de reduzir em 82,7% a coloração e 84% de DBO. Essa levedura cresce no vinhoto, e não necessita adição de nutrientes (Shojaosadati et al., 1999; Moriya et al., 1990; Selim et al., 1991; Rajor et al., 2002).

Com a utilização de cultura mista microbiana, Nudel et al. (1987) relataram que *Candida utilis* e *Trichoderma viridiae* reduziram 65% os valores de DBO, enquanto que *C. utilis* e *A. niger* reduziram-na em 89%.

No tratamento do vinhoto com bactérias, *Pseudomonas putida*, *Aeromonas* sp, *Aeromonas formican*, *P. fluorescence* apresentam característica de descoloração; *Bacillus* é o que melhor reduz DBO (81%); *Nitrosococcus oceanus* detoxifica e reduz cloreto (Ghosh et al., 2002; Jain et al., 2000; Arora et al., 1992).

Algas utilizadas na biodegradação do vinhoto como *Chlorella vulgaris*, *Lemma minuscula*, *Oscillatoria boryana* e *Synechocystis* apresentam propriedades de descoloração e as cianobactérias produzem compostos que resultam na floculação da matéria orgânica no efluente (Valderrama et al., 2002; Kalavathi et al., 2001; Patel et al., 2001).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMUDA, O. S.; AMOO, I. A. Coagulation/flocculation process and sludge conditioning in beverage industrial wastewater treatment. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 141, n. 3, p. 778-789, Mar. 2006.

ANGAYARKANNI, J.; PALANISWAMI, M.; SWAMINATHAN, K. Biotreatment of distillery effluent using *Aspergillus niveus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 70, n. 2, p. 268-277, Feb. 2003.

ARCEIVALA, S. J. **Wastewater treatment and disposal**. New York: Marcel Dekker, 1981. 892 p.

ARORA, M.; SHARMA, D. K.; BEHERA, B. K. Upgrading of distillery effluent by *Nitrosococcus oceans* for its use as a low-cost fertilizer. **Resources, Conservation and Recycling**, Amsterdam, v. 6, n. 4, p. 347-353, Feb. 1992.

BARUAH, A. K.; SHARMA, R. N.; BORAH, G. C.; Impact of sugar mill and distillery effluents on water quality of river Gelabil, Assam. **Indian Journal of Environmental Health**, Nagpur, v. 35, n. 4, p. 288-293, 1993.

BOETHLING, R. S.; HOWARD, P.H.; MEYLAN, W.; STITERLER, W.; BEAUMAN, H.; TIRADO N. Group contribution method for predicting probability and rate of aerobic biodegradation. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 28, n. 3, p. 459-465, Mar. 1994.

BORJA, R.; MARTIN, A.; MAESTRO, R.; LUQUE, M.; DURA, M. M. Improvement of the kinetics of anaerobic digestion of molasses by the removal of phenolic compounds. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 15, n. 3, p. 311-316, Mar. 1993.

BRASIL. Ministério do desenvolvimento, indústria e comércio exterior. Instituto nacional de metrologia, normalização e qualidade industrial. **Portaria nº 126 de 24 de junho de 2005**. Disponível em:<
<http://www.inmetro.gov.br/legislacao/rtac/pdf/RTAC001512.pdf>>. Acesso em: 16 dez. 2009.

BRASIL. Ministério do Interior. **Portaria Minter nº 158**, de 3 de novembro de 1980. Mantém a proibição do lançamento direto ou indireto do vinhoto em qualquer coleção hídrica, ressalvado, entretanto, o disposto nos itens III e IV desta Portaria. Disponível em: <www.ipef.br/legislacao/bdlegislacao/arquivos/272.rtf>. Acesso em: 14 dez. 2009.

BRASIL. Ministério do Interior. **Portaria Minter nº 323**, de 29 de novembro de 1978. Resíduos, Tratamento de Resíduos água e álcool, energia combustível. Disponível em: <<http://faolex.fao.org/docs/pdf/bra14330.pdf>>. Acesso em: 14 dez. 2009.

CARDOSO, M. G. Análises físico-químicas de aguardente. **Produção artesanal de aguardente**. Lavras: UFLA, 2001

DAWSON, L.; BOOPATHY, R. Use of post-harvest sugarcane residue for ethanol production. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 9, p. 1695-1699, July 2006.

DEMATTE, J. A. M.; GAMA, M. A. P.; COOPER, M.; ARAÚJO, J. C.; NANNI, M. R.; FIORIO, P. R. Effect of fermentation residue on the spectral reflectance properties of soils. **Geoderma: an international journal of soil science**, Amsterdam, v. 120, n. 3/4, p. 187-200, June 2004.

DIAS, A. M. P.; BRENTANO, D. M.; CARVALHO-PINTO, C. R. S.; MATIAS, W. G. Avaliação de toxicidade aguda de fluidos de corte utilizados em processos de usinagem usando como organismo teste *Poecilia reticulata* e *Daphnia magna*. **Biotemas**, Florianópolis, v. 19, n. 3, p. 7-13, set. 2006.

FIGARO, S.; LOUISY-LOUIS, S.; LAMBERT, J.; EHRHARDT, J. J.; OUENSANGA, A.; GASPARD, S. Adsorption studies of recalcitrant compounds of molasses spentwash on activated carbons. **Water Research**, New York, v. 40, n. 8, p. 3456-3466, Oct. 2006.

FRIEDRICH, J. Bioconversion of distillery waste. In: ARORA, D. K. (Ed.). **Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications**. New York: Marcel Dekker, 2004. p. 431-442.

GHOSH, M.; GANGULI, A.; TRIPATHI, A. K. Treatment of anaerobically digested distillery spentwash in a two-stage bioreactor using *Pseudomonas putida* and *Aeromonas* sp. **Process Biochemistry**, London, v. 37, n. 8, p. 857-862, Mar. 2002.

GODSHALL, M. A. Removal of colorants and polysaccharides and the quality of white sugar. In: PROCEEDINGS OF SIXTH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ORGANIZED BY ASSOCIATION ANDREW VAN HOOK, 1999, Reims. **Proceedings...** Reims: AVH, 1999. p. 28-35.

GONZALEZ, T.; TERRON, M. C.; YAGUE, S.; ZAPICO, E.; GALLETTI, G. C.; GONZALEZ, A. E. Pyrolysis/gas chromatography/ mass spectrometry monitoring of fungal-biotreated distillery wastewater using *Trametes* sp. I-62 (CECT 20197). **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, Chichester, v. 14, n. 15, p. 1417-1424, Aug. 2000.

INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DAS ÁGUAS. **Qualidade das águas superficiais do estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte, 2004.

JAIN, N.; PRAJAPATI, S. K.; VERMA, C. L. Batch studies on the degradation of spentwash from distilleries. **Indian Journal of Environmental Protection**, Nagpur, v. 21, n. 2, p. 122-126, 2000.

JIMÉNEZ, A. M.; BORJA, R.; MARTÍN, A. Aerobic-anaerobic biodegradation of beet molasses alcoholic fermentation wastewater. **Process Biochemistry**, London, v. 38, n. 9, p. 1275-1284, Apr. 2003.

JIMÉNEZ, A. M.; BORJA, R.; MARTÍN, A. A comparative kinetic evaluation of the anaerobic digestion of untreated molasses and molasses previously fermented with *Penicillium decumbens* in batch reactors. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 18, n. 2, p. 121-132, May 2004.

KALAVATHI, D. F.; UMA, L.; SUBRAMANIAN, G. Degradation and metabolization of the pigment-melanoidin in a distillery effluent by the marine cyanobacterium *Oscillatoria boryana* BDU 92181. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 29, n. 4/5, p. 246-251, Sept. 2001.

LARA, L. L.; ARTAXO, P.; MARTINELLI, L. A.; CAMARGO, P. B.; VICTORIA, R. L.; FERRAZ, E. S. B. Properties of aerosols from sugar-cane burning emissions in Southeastern Brazil. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 39, n. 26, p. 4627-4637, Aug. 2005.

MARTINS, S. I. F. S.; BOEKEL, M. A. J. S. van. A kinetic model for the glucose/glycine Maillard reaction pathways. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 1/2, p. 257-269, Mar./Apr. 2004.

METCALF & EDDY INC. **Wastewater engineering**: treatment, disposal, reuse. 3. ed. New York : McGraw-Hill, 1979. 1334p.

MINAS GERAIS. Deliberação normativa conjunta COPAM/CERH-MG n^o1, de 05 de maio de 2008. Dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. **Minas Gerais**, Poder Executivo, Belo Horizonte, 5 maio 1987. Disponível em: <
<http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=Delibera%C3%A7%C3%>>. Acesso em: 14 dez. 2009.

MINAS GERAIS. Deliberação normativa COPAM n^o10, de 16 de dezembro de 1986. Estabelece normas e padrões para qualidade das águas, lançamento de efluentes nas coleções de águas, e dá outras providências. **Minas Gerais**, Poder Executivo, Belo Horizonte, 10 jan. 1987. Disponível em: <
http://www.paas.uff.br/legisla/copam10_86.pdf>. Acesso 14 dez. 2009.

MINAS GERAIS. Portaria n^o 738, de 07 de novembro de 2005. Baixa o regulamento de produção de cachaça em processo de alambique e dá outras providências. Disponível em:< http://imanet.ima.mg.gov.br/nova/gec/cachac_aima_inmetro/738.pdf>. Acesso em: 13 dez. 2009.

MIRANDA, M. P.; BENITO, G. G.; CRISTOBAL, N. S.; NIETO, C. H. Color elimination from molasses wastewater by *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, Essex, v. 57, n. 3, p. 229-235, Sept. 1996.

MIYATA, N.; IWAHORI, K.; FUJITA, M. Manganese-independent and manganese-dependent decolorization of melanoidin by extracellular hydrogen peroxide and peroxidases from *Coriulus hirsutus* pellets. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, Osaka, v. 85, n. 5, p. 550-553, 1998.

MORIYA, K.; IEFUJI, H.; SHIMOÍ, H.; SATO, S. I.; TADENUMA, M. Treatment of distillery wastewater discharged from beet molasses-spirits production using yeast. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, Osaka, v. 69, n. 2, p. 138-140, 1990.

NAVARRO, A. R.; SEPÚLVEDA, M. D. C.; RUBIO, M. C. Bio-concentric of vinasse from the alcoholic fermentation of sugar cane molasses. **Waste Management**, Oxford, v. 20, n. 7, p. 581-585, Nov. 2000.

NUDEL, B. C.; WAEHNER, R. S.; FRAILE, E. R.; GIULIETTI, A. M. The use of single and mixed cultures for aerobic treatment of cane sugar stillage and SCP production. **Biological Wastes**, Barking, v. 22, n. 1, p. 67-73, 1987.

OHGREN, K.; VEHEMAANPERA, J.; SIIKA-AHO, M.; GALBE, M.; VIKARI, L.; ZACCHI, G. High temperature enzymatic prehydrolysis prior to simultaneous saccharification and fermentation of steam pretreated corn stover for ethanol production. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 40, n. 4, p. 607-613, Mar. 2006.

PATEL, R. A.; PAWAR, R.; MISHRA, S.; TEWARI, A. Exploitation of marine cyanobacteria for removal of color from distillery effluent. **Indian Journal of Environmental Protection**, Varanasi, v. 21, n. 2, p. 1118-1121, 2001.

RAGHUKUMAR, C.; MOHANDASS, C.; KAMAT, S.; SHAILAJA, M. S. Simultaneous detoxification and decolorization of molasses spentwash by the immobilized whit-rot fungus *Flavodon flavus* isolated from the marine habitat. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 35, n. 2/3, p. 197-202, Aug. 2004.

RAJOR, R.; SINGH, R.; MATHUR, R. P. Color removal of distillery waste by *Saccharomyces*. **Indian Journal of Environmental Protection**, Varanasi, v. 22, n. 12, p. 1241-1252, 2002.

RAYMOND, J. W.; ROGERS, T. N.; SHONNARD, D. R.; KLINE, A. A. A review of structure-based biodegradation estimation methods. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 84, n. 2/3, p. 189-215, June 2001.

RINGOT, D.; LERZY, B.; BONHOURE, J. P.; AUCLAIR, E.; ORIOL, E.; LARONDELLE, Y. Effect of temperature on in vitro ochratoxin A biosorption onto yeast cell wall derivatives. **Process Biochemistry**, London, v. 40, n. 9, p. 3008-3016, Sept. 2005.

RIVERO-PÉREZ, M. D.; PÉREZ-MAGARIÑO, S.; JOSÉ, M. L. Role of melanoidins in sweet wines. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 458, n. 1, 169-175, Apr. 2002.

SATYAWALI, Y.; BALAKRISHNAN, M. Wastewater treatment in molasses-based alcohol distilleries for COD and color removal: A review. **Journal of Environmental Management**, London, v. 86, n. 3, p. 481-497, Feb. 2008.

SELIM, M. H.; ELSHAFEI, A. M.; EL-DIWANY, A. I. Production of single cell protein from yeast strains grown in Egyptian vinasse. **Bioresource Technology**, Essex, v. 36, n. 2, p. 157-160, 1991.

SHOJAOSADATI, S. A.; KHALILZADEH, R.; JALIZADEH, A.; SANAEI, H. R. Bioconversion of molasses stillage to protein as an economic treatment of this effluent. **Resources, Conservation and Recycling**, Amsterdam, v. 27, n. 1/2, 125-138, July 1999.

SIMEONOV, I.; QUEINNEC, I. Linearizing control of the anaerobic digestion with addition of acetate (control of the anaerobic digestion). **Control Engineering Practice**, Oxford, v. 14, n. 7, p. 799-810, 2006.

SIRIANUNTAPIBOON, S.; ZOHSALAM, P.; OHMOMO, S. Decolorization of molasses wastewater by *Citeromyces* sp. WR 43-6. **Process Biochemistry**, London, v. 39, n. 8, 917-924, Apr. 2004.

SIRIANUNTAPIBOON, S.; PRASERTSONG, K. Treatment of molasses wastewater by acetogenic bacteria BP103 in sequencing batch reactor (SBR) system. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 6, p.1806-1815, Apr. 2008.

SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. S. Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 13, n. 2-3, p. 205-218, Mar. 2003.

SOUZA, M. C.; SILVA, K. J.; BISNETO, R. T. Análise físico-química da qualidade da bacia do Ribeirão do Pinhal no município de Limeira/SP. **O Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1/2, 2006. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/biologico/v68_supl_raib/336.PDF>. Acesso em: 14 nov. 2009

SPERLIM, M. Von. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2. ed. Belo Horizonte: DESA-UFGM, 1996. (Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias, 1).

SZMRECSÁVYI, T. Tecnologia e degradação ambiental: o caso da agroindústria canvieira no Estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 24, n. 10, p. 73-74, out. 1994.

TEJADA, M.; GONZALEZ, J. L. Effects of two beet vinasse forms on soil physical properties and soil loss. **Catena**, Amsterdam, v. 68, n. 1, p. 41-50, Dec. 2006.

TEJADA, M.; MORENO, J. L.; HERNANDEZ, M. T.; GARCIA, C.
Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in an arid environment in southern Spain. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 119, n. 3/4, p. 289-298, 2007.

UZAL, N.; GOKÇAY, C. F.; DEMIRER, G. N. Sequential (anaerobic/aerobic) biological treatment of malt whisky wastewater. **Process Biochemistry**, London, v. 39, n. 3, p. 279-286, Nov. 2003.

VACCARI, G.; TAMBURINI, E.; SGUALDINO, G.; URBANIEC, K.; KLEMES, J. Overview of the environmental problems in beet sugar processing: possible solutions. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 13, n. 5, p. 499-507, Apr. 2005.

VALDERRAMA, L. T.; DEL CAMPO, C. M.; RODRIGUEZ, C. M.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Treatment of recalcitrant wastewater from ethanol and citric acid production using the microalga *Chorella vulgaris* and the macrophyte *Lemna minuscula*. **Water Research**, New York, v. 36, n. 17, p. 4185-4192, Oct. 2002.

ZEE, E. P. van der; VILLAVERDE, S.; GARCÍA, P. A.; FDZ.-POLANCO, F. Sulfide removal by moderate oxygenation of anaerobic sludge environments. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 3, p. 518-524, Feb. 2007.

CAPÍTULO 2

VINHOTO ARMAZENADO EM TANQUE: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS

1 RESUMO

Uma das bases mais importantes da economia brasileira é a agricultura, porém as atividades agroindustriais são responsáveis pela geração de grande quantidade de resíduos líquidos. A geração de vinhoto, perante a produção de cachaça, é 4:1 L respectivamente. Uma das alternativas para o tratamento e/ou reaproveitamento dos resíduos é a biodegradação. Baseado na importância de se entender as mudanças físico-químicas e microbiológicas ocorridas durante o período de armazenamento do vinhoto, realizou-se este trabalho utilizando-se vinhoto armazenado em condições ambientais semelhantes às encontradas nas cachaçarias, durante 12 meses. Amostras de vinhoto da cidade de Perdões (Sul de Minas Gerais) foram coletadas mensalmente na entressafra de 2007-2008 da produção de cachaça e armazenado em um tanque de decantação com capacidade para 310 L de vinhoto. Foram avaliados os parâmetros físico-químicos, microbianos e toxicológicos. As bactérias foram agrupadas segundo os resultados dos testes morfológicos como coloração de Gram, motilidade, forma e esporulação. As leveduras foram identificadas por técnica tradicional de fermentação e assimilação. A identificação dos isolados de fungos filamentosos foi realizada com base nos aspectos macroscópicos e microscópicos das colônias. Durante os seis meses de armazenamento, houve identificação dos fungos *Candida diddensiae*, *C. mesenterica*, *C. sake*, *C. tenuis*, *Cryptococcus albidus*, *C. humicola*, *Filobasidiella depauperata*, *Pichia farinosa*, *Rhodotorula aurantiaca*, *R. glutinis*, *R. minuta*, *R. mucilaginosa*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium citrium*, *P. funicolosum* e *Trichoderma harzianum*. Dos isolados bacterianos caracterizados, 56% são Gram-positivas, 24,6% esporularam, 16,4% são móveis e 83,8% bastonetes. Após 12 meses de armazenamento, houve redução de 94,8% de toxicidade no vinhoto. De acordo com os limites estabelecidos pelo COPAM, os valores dos parâmetros que atendem as exigências deste órgão são DQO, sólidos sedimentáveis, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal, cobre, ferro e zinco. Porém, os parâmetros cujos valores ficam fora do padrão estabelecido são taninos, DBO, sólidos suspensos totais, pH e manganês. Portanto, pode-se observar que o processo de armazenamento não é suficiente para promover a autodepuração do vinhoto. Com o armazenamento em tanque por seis meses, o vinhoto não pode ser reutilizado e tampouco descartado em corpos d'água. Nesse contexto, o vinhoto deve passar por tratamento que vise diminuir seu potencial efeito impactante ao ambiente.

2 ABSTRACT

One of the most important bases of the Brazilian economy is agriculture, but the agro-industrial activities are responsible for generating large amounts of liquid waste. The cachaça industry generates four litres of vinasse to produce one liter of spirit. One alternative for the treatment and / or reuse of this waste is biodegradation. Based on the importance of understanding the physical-chemical and microbiological changes occurring during vinasse storage was carried out this work using vinasse stored under environmental conditions similar to those found in cachaça industry. Samples of vinasse from the city of Perdoes (South of Minas Gerais, Brazil) were collected monthly during the production of cachaca and stored in a storage tank with a capacity of 310 litres of vinasse. Physical-chemical, microbiological and toxicological parameters were evaluated during vinasse storage. The bacteria isolates were grouped according to morphological and Gram stain, motility, shape and ability to form spores. The identification of filamentous fungi isolates was performed on the macroscopic and microscopic colonies. *Candida diddensiae*, *C. mesenterica*, *C. sake*, *C. tenuis*, *Cryptococcus albidus*, *C. humicola*, *Filobasidiella depauperata*, *Pichia farinosa*, *Rhodotorula aurantiaca*, *R. glutinis*, *R. minuta*, *R. mucilaginosa*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium citrium*, *P. funicolosum* and *Trichoderma harzianum* were identified during the 6 months of vinasse storage. Of the bacteria isolates, 56% were Gram-positive, being 24.6% sporulated, 16.4% mobile and 83.8% rods. After 12 months there was a reduction of 94.8% of toxicity in the storage vinasse. According to the limits set by COPAM, the parameter values that met the requirements were DQO, sediment solids, total nitrogen, ammonia nitrogen, copper, iron and zinc. However, the tannins, BOD, total suspended solids, pH and manganese were out of range established by COPAM. Therefore, it was possible to conclude that only the storage in open tanks was not enough to promote the purification of vinasse. In this context, the vinasse should undergo treatment aiming to reduce its potentially impacting in the environment.

3 INTRODUÇÃO

A agricultura brasileira é importante fator econômico, porém suas atividades resultam na geração de resíduos que deverão ter destino para eliminar o impacto ambiental que poderá ocasionar.

Atividade agroindustrial em ascensão no Brasil é a produção de cachaça que consiste nas etapas de corte da cana-de-açúcar, moagem, fermentação, destilação e envelhecimento. Da destilação se obtém a cachaça e resulta dentro da panela do alambique o resíduo líquido (vinhoto). A relação de cachaça para vinhoto é de 1:14 litros, respectivamente.

Visando a preservar o meio ambiente, os setores agroindustrias vêm buscando alternativas para minimizar os impactos ambientais por meio de estudos de tecnologias para tratamento/reaproveitamento de resíduos.

Uma das alternativas para o tratamento e/ou reaproveitamento dos resíduos é a biodegradação, sendo esta influenciada por parâmetros de toxicidade, persistência e, principalmente, pelo seu destino ao ecossistema aquático ou terrestre (Raymond et al., 2001) bem como do estado inicial do material orgânico, ou seja, material orgânico inerte ou biodegradável (Sperling, 2009). O grau de biodegradabilidade em um processo pode ser aferida por meio da DBO, como também pela DQO.

O material orgânico biodegradável sofre alterações sendo que as moléculas simples são utilizadas diretamente por microrganismos autotróficos e heterotróficos. A fase lentamente biodegradável apresenta-se na forma particulada, moléculas complexas que não são utilizadas diretamente pelas bactérias, sendo necessária a sua conversão em material solúvel por meio de reações enzimáticas, resultando em uma demora no consumo de matéria orgânica.

Dentre os microrganismos de interesse na engenharia ambiental estão as bactérias, responsáveis pela conversão do material orgânico, as arqueobactérias importantes nos processos anaeróbios, algas que deterioram a qualidade da água, fungos que decompõem o do material orgânico.

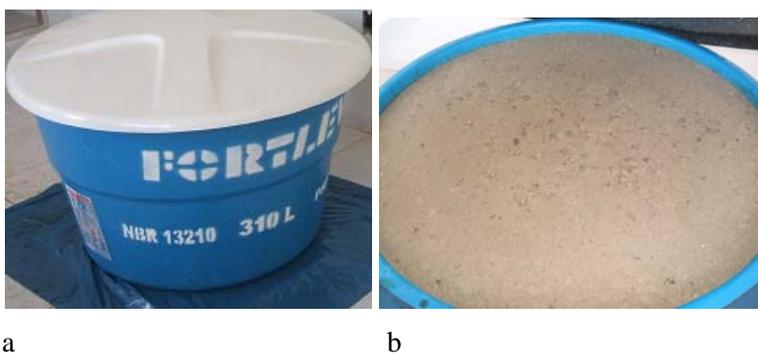
Baseado na importância de se entender as mudanças físico-químicas e microbiológicas ocorridas durante o período de armazenamento do vinhoto realizou-se este trabalho utilizando-se vinhoto armazenado em condições ambientais semelhantes às encontradas nas cachaçarias durante 12 meses.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção das amostras

O vinhoto foi recolhido imediatamente após a destilação, sendo cedido por uma cachaçaria situada na cidade de Perdões, Sul de Minas Gerais, e armazenado no mesmo dia em caixa, localizada no Laboratório de Microbiologia, no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

Amostras de vinhoto foram coletadas mensalmente na entressafra de 2007-2008 da produção de cachaça em um tanque de decantação com capacidade para 310 L (Figura 1).



a

b

a – caixa de deposição do vinhoto; b – armazenamento do vinhoto

FIGURA 1 Tanque de armazenamento de vinhoto.

Foram coletados 2 L do sobrenadante de vinhoto e 2 L de lodo a cada amostragem. O sobrenadante foi coletado na forma de amostra composta, sendo retirado à 20 cm da superfície do tanque, recolhido de toda a área do tanque em diversos pontos. O lodo foi recolhido de uma caixa de armazenamento com

capacidade de 15 L que permaneceu aberta no fundo do tanque para coleta do lodo depositado (Figura 2).



a

b

a – coleta de sobrenadante; b – coleta de lodo

FIGURA 2 Coleta de amostra de vinhoto em tanque de armazenamento

A primeira amostra foi coletada um dia após o armazenamento do vinhoto. As demais amostras foram coletadas em intervalos de 30 dias, sendo que a sétima amostragem foi realizada doze meses após a primeira coleta, totalizando sete amostras.

As amostras foram armazenadas em caixa de isopor com gelo até o momento das análises química, física e microbiológicas realizadas no Departamento de Biologia (Setor de Microbiologia), Química, Ciências dos Alimentos e Engenharia da Universidade Federal de Lavras.

4.2 Análises físico-químicas

As análises referentes à DBO, DQO, pH, sólidos totais, sólidos totais fixos, sólidos totais voláteis, sólidos sedimentados, sólidos suspensos totais, sólidos dissolvidos totais, turbidez, cor, cloro livre, alcalinidade bicarbonatos, dureza, cloreto, sulfato, condutividade elétrica, ATT (acidez total titulável),

oxigênio dissolvido, nitrogênio (total e amoniacal), fósforo, taninos, fosfato, nitrato, pectina total, nitrito, cobre, ferro, manganês, zinco e potássio, foram realizadas segundo. (American Public Health Association– APHA; American Water Works Association–AWWA; Water Environmental Federation–WEF, 1995).

4.3 Análises microbiológicas

As amostras foram plaqueadas em quatro diferentes meios de cultivo utilizando-se a técnica de espalhamento em superfície a partir de diluições decimais. Os meios utilizados foram: Meio 1 – YEPG (em g/l: extrato de levedura, 10,0; peptona de soja, 20,0; glicose 20,0); Meio 2 – meio 1 acrescido de 600 mL de vinhoto e adicionado 1,5 mg/L de uréia e sulfato de amônio a 0,05%, adaptando-se as metodologias descritas por Liu et al. (2000) e Phisalaphong et al. (2004); Meio 3 – 1,0 L de vinhoto com pH ajustado entre 6,0 – 6,5; Agar 15,0 (Selim et al., 1991); Meio 4 – 300 mL caldo de cana-de-açúcar, 0,3g/L $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$; 1,0 g/L $(NH_4)_2SO_4$; 0,5 g/L KH_2PO_4 e 600 mL de vinhoto (Navarro et al., 2000).

As placas, contendo os diferentes meios de cultivo, após repicagem foram incubadas à temperatura de 28°C por 48 horas. As colônias que apresentaram morfotipos diferentes, perante a caracterização macroscópica da amostragem do vinhoto foram isoladas considerando-se a raiz quadrada do número de colônias obtidas nas placas, contendo entre 30 e 300 colônias. As colônias selecionadas foram submetidas ao preparo de laminais coradas simples e diferencial, além de testes morfológicos e bioquímicos preliminares como catalase, oxidase, fermentação de glicose, esporulação e motilidade.

Os isolados foram preservados a -80 °C, usando-se glicerol (40%) como crioprotetor.

4.4 Identificação e caracterização da microbiota por métodos tradicionais

4.4.1 Bactéria

As bactérias foram agrupadas segundo os resultados dos testes morfológicos como coloração de Gram, motilidade e esporulação (Holt et al., 1994)

4.4.2 Leveduras

Os isolados caracterizados como leveduras foram identificados de acordo com Barnett et al. (2000).

4.4.3 Fungos Filamentosos

A identificação dos isolados de fungos filamentosos foi realizada com base nos aspectos macroscópicos e microscópicos das colônias com descrição das colônias em meio Àgar Czapeck, Àgar extrato de malte e seguindo as chaves de identificação propostas por Booth (1971), Raper & Fennell (1965), Hawksworth & Pitt (1983) e Pitt (1988).

4.5 Análise de toxicidade

O índice de toxicidade aguda foi realizado utilizando-se o microcrustáceo *Daphnia similis*, nas amostras de vinhoto no início do armazenamento e na amostra, após 12 meses de armazenamento, segundo Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental - CETESB (1986), Mancini et al. (2005), Oshirom et al. (2007) e Dias et al. (2006).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação dos parâmetros físico-químicos

Foram realizadas sete análises físico-químicas do vinhoto, sendo as seis primeiras mensalmente e a última após 12 meses de armazenamento em tanque (Tabela 1), embora os produtores só armazenem o vinhoto por até 150 dias. Este período anual foi avaliado para analisar se apenas o armazenamento em tanque é suficiente para diminuir os itens físico-químicos que causam impacto ambiental.

De acordo com a Tabela 1, pode-se observar que houve redução nos valores de oxigênio dissolvido, DQO (77,1%), cloretos, dureza total, cor, alcalinidade bicarbonatos, sólidos (totais, totais fixos, totais voláteis, sedimentáveis e dissolvidos totais), nitrogênio total (17,4%), taninos, nitrato e cobre (60%), quando comparado o início e término do período amostrado. Mesmo com o decréscimo desses valores, o vinhoto armazenado sem qualquer tipo de tratamento não pode ser lançado em corpos d'água, pois ultrapassam os limites estabelecidos pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008.

Com o decorrer do período de armazenamento, observou-se consumo e produção de oxigênio dissolvido. O consumo deve-se à utilização desse item pelos microrganismos na utilização da matéria orgânica. Porém, a produção de oxigênio dissolvido, de acordo com Sperling (2009) pode estar relacionada com a reaeração atmosférica por difusão molecular, na qual a massa d'água encontra-se parada por bastante tempo, havendo tendência de substâncias (gases) se espalharem uniformemente por todo o espaço disponível, como também a redução de nitrato em nitrogênio gasoso. A concentração de saturação de OD (oxigênio dissolvido) deve ser igual a 9,2 mg/L para que ocorra vida de peixes no corpo d'água receptor e, após os seis primeiros meses avaliados, o teor de OD não excedeu 1,2 mg/L.

TABELA 1 Resultado de análises físico-químicas comparando-as com os parâmetros estipulados pelo COPAM

PARAMETROS	Limites COPAM	Dias						
		01	30	60	90	120	150	365
PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO GENÉRICOS								
pH	6,0 a 9,0	3,39	3,53	3,65	3,69	3,7	3,71	5,1
ATT (acidez total titulável)	-	10,83	-	-	-	-	13,6	0,5
Cor mg Pt/L	-	1050	960	957	1684	858	678	1251
Turbidez N.T.U.	-	112,3	54,4	115,2	149,8	76,8	182	175
PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO DO GRAU DE MINERALIZAÇÃO								
Alcalinidade bicarbonatos mg/L	-	104,7	15,4	105,2	42,5	16,60	63,3	104,7
Condutividade elétrica mS/cm	-	4510	6020	5001,1	6590	6670	6690	6730
Sólidos dissolvidos totais mg/L	-	23998	22915	25618	15254	6795	7552	23998
Dureza total mg/L em CaCO ₃	-	3000	2400	2970	2250	732	526	3000
PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DO GRAU DE OXIGENAÇÃO E DA POLUIÇÃO ORGÂNICA								
Oxigênio dissolvido mg/L	-	1,0	1,0	0,9	0,2	1,2	0,5	5,3
DBO mg/L	60 mg/L redução mínima de 75%	1941	420	6950	6822	1416	2075	1283,5
DQO mg/L	180 mg/L redução mínima de 70%	57500	15070	34550	21792	4975	7425	10825

Continua...

“TABELA 1, Cont.”

TEORES DE SÓLIDOS								
Sólidos suspensos totais mg/L	100 mg/L	564	600	664	2933	1043	1139	564
Sólidos sedimentáveis mg/L	1mL/L	0,2	0,5	5,0	0	0	0	0,2
Sólidos totais mg/L	-	24562	22975	26282	18187	7838	8691	10352
Sólidos totais fixos mg/L	-	18697	14326	19478	17742	5641	7998	18697
Sólidos totais voláteis mg/L	-	5865	8649	6804	445	2197	693	5865
TEORES DE EEMENTOS								
Nitrogênio total mg/L	20,0 mg/L N	3,98	4,05	3,96	5,20	2,6	2,8	3,98
Nitrogênio amoniacal mg/L	20,0 mg/L N	1,05	1,15	1,25	4,4	1,8	1,9	1,05
Nitrato mg/100g	-	443,76	-	-	-	-	426,22	269,04
TEORES DE SAIS								
Cloretos mg/L	-	95	90	105	32	23	35	95
TEOR DE ELEMENTOS-TRAÇO								
Cobre mg/L	1,0 mg/L Cu	0,4	1,4	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
Ferro mg/L	15,0 mg/L Fe	11,3	9,1	13,3	12,9	13,0	13,3	12,5
Manganês mg/L	1,0 mg/L Mn	2,5	1,4	2,3	2,7	2,7	3,2	2,1
Zinco mg/L	5,0 mg/L Zn	0,5	1,3	0,5	0,6	0,6	0,5	0,2
AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE AGUDA								
CE	-	0,36	-	-	-	-	-	6,54
UT	-	277,78	-	-	-	-	-	15,29

O vinhoto pode ser classificado como efluente muito duro em razão do teor final de CaCO_3 (3000 mg/L). A dureza está relacionada com a presença de sólidos dissolvidos e cátions Mg^{+2} e Ca^{+2} , os quais formam precipitados no efluente.

A DBO e DQO são influenciadas por sólidos suspensos e sólidos dissolvidos (Sperling, 2009). Esses ítems demonstraram oscilação de valores semelhantes no decorrer do trabalho, porém, os valores obtidos de DBO, ultrapassam o limite estabelecido pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008.

A relação DQO/DBO indica a biodegradabilidade do efluente, sendo considerada baixa (menor que 2,5, indicada para tratamento biológico – fração biodegradável é elevada), intermediária (entre 2,5 e 3,5, verificar viabilidade para tratamento biológico) e elevada (maior que 3,5 ou 4,5, indicada para tratamento físico-químico – fração não biodegradável elevada) (Sperling, 2009). Observou-se, durante o período de armazenamento do vinhoto, que o valor desta relação foi de 29,6 em vinhoto fresco e 3,6 após seis meses de armazenamento, sendo, portanto, elevada, indicando que a fração inerte (não biodegradável) é elevada e possível indicação para tratamento físico-químico.

No período de armazenamento, houve também aumento do valor de pH. A acidez pode estar relacionada principalmente com a presença de gás carbônico livre, sólidos dissolvidos e ácidos minerais fortes resultantes de despejos industriais (Sperling, 2009). A presença de microrganismos encontrados nos baixos valores de pH durante o trabalho pode ser estimado em razão das adaptações microbianas ao ambiente estressante ao qual estão submetidos.

A presença de amônia indica a presença de poluição recente, sendo diretamente tóxica a peixes, uma vez que esta substância é oxidada rapidamente na água, graças à presença de microrganismos nitrificantes.

Portanto, foi observado que há indícios da presença de material orgânico no vinhoto após o período de armazenamento, uma vez que foram encontrados valores abaixo de 9,2 mg/L; a maioria do material orgânico é inerte em razão do alto valor de DQO encontrado; esse resíduo é considerado muito duro, porque ficou acima de 300 e é considerado ácido decorrente dos valores de pH.

Em águas residuárias, o balanço entre as cargas de DBO e nitrogênio deve ser de 100:5 (Sperling, 2009), valores não atingidos no decorrer dos seis meses amostrados, o que compromete o lançamento de vinhoto em corpos d'água sem tratamento prévio.

Cobre e zinco são metais pesados, os quais tornam-se tóxicos quando ultrapassam os valores limites, porém, no trabalho realizado, esses metais estão dentro dos valores permitidos pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG n^o 1 de 5 de maio de 2008., encontrados em valores de 0,1mg/L Cu e 0,5 mg/L de Zn.

O constituinte responsável pela obtenção de cor no efluente são os sólidos dissolvidos, dentre eles a presença de ferro e manganês (Sperling, 2009). Observou-se, no decorrer do período analisado, que os valores manganês (2,1 mg/L) estão acima dos valores permitidos pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG n^o 1 de 5 de maio de 2008, portanto, são capazes de influenciar na formação de pigmentos, conferindo cor ao efluente.

A conversão do material orgânico dissolvido (sólidos dissolvidos) corresponde ao principal fator de consumo de oxigênio, em razão da respiração aeróbica dos microrganismos (Sperling, 2009). Essa correlação pode ser observada, neste trabalho, durante os 90 dias de armazenamento, uma vez que houve decréscimo do teor de oxigênio dissolvido e sólidos dissolvidos.

Micropoluentes orgânicos à base fenol, foi avaliado em taninos, que apresentou valores acima do estabelecido pela Deliberação Normativa Conjunta

COPAM/CERH-MG n^o 1 de 5 de maio de 2008, justificando o não lançamento do vinhoto em corpos d'água, necessitando tratamento prévio.

A Concentração Efetiva Mediana (CE) variou de 0,36 na primeira amostra para 6,54 na sétima amostragem. Esses valores indicam que, com o passar do tempo, houve menor efeito deletério do vinhoto sobre os organismos teste (*Daphnia similis*). Corrobora esse resultado os valores de UT (Unidades tóxicas) que na primeira amostragem foi expressa em 277,78 UT e na sétima de 15,29 UT, portanto, menos unidades tóxicas foram obtidas no vinhoto com o período de 12 meses de armazenamento, com redução de 94,8% em sua toxicidade.

De acordo com os limites estabelecidos pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG n^o 1 de 5 de maio de 2008, os valores que atendem às exigências deste órgão são DQO, sólidos sedimentáveis, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal, cobre, ferro e zinco. Porém, os parâmetros cujos valores ficam fora do padrão estabelecido são taninos, DBO, sólidos suspensos totais, pH e manganês.

Dentre os possíveis efeitos poluidores do vinhoto, pode-se ressaltar: i) depósitos de lodo, ii) adsorção de poluentes, iii) proteção de patógenos, iv) consumo de O₂ acarretando mortandade de peixes e formação de ambiente anaeróbico, v) crescimento excessivo de algas decorrentes dos teores elevados de nitrogênio e fósforo, vi) toxicidade aos peixes em razão da presença de amônia e poluição da água subterrânea, vii) formação de espumas, redução da transferência de oxigênio, biodegradabilidade inexistente ou reduzida e maus odores decorrentes da presença de taninos, viii) salinidade excessiva, toxicidade à plantas e problemas de permeabilidade do solo, em razão dos teores elevados de sólidos dissolvidos e condutividade elétrica (Sperling, 2009).

Muitos produtores utilizam o vinhoto como fertilizante em razão dos altos teores de potássio. Isso acarreta um desequilíbrio de minerais no solo,

podendo resultar em poluição de águas (Demattê et al., 2004). Nesse trabalho, dentre os minerais avaliados, o potássio apresentou os maiores valores variando entre 600 a 48.500mg/L. De acordo com Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008 a disposição de efluentes no solo, não poderá causar poluição ou contaminação das águas, portanto, cabe nesse contexto uma avaliação mais rigorosa quanto a aplicação direta de vinhoto em solo.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar que o processo de armazenamento não é suficiente para promover a auto-depuração do vinhoto durante o período avaliado, o qual ultrapassa o período realizado pelos produtores. Com o armazenamento em tanque por seis meses, o vinhoto não pode ser reutilizado e tampouco descartado em corpos d'água. Assim, o vinhoto deveria passar por tratamento que vise a diminuir seu potencial efeito impactante ao ambiente.

5.2 Avaliação da diversidade microbiana

A diversidade microbiana durante o armazenamento do vinhoto em tanque foi agrupada em fungos leveduriformes, fungos filamentosos (Tabela 2) e bactérias (Tabela 3).

Das espécies de leveduras citadas na Tabela 2, observa-se que 33,3% só foram encontradas na fase de sobrenadante do vinhoto, 33,3% somente no lodo e as demais foram identificadas nas duas fases. Na primeira amostragem (um dia de armazenamento), só foram identificadas *Candida mesenterica* e *Filobasidiella depauperata*. Maior número de isolados foi relativo às espécies *Candida sake*. As espécies de leveduras cuja população foi mais representativa em relação à população microbiana total foram *Rhodotorula aurantiaca* e *Cryptococcus albidus*.

De acordo com a Tabela 2, pode-se observar que 54,8% das leveduras são fungos Basidiomicetos e 45,2% são Ascomicetos, diferenciadas pelo teste de DBB.

TABELA 2 Espécies de fungos encontrados em tanque de armazenamento de vinhoto, bem como a população média da espécie e a população total microbiana em cada tempo amostrado

Epécie	Tempo (dias)	Fase	Número de isolados	Média da População da espécie	Média da População total
FUNGOS LEVEDURIFORMES					
<i>Candida mesenterica</i>	01	100% sobrenadante	01	$1,2 \times 10^6$	$1,7 \times 10^7$
<i>Filobasidiella depauperata</i>		100% lodo	01	$3,3 \times 10^2$	$2,0 \times 10^3$
<i>Candida sake</i>	30	88% lodo 12% sobrenadante	08	$4,4 \times 10^9$	$1,3 \times 10^{10}$
<i>Candida tenuis</i>		100% sobrenadante	01	$1,3 \times 10^8$	$3,5 \times 10^8$
<i>Cryptococcus humicola</i>		100% lodo	01	$3,3 \times 10^6$	$2,3 \times 10^{10}$
<i>Debaromyces hansenii</i>		100% lodo	01	$3,3 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>		100% lodo	02	$9,4 \times 10^9$	$1,2 \times 10^{10}$
<i>Rhodotorula glutinis</i>		100% sobrenadante	01	$1,0 \times 10^7$	$3,0 \times 10^9$
<i>Sporobolomyces roseus</i>		50% lodo 50% sobrenadante	02	$7,5 \times 10^9$	$1,2 \times 10^{10}$
<i>Rhodotorula minuta</i>		75% lodo 25% sobrenadante	04	$7,2 \times 10^8$	$8,1 \times 10^9$
<i>Pichia farinosa</i>		60	100% sobrenadante	01	$3,3 \times 10^5$
<i>Cryptococcus albidus</i>	33% lodo 67% sobrenadante		03	$1,3 \times 10^9$	$2,8 \times 10^9$
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	67% lodo 33% sobrenadante		03	$7,6 \times 10^7$	$9,3 \times 10^7$
<i>Yarrowia lipolytica</i>	90	100% lodo	01	$3,5 \times 10^9$	$1,6 \times 10^{10}$
<i>Cryptococcus albidus</i>		33% lodo 67% sobrenadante	03	$1,3 \times 10^9$	$2,8 \times 10^9$
<i>Sporobolomyces roseus</i>		50% lodo 50% sobrenadante	02	$7,5 \times 10^9$	$1,2 \times 10^{10}$
<i>Rhodotorula minuta</i>		75% lodo 25% sobrenadante	04	$7,2 \times 10^8$	$8,1 \times 10^9$
<i>Candida diddensiae</i>	120	100% sobrenadante	01	$3,0 \times 10^6$	$1,8 \times 10^7$

...Continua...

“TABELA 2, Cont.”

<i>Rhodotorula minuta</i>	150	75% lodo 25% sobrenadante	04	$7,2 \times 10^8$	$8,1 \times 10^9$
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>		67% lodo 33% sobrenadante	03	$7,6 \times 10^7$	$9,3 \times 10^7$
<i>Rhodotorula minuta</i>		75% lodo 25% sobrenadante	04	$7,2 \times 10^8$	$8,1 \times 10^9$
FUNGOS FILAMENTOSOS					
<i>Aspergillus oryzae</i>	01 90	33% lodo 67% sobrenadante	03	$3,0 \times 10^2$	$3,4 \times 10^5$
<i>Penicillium citrium</i>	90 120	67% lodo 33% sobrenadante	03	$1,1 \times 10^9$	$3,8 \times 10^9$
<i>Penicillium funiculosum</i>	150	100% sobrenadante	02	$3,3 \times 10^7$	$1,1 \times 10^8$
<i>Trichoderma harzianum</i>	150	100% sobrenadante	01	$6,6 \times 10^6$	$2,1 \times 10^8$

Dos oito gêneros identificados, foi observado quanto à aparência microscópica que 75% formam filamentos e apresentam pseudohifas. Em relação à fisiologia, todos não fermentaram; 37,5% cresceram em alta pressão osmótica; 62,5% hidrolisaram uréia; 25% cresceram na presença de cicloheximida; 37,5% cresceram a 25 °C e 12,5% a 40 °C; todas as espécies identificadas cresceram em substrato com pouca fonte de carbono, não apresentaram bom crescimento em fonte de nitrogênio, não requereram suplementação de vitaminas.

De acordo com a Tabela 2, observou-se que *Rhodotorula mucilaginosa* apresentou maior densidade populacional e *Cryptococcus albidus* representou o maior percentual da população isolada quando comparado à população total, dentre as leveduras identificadas.

Segundo Barnett et al. (2000), as espécies identificadas já foram encontradas em resíduo de azeite de oliva (*Candida diddensiae*); cerveja, leite (*Candida mesenterica*); solo, água e sedimento (*Candida sake*); líquidos (*Candida tenuis*); tanque de purificação de água (*Cryptococcus albidus*); água de efluentes (*Cryptococcus humicola*); solo, atmosfera (*Debaromyces hansenii*);

atmosfera (*Filobasidiella*); cerveja, vinagre, fermentação cacau (*Pichia farinosa*); atmosfera, solo (*Rhodotorula aurantiaca*); atmosfera, água de rios, deterioração couro, água de cervejaria (*Rhodotorula glutinis*); atmosfera, água do mar, picles com 10% sal (*Rhodotorula minuta*); água de lago e rios, solo, atmosfera, larva de *Drosophila* (*Rhodotorula mucilaginosa*); atmosfera, sedimento de cerveja, solo (*Sporobolomyces roseus*); solo, contaminante na fermentação de óleos (*Yarrowia lipolytica*). Justificando a identificação no resíduo de vinhoto armazenado em tanque.

Quanto aos fungos filamentosos, 50% das espécies encontradas foram identificados na fase de sobrenadante do vinhoto e os demais nas duas fases que compõem este resíduo líquido. Não foram identificados com 30 e 60 dias de armazenamento em tanque, *Penicillium citrium* foi encontrado com população mais alta e com os maiores números de isolados.

Aspergillus oryzae está relacionado com a remoção da cor do vinhoto e purificação de efluentes; *Penicillium*, *Cladosporium*, *Trichoderma* e *Aspergillus* foram encontrados em água para consumo humano; *Penicillium funiculosum* está relacionado com apodrecimento de frutas; *Trichoderma harzianum* está relacionado ao ecossistema de solos (Sirianuntapiboon & Prasertsong, 2008).

Observou-se sucessão das espécies de fungos identificados, porém, algumas persistiram entre duas amostragens sucessivas e outras alteraram entre uma amostragem e outra. Apenas *Aspergillus oryzae* e *Rhodotorula aurantiaca* apresentaram maior intervalo de isolamento dentre o período avaliado. *Candida mesenterica* e *Filobasidiella depauperata* só foram encontradas com um dia e *Candida sake* foi isolada apenas com 30 dias de armazenamento do vinhoto em tanque.

De acordo com a Tabela 03, a população bacteriana foi agrupada em oito distintas caracterizações (grupos 1 a 8). Observou-se que entre os grupos 1 e 6, houve maior percentual de amostragem nos dias 60, 90, 30, 30 e 60, 120 nas

respectivas caracterizações com relação aos bastonetes, já quanto aos cocos ocorreu isolamento apenas com 30 dias de armazenamento do vinhoto. Portanto, verifica-se que houve um predomínio de isolados bastonetes em relação a cocos.

Dos isolados caracterizados, 56% são Gram-positivas, 24,6% esporularam, 16,4% apresentaram motilidade positiva e 83,8% são bastonetes.

Somente o grupo caracterizado como Gram-negativa, motilidade positiva, bastonete tiveram maior percentual de isolados amostrados do lodo, os demais grupos apresentaram sobreposição de isolados amostrados do sobrenadante do vinhoto Tabela 3.

TABELA 3 Caracterização da comunidade bacteriana isolada do vinhoto armazenado em tanque.

Características dos isolados	Grupos	Tempo (dia)	Fase	Número de isolados	Média da população do isolado	Média da população total
Gram-positiva, esporulada, móvel, bastonete	01	30 à 150	41% - lodo 59% - sobrenadante	22	$6,8 \times 10^8$	$1,1 \times 10^{10}$
Gram-positiva, esporulada, motilidade negativa, bastonete	02	01 à 150	34,2% - lodo 65,8% - sobrenadante	35	$1,3 \times 10^{10}$	$6,4 \times 10^{10}$
Gram-positiva, esporulação negativa, móvel, bastonete	03	01 à 150	46,1% - lodo 53,9% - sobrenadante	13	$3,0 \times 10^8$	$3,5 \times 10^9$
Gram-positiva, esporulação negativa, motilidade negativa, bastonete	04	01 à 150	41% - lodo 59% - sobrenadante	56	$5,5 \times 10^9$	$5,8 \times 10^{11}$
Gram-negativa, motilidade negativa, bastonete	05	01 à 150	52,6% - lodo 47,4% - sobrenadante	78	$7,0 \times 10^9$	$6,4 \times 10^{10}$
Gram-positiva cocos	07	30	10% - lodo 90% - sobrenadante	20	$2,7 \times 10^8$	$2,6 \times 10^{10}$
Gram-negativa cocos	08	30	11,1% - lodo 88,9% - sobrenadante	18	$7,2 \times 10^8$	$2,4 \times 10^{10}$
Gram-negativa, móvel, bastonete	06	90 e 120	66,6% - lodo 33,4% - sobrenadante	03	$5,4 \times 10^8$	$1,1 \times 10^9$

As bactérias constituem-se no grupo de maior presença e importância nos sistemas de tratamento biológico de efluentes. Considerando que a principal função desses sistemas é a remoção de DBO, as bactérias são os principais agentes deste mecanismo. Além da remoção da matéria orgânica carbonácea, podem ocorrer outros fenômenos como a conversão da amônia a nitrito este em nitrato e, posteriormente, nitrato em nitrogênio gasoso (Sperling, 2009).

De acordo com Sirianuntapiboon & Prasertsong (2008), os isolados bacterianos encontrados no vinhoto foram *Lactobacillus hilgardii*, *Bacillus* sp e bactérias acetogênicas. O gênero *Bacillus* é amplamente difundido no solo, água, ar e em condições adversas. Compreendem bastonetes Gram-positivos, esporulados e móveis, fatores que o enquadra no grupo 01. *Lactobacillus* são encontrados em água, caracterizados como Gram-positivos, móveis ou não, podendo ser enquadrados nos grupos 03 ou 04 dos isolados encontrados durante o armazenamento de vinhoto (Bergey's, 1974).

6 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia adotada, pode-se concluir que:

- Os parâmetros reduzidos com o armazenamento foram oxigênio dissolvido, DQO, cloretos, dureza total, cor, alcalinidade (total e em bicarbonatos), sólidos (totais, totais fixos, totais voláteis, sedimentáveis e dissolvidos totais), nitrogênio total, taninos, caroteno, nitrato, matéria seca, proteína, açúcares totais, glicose, sacarose, solubilidade, cobre, potássio e toxicidade
- Parâmetros que enquadram dentro dos índices Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008, foram DQO, sólidos sedimentáveis, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal, cobre, ferro e zinco.
- Parâmetros cujos valores ficam fora do padrão estabelecido pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008. são taninos, DBO, sólidos suspensos totais, pH e manganês.
- Os fungos identificados foram *Aspergillus oryzae*, *Penicillium citrium*, *Penicillium funicolosum*, *Trichoderma harzianum*, *Cândida diddensiae*, *Cândida mesenterica*, *Cândida sake*, *Cândida tenuis*, *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus humicola*, *Filobasidiella depauperata*, *Pichia farinosa*, *Rhodotorula aurantiaca*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula minuta* e *Rhodotorula mucilaginoso*.
- Dos isolados bacterianos caracterizados, 56% são Gram-positivas, 24,6% esporularam, 16,4% apresentaram motilidade positiva e 83,8% são bastonetes
- O processo de armazenamento não foi suficiente para promover a autodepuração do vinhoto
- Com o armazenamento em tanque por seis meses, o vinhoto não pode ser reutilizado e tampouco descartado em corpos d'água.
- O vinhoto deve passar por tratamento que vise a diminuir seu potencial efeito impactante ao ambiente

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19. ed. Washington, 1995. 1223p.

BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. **Yeasts: characteristics and identification**. Cambridge: Cambridge University, 2000.

BERGEY'S, D. H.; EARLE, R.; EDWIN, N. G. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1974. 967p.

BOOTH, C. **The Genus *Fusarium***. Farnham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux/ Commonwealth Mycological Institute, 1971. 237p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Água: teste de toxicidade aguda com *Daphnia silimis* Claus, 1876**. (Cladocera, Crustácea), 1986. São Paulo, 1986. 28p.

DEMATTÊ, J. A. M.; GAMA, M. A. P.; COOPER, M.; ARAÚJO, J. C.; NANNI, M. R.; FIORIO, P. R. Effect of fermentation residue on the spectral reflectance properties of soils. **Geoderma: an international journal of soil science**, Amsterdam, v. 120, n. 3/4, p. 187-200, June 2004.

DIAS, A. M. P.; BRENTANO, D. M.; CARVALHO-PINTO, C. R. S.; MATIAS, W. G. Avaliação de toxicidade aguda de fluidos de corte utilizados em processos de usinagem usando como organismo teste *Poecilia reticulata* e *Daphnia magna*. **Biotemas**, Florianópolis, v. 19, n. 3, p. 7-13, set. 2006.

HAWKSWORTH, D. L.; PITT, J. I. A new taxonomy for *Monascus* species based on cul- tural and microscopical characters. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 31, n. 1, p. 51-61, 1983.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787 p.

LIU, J.; BJORNSSON, L.; MATTIASSON, B. Immobilised activated sludge based biosensor for biochemical oxygen demand measurement. **Biosensors & Bioelectronics**, Essex, v. 14, n.12, p. 883-893, 2000.

MANCINE, L.; FORMICHETTI, P.; D'ANGELO, A. M.; PIERDOMINICI, E.; SORACE, A.; BOTTONI, P.; IACONELLI, M.; FERRARI, C.; TANCIONI, L.; ROSSI, N.; ROSSI, A. Freshwater quality in urban areas: a case study from Rome, Italy. **Microchemical Journal**, New York, v. 79, n. 1/2, p. 177-183, Jan. 2005.

MINAS GERAIS. Deliberação normativa conjunta COPAM/CERH-MG nº1, de 05 de maio de 2008. Dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. **Minas Gerais**, Poder Executivo, Belo Horizonte, 5 maio 1987. Disponível em: <
<http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=Delibera%C3%A7%C3%>>. Acesso em: 14 dez. 2009.

MINAS GERAIS. Deliberação normativa COPAM nº10, de 16 de dezembro de 1986. Estabelece normas e padrões para qualidade das águas, lançamento de efluentes nas coleções de águas, e dá outras providências. **Minas Gerais**, Poder Executivo, Belo Horizonte, 10 jan. 1987. Disponível em: <
http://www.paas.uff.br/legisla/copam10_86.pdf>. Acesso 22 dez. 2009.

NAVARRO, A. R.; SEPÚLVEDA, M. D. C.; RUBIO, M. C. Bio-concentric of vinasse from the alcoholic fermentation of sugar cane molasses. **Waste Management**, Oxford, v. 20, n. 7, p. 581-585, Nov. 2000.

OSHIROM, N. I.; SANTOS, A. M.; ANGELIS, D. F.; OLIVEIRA, V.I.A. Avaliação de biodegradabilidade de efluentes de indústrias de produtos químicos. In: SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA, 3., 2007, Rio Claro. **Anais...** Rio Claro: UNESP, 2007.

PHISALAPHONG, M.; LOETSRIMONGKHON, T.; HEMPENSTALL, C.; CRUZ, J. D. Re-use of cane molasses alcohol stillage in single cell protein production by fed-batch reactor. In: REGIONAL SYMPOSIUM ON CHEMICAL, 11., 2004, Bangkok. **Anais...** Bangkok: Nayang Technological University, 2004. CD-ROM.

PITT, J. I. **A Laboratory guide to common *Penicillium* species**. North Ryde: Commonwealth Scientific, 1988. 187p.

RAPER, K. B.; FENNELL, D. I. **The Genus *Aspergillus***. Baltimore: Willians & Wilkins, 1965.

RAYMOND, J. W.; ROGERS, T. N.; SHONNARD, D. R.; KLINE, A. A. A review of structure-based biodegradation estimation methods. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 84, n. 2/3, p. 189-215, June 2001.

SELIM, M. H.; ELSHAFEI, A. M.; EL-DIWANY, A. I. Production of single cell protein from yeast strains grown in Egyptian vinasse. **Bioresource Technology**, Essex, v. 36, n. 2, p. 157-160, 1991.

SIRIANUNTAPIBOON, S.; PRASERTSONG, K. Treatment of molasses wastewater by acetogenic bacteria BP103 in sequencing batch reactor (SBR) system. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 6, p.1806-1815, Apr. 2008.

SPERLING, M. Von. **Estudo e modelagem da qualidade da água de rios**. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 2007. 588p.

CAPÍTULO 3

VINHOTO: MONITORAMENTO DE PARÂMETROS FÍSICO- QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS NAS ETAPAS DA NEUTRALIZAÇÃO DE IMPACTO AMBIENTAL

1 RESUMO

As destilarias representam atividades industriais que geram grandes volumes de resíduos líquidos. Na produção de cachaça, a produção de vinhoto é de cerca de 4 litros por litro de cachaça, surgindo a necessidade de uma tecnologia aplicável ao pequeno produtor, com capacidade de ser utilizada também pelas grandes empresas de bebidas e bioetanol. Nesse sentido, para o desenvolvimento de tecnologias e para aprimorar os processos de decomposição da matéria orgânica, é essencial que se relacione a população microbiana com a diminuição do impacto ambiental causado pelo vinhoto. Conduziu-se esta pesquisa com o objetivo de relacionar a população microbiana que se desenvolvem espontaneamente durante o tratamento do vinhoto e avaliar os impactos ao ambiente por meio dos parâmetros físico-químicos e toxicológicos do vinhoto. Muitos produtores de cachaça de Minas Gerais, para atender à regulamentação ambiental, constroem tanques de deposição de vinhoto, os quais passado a entressafra precisarão de um destino. Buscando alternativas para solucionar tal fato, foram realizados quatro distintos tratamentos, sendo que o tratamento IV trata-se do processo integral e os demais são subdivisões do tratamento IV. As etapas do tratamento IV são fermentação com agitação tumultuosa, filtração, formação de flocos químicos, filtração, fermentação com aeração lenta, filtração, inibição do poder corrosivo, clareamento e desinfecção. O tratamento IV apresentou os melhores resultados referentes a oxigênio dissolvido, DBO, DQO, sólidos suspensos totais, cobre, ferro e zinco, quando comparado aos demais tratamentos. O tratamento IV possibilitou maior redução dos parâmetros normalizados pelo COPAM, além de reduzir parâmetros não normalizados. Os parâmetros DQO, sólidos sedimentáveis e taninos apresentaram valores acima dos índices permitidos pelo COPAM. Houve redução da população microbiana de aproximadamente 7 ciclos log e toxicidade aguda de 98,6%. É preciso que haja um aperfeiçoamento das etapas do tratamento IV a fim de atender às exigências do COPAM para o resíduo lançado nos corpos d'água ou para este resíduo (vinhoto), após o tratamento ser usado como água de reuso para lavagem de instalações industriais. Portanto, para otimizar o tratamento, faz-se necessário eliminar a etapa de fermentação com agitação tumultuosa; aumentar o período fermentativo com fermentação lenta, flocos químicos e adição de ortopolifosfato.

2 ABSTRACT

Distilleries represent industrial activities that generate large volumes of liquid waste. In the production of rum, the production of vinasse is about 4 liters per liter of spirit, resulting in the need for a technology for small and medium producer, with capacity to be used also by the large industries of cachaça and bioethanol. In this sense, the development of technologies to improve the processes of decomposition of organic matter is essential to reduced environmental impact caused by vinasse. The aims of this work were to relate the microbial populations that develop spontaneously during the treatment of vinasse and evaluate the impacts to the environment by analysing physico-chemical and toxicological changes in the vinasse. The objectives of this work were to submit the vinasse to four different microbiological and physico-chemical treatments. The steps in the IV treatment were stirred tumultuous fermentation, filtration, formation of flakes chemicals, filtration, slow fermentation with aeration, filtration, inhibition of the corrosive power, bleaching and disinfecting. The IV treatment showed the best results for dissolved oxygen, BOD, suspended solids, copper, iron and zinc, when compared to other treatments. The IV treatment allowed further reduction of the standard parameters established by COPAM and also reduced others non-standard parameters. The parameters DQO, sediment solids and tannins showed higher levels than the levels allowed by COPAM. There was a reduction of the microbial population of approximately 7 log cycles and toxicity of 98.6%. According to these results it will be necessary a further step in the IV treatment in order to meet the demands of COPAM to waste released in the ponds or vinasse after treatment to be used as recycled water for irrigation. Therefore, to optimize treatment, it is necessary to eliminate the step of fermentation with tumultuous agitation, increasing the slow fermentation period, addition of chemicals.

3 INTRODUÇÃO

A dependência entre seres vivos e o curso d'água foi de fundamental importância histórica no desenvolvimento e progresso da civilização. De fato, da proximidade com a água provêm benefícios para muitas atividades humanas como agricultura e pecuária, transporte, defesa, regulação climática e saúde pública. A fonte de poluição é a principal causa do impacto da qualidade da água em áreas urbanas, que pode ser alterada pelos impactos das atividades humanas. Os poluentes como os metais pesados, substâncias tóxicas, nutrientes, óleos e gasolina e a poluição orgânica podem contribuir para a deterioração da qualidade da água (Mancini et al., 2005).

Dentre os poluentes orgânicos de grande impacto ambiental estão os sub-resíduos agroindustriais, como o vinhoto. O vinhoto é um resíduo líquido, considerado como um poluente orgânico, resultante da destilação do caldo de cana-de-açúcar, para obtenção de bebidas alcoólicas como aguardente, cachaça e rum e no processamento de bioetanol. O vinhoto, também conhecido como vinhaça, calda, garapão, entre outros nomes, é o principal efluente das destilarias de álcool. O vinhoto representa a maior vazão de saída do processo de destilação do álcool de cana-de-açúcar, correspondendo de 13-17 litros por litro de álcool. Enquanto na produção de cachaça, a produção de vinhoto é de cerca de 4 litros por litro de cachaça, o vinhoto é gerado na proporção de 15 a 17% do caldo trabalhado (Cardoso, 2001). Basicamente, em função da sua riqueza em matéria orgânica, apresenta elevado índice de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), caracterizando-se como poluente quando descartado na água. Tendo em vista os nutrientes (principalmente o potássio) e a matéria orgânica que contém, a vinhaça tem sido utilizada nas lavouras de cana em substituição parcial ou total da adubação mineral (Lorenzetti & Freitas, 1978).

Os processos físico-químicos de tratamento do vinhoto são de alto custo, principalmente em razão da grande quantidade de água presente (cerca de 95%), a qual exige gasto elevado de energia para ser separada da parte de interesse. Isso indica que os processos fermentativos de tratamento são mais viáveis economicamente, podendo reduzir a Demanda Bioquímica de Oxigênio (D.B.O.) do vinhoto com a produção de biomassa e possibilitando o despejo do efluente nos cursos d'água ou seu uso para outros fins (Macedo, 1998).

A utilização do vinhoto em processos fermentativos aeróbicos é viável uma vez que é rico em carbono e alguns sais como de potássio e cálcio, tornando-se potencialmente uma fonte importante de matéria prima na preparação de substrato para crescimento de microrganismos. Existe, entretanto, a necessidade de isolar microrganismos com capacidade potencial de crescimento em vinhoto, que possam produzir uma biomassa celular em qualidade e quantidade razoáveis e que consigam metabolizar esse resíduo, diminuindo a sua atuação poluente.

O desafio da melhor utilização de resíduos não é um assunto novo, uma vez que há muito tempo vem sendo considerado por diversos pesquisadores (Molino et al., 1984; Nussio & Balsalobre, 1993; Cortez & Pérez, 1997; Navarro et al., 2000). Os mais variados esforços têm sido feitos por pessoas em diferentes partes do mundo, principalmente em países produtores de açúcar e álcool visando a adequar subprodutos da cana-de-açúcar para uso, por exemplo, em sistemas de alimentação animal (Nussio & Balsalobre, 1993).

Para o desenvolvimento de tecnologias e para aprimorar os processos de decomposição da matéria orgânica, é essencial que se conheçam os microrganismos presentes no processo e o papel que ele desempenham durante a estocagem do vinhoto. Portanto, a crescente compreensão sobre a necessidade de se considerar os aspectos ambientais relacionados aos resíduos agroindustriais, obtendo, com isso, vantagens ecológicas e econômicas, surge a necessidade de

uma tecnologia aplicável ao pequeno produtor, com capacidade de ser abrangida pelas grandes empresas de bebidas e bioetanol. Nesse sentido, aplica-se este trabalho, visando a um tratamento intercalado de processos físico-químicos, aerobiose e anaerobiose no resíduo líquido oriundo da destilação do caldo de cana-de-açúcar fermentado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Quantidade de vinhoto a ser tratado

Duzentos e cinquenta litros de vinhoto oriundos de cachaçaria da cidade de Perdões foram coletados na safra de 2007-2008. Este volume foi subdividido em 5 amostras de 40L para a execução dos tratamentos I, II, III e IV, cuja descrição encontra-se abaixo.

O restante do vinhoto foi utilizado pra a multiplicação da microbiota presente no lodo. O volume final para esta etapa foi de 4L, o que correspondeu a 10% do volume total a ser utilizado em cada um dos tratamentos (Poole et al., 1999; Mantzavinos et al., 2001; Rajoka et al., 2006; Khardenavis et al., 2007).

4.2 Etapas do tratamento do vinhoto

O tratamento do vinhoto foi subdividido em quatro tratamentos, sendo que o tratamento IV tratou-se do processo integral e os demais tratamentos (de I a III) foram subdivisões do tratamento IV, como demonstrado nas Figuras 01, 02 e 03. As etapas do tratamento do vinhoto foram constituídas por tanques dispostos em níveis diferentes, permitindo o fluxo do efluente por gravidade. Os tanques foram dispostos de acordo com as fases do tratamento, sendo iniciado pelo tanque com vinhoto a ser tratado (Tabela 01).

Quarenta litros de vinhoto foram acondicionados em um tanque com capacidade de 45 L (tanque 1) em períodos distintos de acordo com o tipo de tratamento utilizado. Desse tanque, o vinhoto foi lançado ao tanque seguinte para proceder as etapas do tratamento (Priant Júnior et al. 1998; Lucas et al. 2005; Amuda & Amoo, 2006; Araújo Júnior, 2006; Satyawali & Balakrishnan, 2008).

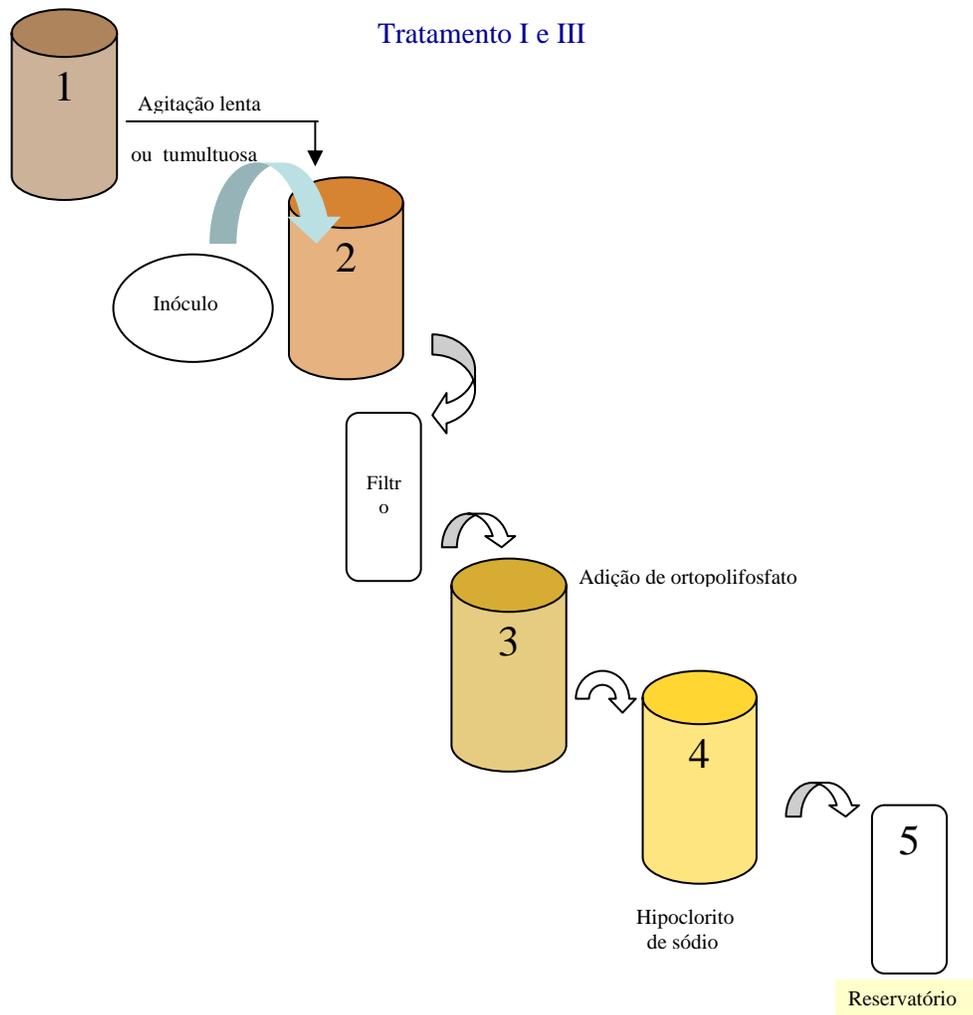


FIGURA 1 Representação das etapas do tratamento I e III

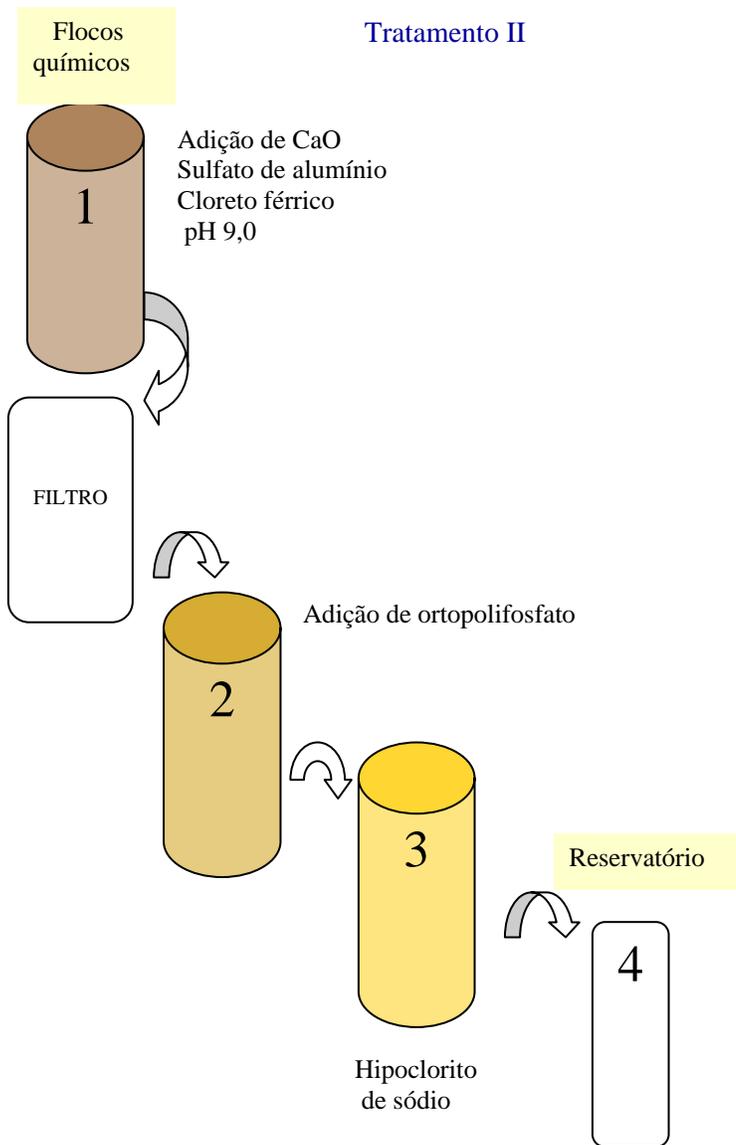


FIGURA 2 Representação das etapas do tratamento II

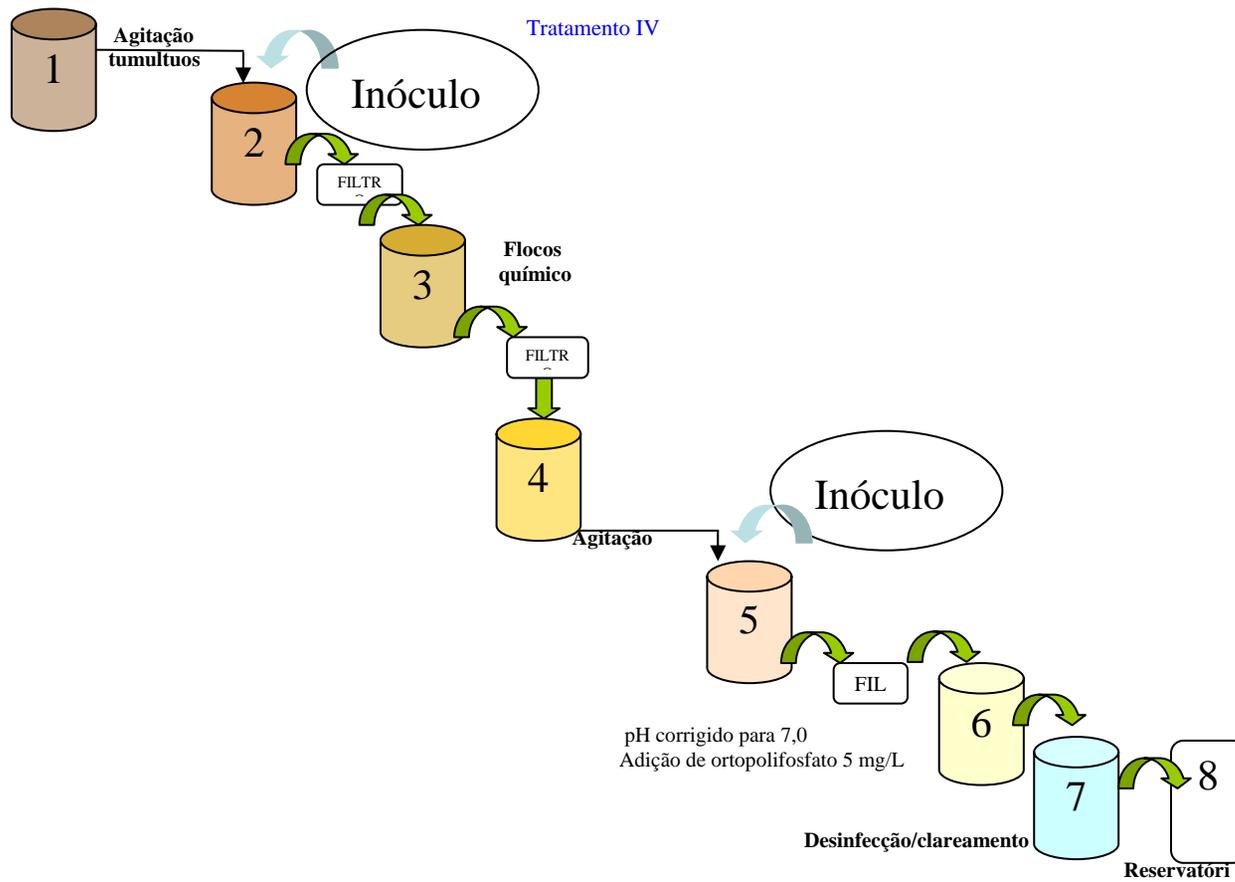


FIGURA 3 Representação das etapas do tratamento IV

TABELA 1 Subdivisão dos quatro tratamentos do vinhoto

Tipos de tratamento			Etapas	Ilustração	Procedimentos	Objetivo	Tempo da etapa (h)
T R A T A M E N T O I V		T R A T A M E N T O I	Vinhoto fresco (tanque 01)		Será utilizado como efluente	Efluente a ser tratado	-
			Fermentação com agitação tumultuosa (tanque 02)		Inoculação de lodo ativado e adição do efluente na vazão de 4,4L/min	Biodegradação	24 h
			Filtração		Filtro composto formado por camadas de cascalho, brita zero, areia grossa e areia fina	Separação de partículas em suspensão	-
	T R A T A M E N T O I I		Flocos químicos (tanque 03)		Formação de flocos pela adição de Cão, sulfato de alumínio e cloreto férrico	Decantação de partículas em suspensão	6h
			Filtração		Filtro composto	Separação de partículas em suspensão	-

...Continua...

“TABELA 1, Cont.”

	T R A T A M E N T O I I I			Fermentação com aeração lenta (tanque 04)		Inoculação de lodo ativado e adição do efluente na vazão de 0,4L/min	biodegradação	24h
				Filtração	-	Filtro composto	Separação de partículas em suspensão	-
		T R A T A M E N T O I I	T R A T A M E N T O I	Neutralização (tanque 05)		Adição de ortopolifosfato	Inibição do poder corrosivo	6h
				Desintoxicação (tanque 06)	-	Adição de hipoclorito de sódio	Clareamento e desinfecção	6h
				Vinhoto tratado (tanque 07)		Reserva final	Produto sem capacidade de causar impactos ambientais	-

4.3 Obtenção do lodo ativado

Para a obtenção de quantidade suficiente de lodo ativado, foram desenvolvidos dois tratamentos, por um período de 8 dias. Para a obtenção do lodo na remoção biológica de nutrientes (BNR) na planta do tratamento do resíduo líquido, a batelada foi operada continuamente em ciclos de 24 horas sucessivas (Lucas et al., 2005; Khardenavis et al., 2007).

O volume inicial para a obtenção de biomassa foi de 80 mL do lodo decantado no tanque, seguido de inoculações sucessivas com o mesmo tipo de lodo, no decorrer de 7 dias com um volume de 70 mL, a cada 24 horas.

Cada ciclo consistiu em 2 etapas: etapa 1 – agitação a 150 rpm/12 h; etapa incubado sem rotação por 12 horas. Esse tratamento foi realizado em shaker, a 150 rpm, à temperatura ambiente, com o tempo de retenção de 8 dias.

Em escala de laboratório, o lodo obtido do vinhoto foi utilizado como inóculo na segunda e sexta etapas do tratamento do vinhoto (Lucas et al., 2005; Selim et al., 1991, Khardenavis et al., 2007).

4.4 Análises físico-químicas

As análises referentes à DBO, DQO, pH, sólidos totais, sólidos totais fixos, sólidos totais voláteis, sólidos sedimentados, sólidos suspensos totais, sólidos dissolvidos totais, turbidez, cor, cloro livre, alcalinidade bicarbonatos, dureza, cloreto, sulfato, condutividade elétrica, ATT (acidez total titulável), oxigênio dissolvido, nitrogênio (total e amoniacal), fósforo, taninos, fosfato, nitrato, pectina total, nitrito, cobre, ferro, manganês, zinco e potássio, foram realizadas segundo APHA

4.5 Análises microbiológicas

As amostras foram plaqueadas em quatro diferentes meios de cultivo utilizando-se a técnica de espalhamento em superfície a partir de diluições

decimais. Os meios utilizados foram: Meio 1 – YEPG (em g/l: extrato de levedura, 10,0; peptona de soja, 20,0; glicose 20,0); Meio 2 – meio 1 acrescido de 600 mL de vinhoto e adicionado 1,5 mg/L de uréia e sulfato de amônio a 0,05%, adaptando-se as metodologias descritas por Liu et al. (2000) e Muenduem et al. (2004); Meio 3 – 1,0 L de vinhoto com pH ajustado entre 6,0 – 6,5; Agar 15,0 (Selim et al., 1991); Meio 4 – 300 mL caldo de cana-de-açúcar, 0,3g/L $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$; 1,0 g/L $(NH_4)_2SO_4$; 0,5 g/L KH_2PO_4 e 600 mL de vinhoto (Navarro et al., 2000).

As placas, contendo os diferentes meios de cultivo após repicagem, foram incubadas a temperatura de 28°C por 48 horas. As colônias que apresentaram morfotipos diferentes, perante a caracterização macroscópica da amostragem do vinhoto foram isoladas considerando-se a raiz quadrada do número de colônias obtidas nas placas contendo entre 30 e 300 colônias. As colônias selecionadas foram submetidas ao preparo de lâminas coradas simples e diferencial além de testes morfológicos e bioquímicos preliminares como catalase, oxidase, fermentação de glicose, esporulação e motilidade.

Os isolados foram preservados a -80 °C usando-se glicerol (40%) como crio-protetor.

4.6 Análise de toxicidade

O índice de toxicidade aguda foi efetuado com microcrustáceos *Daphnia similis*, no vinhoto (antes do tratamento) e no vinhoto tratado, de acordo com CETESB (1986), Mancini et al. (2005), Oshiom et al. (2007) e Dias et al. (2006).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Resultados dos quatro tratamentos

As características físico-químicas e microbiológicas do vinhoto fresco submetido aos diferentes tratamentos encontram-se na Tabela 2. Todos os tratamentos diferiram-se quanto às soluções químicas empregadas, vazão do efluente e etapas de fermentação.

5.1.1 Tratamento I

No tratamento I, a vazão do efluente é de 4,4 L/min permitindo que no tanque de fermentação ocorra maior homogeneização e aeração do meio na fase de lançamento do efluente, cuja etapa posterior proporcionará maior período de anaerobiose.

Dentre os macronutrientes avaliados, o fósforo variou entre 100 e 200 mg/L; magnésio variou de 100 a 200 mg/L; cálcio não apresentou alteração de valores (200 mg/L) e potássio apresentou os maiores valores entre 600 e 900 mg/L. Esse tratamento não foi eficaz para reduzir os valores dos macronutrientes analisados entre as fases inicial (tanque 1) e final (tanque 5).

No final desse tratamento, pode-se observar que parâmetros com limites estabelecidos pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008, como DBO (43,3%), DQO (45,5%) e taninos (14,5%), apresentaram redução, porém estes valores ultrapassam em mais de 1000% os limites legais (Tabela 2).

TABELA 2 Resultados de análises físico-químicas e microbiológica em cada tanque do tratamento I do vinhoto

PARAMETROS	Limites COPAM	TANQUE 01 Vinhoto fresco	TANQUE 02 Agitação tumultuosa	TANQUE 03 Filtrado	TANQUE 04 Ortopolifosfato	TANQUE 05 Hipoclorito de sódio a 4%
PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO GENÉRICOS						
pH	6,0 a 9,0	3,17	3,2	3,58	7,05	7,27
ATT (acidez total titulável)	-	10,83	-	-	-	0,4
Cor mg Pt/L	-	974	951	1460	1992	385
Turbidez N.T.U.	-	141	120,2	92,7	263	60,8
PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO DO GRAU DE MINERAÇÃO						
Alcalinidade bicarbonatos mg/L	-	115,5	119,8	99,6	116,3	424
Condutividade elétrica mS/cm	-	4997,6	5001,7	4650	6240	1200
Sólidos dissolvidos totais mg/L	-	27031	26053	26145	4232	12173
Dureza total mg/L em CaCO ₃	-	3085	3105	2850	694	192
PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DO GRAU DE OXIGENAÇÃO E DA POLUIÇÃO ORGÂNICA						
Oxigênio dissolvido mg/L	-	0,7	0,8	0,3	3,7	0,4
DBO mg/L	60 mg/L redução mínima de 75%	6400	6350	6840	2400	2533,3
DQO mg/L	180 mg/L redução mínima de 70%	42550	44500	13600	13975	15900
PRESENÇA DE SÓLIDOS						
Sólidos suspensos totais mg/L	100 mg/L	840	796	1636	2983	1417
Sólidos sedimentáveis mg/L	1mL/L	0,1	0,1	0,3	2,0	0,5
Sólidos totais mg/L	-	27871	26849	27781	7215	13590

...Continua...

“TABELA 2, Cont.”

Sólidos totais fixos mg/L	-	21314	19749	21482	6056	11251
Sólidos totais voláteis mg/L	-	6557	7100	6299	1159	2339
TEOR DE NUTRIENTES						
Nitrogênio total mg/L	20,0 mg/L N	4,02	4,12	3,80	3,8	2,9
Nitrogênio amoniacal mg/L	20,0 mg/L N	2,09	3,21	2,45	2,2	1,8
Nitrato mg/100g	-	443,76	-	-	-	381,77
Pectina total mg/100g	-	65,16	-	-	-	77,79
Pectina solúvel	-	16,66	-	-	-	13,39
PRESENÇA DE SAIS						
Cloretos mg/L	-	125	141	31	120	25
PRESENÇA DE ELEMENTOS-TRAÇO E EVENTUAIS CONTAMINANTES						
Cobre mg/L	1,0 mg/L Cu	1,7	0,8	0,5	1,2	0,7
Ferro mg/L	15,0 mg/L Fe	7,8	7,3	15,4	16,1	5,1
Manganês mg/L	1,0 mg/L Mn	1,4	1,5	4,2	7,8	0,1
Zinco mg/L	5,0 mg/L Zn	1,3	1,3	6,1	7,7	0,5
Taninos mg/100g	0,2 mg/L C ₂ H ₅ OH	19,921	-	-	-	14,889
POPULAÇÃO TOTAL DA MICROBIOTA						
Meio de cultivo 1 UFC/mL	-	1,41 x 10 ⁷	4,1 x 10 ⁶	1,7 x 10 ⁶	4,53 x 10 ⁴	6,2 x 10 ³
Meio de cultivo 2 UFC/mL	-	9,57 x 10 ⁶	2,84 x 10 ⁶	1,29 x 10 ⁶	1,5 x 10 ³	5 x 10 ²
Meio de cultivo 3 UFC/mL	-	1,87 x 10 ⁷	2,24 x 10 ⁶	1,25 x 10 ⁶	1,4 x 10 ³	1,47 x 10 ⁴
Meio de cultivo 4 UFC/mL	-	5,72 x 10 ⁶	7,6 x 10 ⁵	5,71 x 10 ⁵	2,5 x 10 ³	3,5 x 10 ²

De acordo com a Tabela 2, pode-se observar que após a fermentação houve redução nos valores de DBO (0,3%), sólidos suspensos totais (2,7%), cobre (36%) e ferro (3,3%). Apresentaram aumento, nessa fase do tratamento I, oxigênio dissolvido (6,7%), DQO (2,3%), nitrogênio total (1,3%), nitrogênio amoniacal (21,1%), pH (0,5%) e manganês (3,5%).

A redução do valor de DBO é justificada pela presença da microbiota natural do vinhoto somado ao inoculo adicionado (lodo ativado). A redução desse item foi baixa, se considerarmos a população microbiana presente após esta etapa que era de aproximadamente $1,5 \times 10^{11}$ UFC/mL no lodo e de $4,1 \times 10^6$ UFC/mL no sobrenadante. Essa microbiota pode ter sido sustentada pelo consumo de glicose, sacarose, pectina solúvel e taninos.

Pela adição de hipoclorito de sódio (Tabela 2 – tanque 5), foi possível verificar redução nos valores de oxigênio dissolvido (80,5%), sólidos suspensos totais (35,5%), sólidos sedimentáveis (60%), nitrogênio total (13,5%), nitrogênio amoniacal (10%), cobre (26,3%), ferro (51,9%), manganês (97,5%) e zinco (87,9%).

Na Tabela 2 (Tanque 4), pode-se verificar que o oxigênio dissolvido e pH teve aumento significativo com a adição de ortopolifosfato; DBO e sólidos sedimentáveis, apresentou maior percentual de redução com adição de ortopolifosfato; DQO, nitrogênio amoniacal, foi mais reduzida após filtração; sólidos suspensos totais, nitrogênio total, ferro, manganês, zinco, teve melhor percentual de redução com adição de hipoclorito de sódio a 4%; cobre foi melhor reduzido após fermentação.

De acordo com a subdivisão das caracterizações dos itens avaliados (Tabela 2), observou-se que cada etapa do tratamento influenciou aumentando ou reduzindo os valores dos parâmetros. Portanto, na caracterização genérica

com adição de hipoclorito de sódio foram reduzidos e aumentados os teores dos parâmetros.

A caracterização do grau de mineração foi reduzida com adição de ortopolifosfato, filtração e com adição de hipoclorito de sódio. Parâmetros que caracterizam a presença de sais e de elementos-traço foram reduzidos com adição de hipoclorito de sódio.

Avaliação do grau de oxigenação e poluição orgânica foram reduzidos com adição de ortopolifosfato e filtração, e aumentados com adição de ortopolifosfato. A caracterização da presença de sólidos foi reduzidos com adição de ortopolifosfato e adição de hipoclorito de sódio. Parâmetros que caracterizam a presença de nutrientes foram reduzidos após filtração e com adição de hipoclorito de sódio. Nesse contexto, observa-se que com adição de hipoclorito de sódio houve maior redução, seguido pela adição de ortopolifosfato, filtração e fermentação, respectivamente.

Portanto, foi observado que quanto a DQO as fases do tratamento I foram ineficientes, uma vez que na maioria das fases houve aumento e não redução deste parâmetro como esperado. Assim, o tratamento I não atinge as expectativas para o tratamento de vinhoto com a finalidade de ser lançado em corpos d'água, necessitando estudo mais detalhado das fases que o compõem.

De acordo com a Figura 4, pode-se observar que o aspecto morfológico das colônias, assim como a densidade populacional, variaram entre os diferentes meios utilizados. Os meios de cultivo microbiano 1 e 3 não diferiram quanto a população microbiana cultivável, apresentando as maiores densidades populacionais. No meio 2, foi possível maior população microbiana que no meio de cultivo 4, porém ambos apresentaram os menores valores quanto a microbiota.

Observou-se que com o meio 1 (YEPG) foi possível detectar variação na população de $1,52 \times 10^{11}$ a $6,2 \times 10^3$ UFC/mL, dentre as fases de fermentação e adição de hipoclorito de sódio.

No meio 3 (vinhoto e ágar), observou-se que entre as fases de fermentação e adição de hipoclorito de sódio, a população microbiana variou de $1,49 \times 10^{11}$ a $1,47 \times 10^4$ UFC/mL.

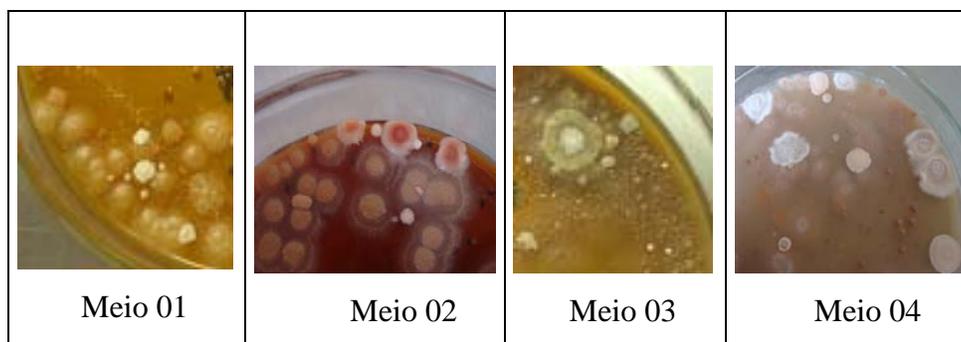


FIGURA 4 Amostragem da população microbiana presente nos quatro meios de cultivo do tratamento I

Menor população microbiana foi observada no meio 4 com variação entre $1,76 \times 10^9$ e $3,5 \times 10^2$ UFC / mL, valores encontrados na fase de lodo na fermentação e adição de hipoclorito, respectivamente.

Pode-se observar que desde a etapa de filtração houve diminuição da população microbiana, principalmente após as etapas 4 e 5, o que já era esperado, uma vez que tanto o ortopolifosfato como o hipoclorito de sódio são desinfetantes usados nos tratamentos de purificação de água (Priant Júnior et al., 1998).

Portanto, os dados obtidos com a população microbiana e os valores das análises físico-químicas, apresentaram maior redução nas últimas fases do tratamento I.

5.1.2 Tratamento II

O tratamento II diferiu do tratamento I pelo processo de flocos químicos em vez do processo fermentativo. Os resultados obtidos em análises constam na Tabela 3.

TABELA 3 Resultados de análises físico-químicas e microbiológica em cada tanque do tratamento II do vinhoto

PARAMETROS	Limites COPAM	TANQUE 01 Vinhoto fresco	TANQUE 02 Flocos químicos	TANQUE 03 Filtrado	TANQUE 04 Ortopolifosfato	TANQUE 05 Hipoclorito de sódio a 4%
PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO GENÉRICOS						
pH	6,0 a 9,0	3,17	6,22	6,09	6,3	6,47
ATT (acidez total titulável)	-	10,83	-	-	-	0,5
Cor mg Pt/L	-	974	730	464	509	374
Turbidez N.T.U.	-	141	194	311	219	137
PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO DO GRAU DE MINERALIZAÇÃO						
Alcalinidade bicarbonatos mg/L	-	115,5	18,3	520,5	590,1	446
Condutividade elétrica mS/cm	-	4997,6	5040	1230	1039	2490
Sólidos dissolvidos totais mg/L	-	27031	19235	26878	4408	9271
Dureza total CaCO ₃	-	3085	314	218	676	348
PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DO GRAU DE OXIGENAÇÃO E DA POLUIÇÃO ORGÂNICA						

...Continua...

“TABELA 3, Cont.”

Oxigênio dissolvido	-	0,7	2,6	0,3	0,2	0,3
DBO mg/L	60 mg/L redução mínima de 75%	6400	683	2316,5	2050	3616
DQO mg/L	180 mg/L redução mínima de 70%	42550	4675	15800	13005	18350
PRESENÇA DE SÓLIDOS						
Sólidos suspensos totais mg/L	100 mg/L	840	4109	5118	972	853
Sólidos sedimentáveis mg/L	1mL/L	0,1	1,3	0,1	0,1	0
Sólidos totais mg/L	-	27871	23344	31996	5380	10124
Sólidos totais fixos mg/L	-	21314	3612	20408	4215	8879
Sólidos totais voláteis mg/L	-	6557	19732	11588	1165	1245
TEOR DE NUTRIENTES						
Nitrogênio total mg/L	20,0 mg/L N	4,02	4,8	4,2	3,8	3,2
Nitrogênio amoniacal mg/L	20,0 mg/L N	2,09	0,8	3,1	2,4	1,6
Nitrato mg/100g	-	443,76	-	-	-	203,54
Pectina total mg/100g	-	65,16	-	-	-	77,79
Pectina solúvel mg/100g	-	16,66	-	-	-	17,86
PRESENÇA DE SAIS						
Cloretos mg/L	-	125	55	88	52	21
PRESENÇA DE ELEMENTOS-TRAÇO E EVENTUAIS CONTAMINANTES						
Cobre mg/L	1,0 mg/L Cu	1,5	0,9	0,9	0,9	0,9
Ferro mg/L	15,0 mg/L Fe	10,8	5,9	5,9	6,2	6,2
Manganês mg/L	1,0 mg/L Mn	2,4	2,0	2,0	2,0	1,9
Zinco mg/L	5,0 mg/L Zn	0,3	0,4	0,4	0,6	1,3
Taninos mg/100g	0,2 mg/L C ₂ H ₅ OH	19.921	-	-	-	30.879
POPULAÇÃO TOTAL DA MICROBIOTA						
Meio de cultivo 1 UFC/mL	-	1,5 x 10 ⁵	1,06 x 10 ⁴	-	4,7 x 10 ⁴	9,9 x 10 ³
Meio de cultivo 2 UFC/mL	-	1,1 x 10 ⁴	2 x 10 ²	-	7,3 x 10 ³	1 x 10 ³
Meio 3 de cultivoUFC/mL	-	2,1 x 10 ⁴	1,5 x 10 ⁴	-	1,1 x 10 ⁴	1 x 10 ³
Meio de cultivo 4UFC/mL	-	4,8 x 10 ⁴	NC	-	9 x 10 ²	NC

No final das etapas do tratamento II (último tanque) pode-se verificar que os valores de DBO, DQO, sólidos suspensos totais, zinco e taninos foram superiores aos estabelecidos pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008., sendo que sólidos sedimentáveis, nitrogênio total e amoniacal, pH, cobre, ferro e zinco ficaram abaixo dos limites estabelecidos por lei.

Entre a etapa inicial (tanque 1) e final (tanque 5), observou-se que cálcio apresentou valores entre 200 e 2400 mg/L; magnésio e potássio permaneceram inalterados com o tratamento 100 mg/L e 1100 mg/L, respectivamente; apenas o macronutriente fósforo foi reduzido de 100 a 0,0 mg/L.

Nesse tratamento, após a fase de flocos químicos pode observar-se que há aumento do nível de oxigênio dissolvido e queda na magnitude de dez vezes da DBO e DQO, fatores positivos no tratamento do efluente, porém, houve aumento de quase cinco vezes dos sólidos suspensos totais, sendo, portanto, uma característica negativa da etapa de flocos químicos. O aumento dos sólidos suspensos na fase não corresponde a um aumento expressivo da turbidez do efluente sendo inicialmente de 141 passando a 194 N.T.U.

As fases de filtração e adição de ortopolifosfato resultaram em valores semelhantes para oxigênio dissolvido (média 0,25), DBO (média 2183 mg/L), e DQO (14 402 mg/L). A fase de adição de ortopolifosfato reduziu o valor de sólidos suspensos totais em valores próximos (972 mg/L) ao vinhoto não tratado, sendo que esse parâmetro foi reduzido após uso do hipoclorito de sódio (853 mg/L).

Açúcares totais apresentaram variação entre 0,2239 e 0,064, sendo que glicose variou de 0,1477 a 0,035 e sacarose de 0,0737 a 0,027. Nesse contexto observa-se que os açúcares estavam presentes no vinhoto a ser tratado em menor proporção, estimando-se que já havia sido degradada quase que integralmente durante a fabricação da cachaça.

Os outros itens avaliados (Tabela 3), de modo geral não apresentaram mudanças expressivas durante esse tratamento, com exceção de taninos, que após a fase de hipoclorito de sódio, apresentou aumento de 1,5 vezes ou seja, 30879 mg/100g, sendo que o permitido pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008 estimula máximo de 0,2 mg/L.

De acordo com a subdivisão das caracterizações dos itens avaliados (Tabela 3), observou-se que cada etapa do tratamento influenciou aumentando ou reduzindo os valores. Portanto, na caracterização genérica os valores foram aumentados com a fase de flocos químicos e reduzidos com adição de hipoclorito de sódio e filtração.

A caracterização do grau de mineração foi reduzida a fase de flocos químicos, filtração e com adição de ortopolifosfato. Caracterização da presença de sais e de elementos-traço foi reduzida na etapa de flocos químicos.

A avaliação do grau de oxigenação e poluição orgânica foram reduzidos e aumentados com a etapa de flocos químicos. Parâmetros que caracterizam a presença de sólidos foram reduzidos com adição de ortopolifosfato e filtração.

Caracterização da presença de nutrientes foi reduzida após a fase de flocos químicos, e hipoclorito de sódio. Assim, observa-se que com a fase de flocos químicos houve maior redução de valores, seguido pela adição de ortopolifosfato, adição de hipoclorito de sódio e filtração, respectivamente.

Desse modo, observa-se que esse tratamento só é recomendado se somente a etapa de flocos químicos fosse utilizada, uma vez que a DBO, DQO, dureza total, alcalinidade, sólidos, nitrogênio amoniacal, cobre e ferro apresentassem reduções expressivas dos seus valores, seguido da adição de hipoclorito a fim de proporcionar a desinfecção do efluente.

A população microbiana no vinhoto fresco foi em torno de 5×10^4 UFC/mL sofrendo variações durante as etapas do tratamento. Não houve diferenças expressivas na população microbiana obtida a partir dos diferentes meios de cultura. No entanto, pode-se observar que no final do tratamento houve redução da população comparado ao vinhoto não tratado de, em média, 1 ciclo log. Pode-se observar que o meio contendo vinhoto como substrato não apresentou diferença na população microbiana comparado ao meio YEPG após a fase química realizada (Tabela 03).

5.1.3 Tratamento III

O tratamento III consistiu nas etapas do tratamento II, sendo substituída a fase de flocos químicos pela etapa de fermentação. Essa fermentação consistiu de uma batelada alimentada tendo influxo do vinhoto de 0,04L/min, consistindo assim, o tanque 02 de um ambiente microaerofílico.

Dentre os macronutrientes avaliados, o potássio apresentou os maiores valores, variando de 600 a 1200 mg/L dentre as etapas realizadas, fósforo não foi alterado com valor de 100 mg/L; cálcio e magnésio apresentou os mesmos resultados entre 100 e 200 mg/L. Apenas o fósforo foi reduzido com este tratamento.

As análises físico-químicas e microbiológicas do vinhoto em cada etapa do tratamento encontram-se na Tabela 4. Pode-se observar que os teores de oxigênio dissolvido não sofreram alterações expressivas, sendo o valor máximo obtido no tratamento com adição de ortopolifosfato.

TABELA 4 Resultados de análises físico-químicas e microbiológica em cada tanque do tratamento III do vinhoto

PARAMETROS	Limites COPAM	TANQUE 01 Vinhoto fresco	TANQUE 02 Agitação lenta	TANQUE 03 Filtrado	TANQUE 04 Ortopolifosfato	TANQUE 05 Hipoclorito de sódio a 4%
PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO GENÉRICOS						
pH	6,0 a 9,0	3.17	3,37	3,39	7,45	7,48
ATT (acidez total titulável)	-	10.83	-	-	-	0,2
Cor	-	3576	1496	810	2508	336
Turbidez	-	322,8	229	156	277	9,72
PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO DO GRAU DE MINERALIZAÇÃO						
Alcalinidade bicarbonatos	-	445	36,9	48,2	57,6	384
Condutividade elétrica	-	5810	5540	6470	6820	1300
Sólidos dissolvidos totais	-	9242	11672	15278	7059	9300
Dureza total	-	2218	1810	818	798	379
PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DO GRAU DE OXIGENAÇÃO E DA POLUIÇÃO ORGÂNICA						
Oxigênio dissolvido	-	0	0,1	0,1	0,7	0,3
DBO	60 mg/L redução mínima de 75%	6520	6340	5770	1833,3	2883
DQO	180 mg/L redução mínima de 70%	20875	18725	21950	12200	16900
PRESENÇA DE SÓLIDOS						
Sólidos suspensos totais	100 mg/L	1740	1207	1569	1089	6873
Sólidos sedimentáveis	1mL/L	0	0	0	0	0
Sólidos totais	-	10982	12879	16847	8148	16173
Sólidos totais fixos	-	9279	10340	15551	7269	11284
Sólidos totais voláteis	-	1703	2539	1296	889	4889
TEOR DE NUTRIENTES						
Nitrogênio total	20,0 mg/L N	4,10	3,2	4,20	4,0	3,2
Nitrogênio amoniacal	20,0 mg/L N	3,65	2,6	3,60	3,2	1,8
Nitrato mg/100g	-	443,76	-	-	-	264,92

...Continua...

“TABELA 4. Cont.”

Pectina total mg/100g	-	65.16	-	-	-	54.77
Pectina solúvel	-	16.66	-	-	-	10.19
PRESENÇA DE SAIS						
Cloretos	-	88	31	18	39	34
PRESENÇA DE ELEMENTOS-TRAÇO E EVENTUAIS CONTAMINANTES						
Cobre mg/L	1,0 mg/L Cu	1,7	0,1	0,1	0,4	0,1
Ferro mg/L	15,0 mg/L Fe	7,8	11,9	13,1	9,7	7,6
Manganês mg/L	1,0 mg/L Mn	1,4	2,6	4,4	1,6	0,0
Zinco mg/L	5,0 mg/L Zn	1,3	3,2	4,2	2,3	0,5
Taninos mg/100g	0,2 mg/L C ₂ H ₅ OH	19.921	-	-	-	11.064
POPULAÇÃO TOTAL DA MICROBIOTA						
Meio de cultivo 1 UFC/mL	-	9,7 x 10 ⁶	1,5 x 10 ⁶	3,5 x 10 ⁶	1,8 x 10 ⁵	4,4 x 10 ⁴
Meio de cultivo 2UFC/mL	-	2,5 x 10 ⁶	1,4 x 10 ⁶	1,7 x 10 ⁶	2 x 10 ³	1 x 10 ³
Meio de cultivo 3 UFC/mL	-	1,4 x 10 ⁶	1,9x 10 ⁶	4,9 x 10 ⁶	5,8 x 10 ³	5,4 x 10 ²
Meio de cultivo 4UFC/mL	-	9,7 x 10 ³	1,8 x 10 ⁶	7,1 x 10 ⁶	3 x 10 ³	3,1 x 10 ²

A DBO e DQO apresentaram redução de 55,8 e 19%, respectivamente, no final do tratamento. Opostamente, todos os ítems referentes à sólidos tiveram valores aumentados em até 295%. Os teores de cobre, zinco, taninos, nitrato, proteína e pectina solúvel e total tiveram redução no final do tratamento.

Por meio dos limites de valores estabelecidos pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008, os ítems que atendem a este regulamento são sólidos sedimentáveis, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal, pH, cobre, ferro, manganês e zinco. Sendo que nesse contexto o tratamento III não atinge as exigências para o tratamento de vinhoto com a finalidade de ser lançado em corpos d'água, necessitando estudo mais detalhado das fases que o compõem.

De acordo com a subdivisão das caracterizações dos ítems avaliados (Tabela 4), observou-se que cada etapa do tratamento influenciou aumentando ou reduzindo os valores. Portanto, na caracterização genérica foram reduzidos com adição de hipoclorito e aumentado com adição de ortopolifosfato.

A caracterização do grau de mineração foi reduzida com adição de ortopolifosfato, fermentação e com adição de hipoclorito de sódio. Caracterização da presença de sais e de elementos-traço foram reduzidos com adição ortopolifosfato, processo fermentativo, filtração e adição de hipoclorito de sódio.

A avaliação do grau de oxigenação e poluição orgânica foi reduzida e aumentada com adição de ortopolifosfato. Caracterização da presença de sólidos foi reduzida com adição de ortopolifosfato.

A caracterização da presença de nutrientes foi reduzida por meio da fermentação e com adição de hipoclorito de sódio. Então observa-se que com adição de ortopolifosfato houve maior redução de parâmetros, seguido pela adição de hipoclorito de sódio, processo fermentativo e filtração respectivamente.

No tratamento III, observou-se que a população microbiana diminuiu a partir da adição de ortopolifosfato e hipoclorito de sódio a 4%, nos quatro meios de cultivo analisados, Tabela 4.

O inóculo iniciou o processo de fermentação com densidade populacional de $9,8 \times 10^9$ UFC/mL que persistiu por 24 h. A população do lodo ($9,8 \times 10^9$ UFC/mL) resultante do processo fermentativo era de 3 a 4 ciclos log superior à microbiota do vinhoto fresco. No final do tratamento, a população total foi de 5 a 7 ciclos log inferior à microbiota nativa.

Observa-se que a filtração foi capaz de reduzir a microbiota presente em 3 ciclos log e as etapas seguintes reduziram a microbiota em 1 ciclo log cada, considerando-se o meio YEPG.

No tratamento III, a população microbiana detectada no meio contendo exclusivamente vinhoto como substrato apresentou menor população comparado ao meio YEPG. Isso pode ser verificado principalmente nas fases 3, 4 e 5 do tratamento, quando observa-se que estas etapas foram as responsáveis pela diminuição do teor de nitrogênio, além de cobre e zinco, incrementando o pH do meio que interferiu, possivelmente, não somente na população, mas também na diversidade de espécies.

5.1.4 Tratamento IV

O tratamento IV consistiu de todas as etapas envolvidas nos demais tratamentos. Com esse tratamento, foi possível reduzir os macronutrientes fósforo, magnésio e potássio de 100 para 0,0 mg/L (100%), porém, cálcio foi o macronutriente que aumentou dentre as etapas do tratamento entre a fase inicial (tanque 1) de 100 mg/L a 2800 mg/L na última fase (tanque 6).

A partir das análises físico-químicas mostrados na Tabela 5, pode-se observar que esse tratamento apresentou melhores resultados referentes a oxigênio dissolvido, DBO, DQO, sólidos suspensos totais, cobre, ferro e zinco

quando comparado aos tratamentos 1, 2 e 3 apesar de alguns parâmetros estarem acima do permitido pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008.

Dentre as etapas analisadas do tratamento IV, observou-se que a etapa 2 (fermentação tumultuosa) foi eficiente na redução de sólidos sedimentáveis e dureza total; a etapa 3 (flocos químicos) foi eficaz quanto a oxigênio dissolvido, DBO, DQO, potássio, pH, nitrogênio (total e amoniacal), cobre, manganês, zinco, ferro e população microbiana; e a etapa 4 (fermentação lenta) apresentou melhor atuação quanto à sólidos suspensos.

A cor, ATT, dureza, cloretos, turbidez, alcalinidade e sólidos totais (fixos, voláteis), nitrato, pectina (total e solúvel) apesar de não terem valores estipulados pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008 apresentaram redução nos valores, sendo importante estas reduções para lançamento de efluentes em corpos d'água, uma vez que reduzem a cor favorecendo a penetração de luz, equilibraram o pH e reduziram a concentração de nutrientes, podendo permitir que haja equilíbrio do ecossistema aquático.

TABELA 5 Resultados de análises físico-químicas e microbiológica em cada tanque do tratamento IV do vinhoto

PARAMETROS	Limites COPAM	TANQUE 01 Vinhoto Fresco	TANQUE 02 Agitação tumultuosa	TANQUE 03 Flocos químicos	TANQUE 04 Agitação lenta	TANQUE 05 Ortopolifosfato	TANQUE 06 Hipoclorito de sódio a 4%
PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO GENÉRICOS							
pH	6,0 a 9,0	3,17	3,58	12,85	12,52	7,2	8,04
ATT (acidez total titulável)	-	10.83	-	-	-	-	0,1
Cor mg Pt/L	-	2256	2982	191	302	312	231
Turbidez N.T.U.	-	827	161	123,6	189	182,8	171,6
PARÂMETROS DE CARACTERIZAÇÃO DO GRAU DE MINERALIZAÇÃO							
Alcalinidade bicarbonatos mg/L	-	116,6	493	36,86	42,54	43,86	39,72
Condutividade elétrica mS/cm	-	5850	5250	55549	1341	5780	5698
Sólidos dissolvidos totais mg/L	-	26657	28102	5298	3,6	3,7	3,1
Dureza total mg/L em CaCO ₃	-	2749	2987	620	794	780	720
PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO DO GRAU DE OXIGENAÇÃO E DA POLUIÇÃO ORGÂNICA							
Oxigênio dissolvido mg/L	-	0,5	0,1	5,3	2,8	2,9	4,9
DBO mg/L	60 mg/L redução mínima de 75%	5982	6972	168	219	240	198
DQO mg/L	180 mg/L redução mínima de 70%	13250	15525	4125	6480	6278	4425
TEOR DE SÓLIDOS							
Sólidos suspensos totais mg/L	100 mg/L	1141	739	1777	0,5	0,5	0,3
Sólidos sedimentáveis mg/L	1mL/L	250	0	0,3	6890	7428	5421
Sólidos totais mg/L	-	27798	28841	7075	9572	9482	7215
Sólidos totais fixos mg/L	-	25849	27959	6126	8232	7272	6184

...Continua...

“TABELA 5, Cont.”

Sólidos totais voláteis mg/L	-	1949	882	949	1340	2210	1031
PRESENÇA DE NUTRIENTES							
Nitrogênio total mg/L	20,0 mg/L N	4,82	4,25	2,9	2,5	2,8	1,8
Nitrogênio amoniacal mg/L	20,0 mg/L N	4,12	3,8	1,7	2,8	2,9	4,9
Nitrato mg/100g	-	443,76	-	-	-	-	132,19
Pectina total mg/100g	-	65,16	-	-	-	-	63,28
Pectina solúvel mg/100g	-	16,66	-	-	-	-	7,71
PRESENÇA DE SAIS							
Cloretos mg/L	-	75	64	21	21,4	20,3	21,0
PRESENÇA DE ELEMENTOS-TRAÇO E EVENTUAIS CONTAMINANTES							
Cobre mg/L	1,0 mg/L Cu	1,4	0,9	0,0	0,2	0,1	0,2
Ferro mg/L	15,0 mg/L Fe	11,3	11,7	0,8	0,8	0,8	0,8
Manganês mg/L	1,0 mg/L Mn	2,5	5,2	0,0	0,0	0,3	0,3
Zinco mg/L	5,0 mg/L Zn	0,7	3,6	0,4	0,2	0,5	0,5
Taninos mg/100g	0,2 mg/L C ₂ H ₅ OH	19.921	-	-	-	-	11.625
AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE AGUDA							
CE(50) 48h	-	0,36	-	-	-	-	25,51
UT = 100/CE(50)48h	-	277,78	-	-	-	-	3,92
POPULAÇÃO TOTAL DA MICROBIOTA							
Meio de cultivo 1 UFC/mL	-	2,5 x 10 ⁴	3,8 x 10 ⁶	0,0	3,9 x 10 ⁵	5 x 10 ³	1 x 10 ³
Meio de cultivo 2 UFC/mL	-	8 x 10 ³	6,9 x 10 ⁶	0,0	0,0	0,0	0,0
Meio de cultivo 3 UFC/mL	-	8 x 10 ³	7,4 x 10 ⁶	0,0	0,0	6,3x 10 ³	9 x 10 ³
Meio de cultivo 4 UFC/mL	-	3 x 10 ³	4 x 10 ⁶	0,0	0,0	6 x 10 ²	0,0

O pH no final do tratamento encontra-se dentro dos limites estipulados pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008, no entanto, observa-se que durante as etapas do tratamento houve variação de 3,2 a 12,52. Essa oscilação, possivelmente afetou a densidade populacional da microbiota nas etapas do tratamento, uma vez que observa-se que a microbiota sofre interferência direta quanto ao pH em relação ao aspecto fisiológico.

De acordo com a Tabela 5, pode-se observar que em ambos os processos fermentativos houve redução nos teores de oxigênio dissolvido (66,7% e 30,9%), sólidos suspensos totais (21,3% e 99,95%), nitrogênio total (6,3% e 7,5%), parâmetros que provavelmente foram utilizados pelos microrganismos durante a fase metabólica.

Aumento em teores foi observado com DBO (7,7% e 13,1%); DQO (7,9% e 22,3%), respectivamente, na fermentação com agitação tumultuosa e agitação lenta, estima-se que com a adição do inoculo houve interferência nos valores de DBO na primeira fermentação e como houve diminuição no teor de material orgânico biodegradável entre as etapas de fermentação, como resultado do metabolismo celular houve a produção de material inerte.

Apresentaram aumento e queda, respectivamente com os processos de fermentação com agitação tumultuosa e lenta foram pH (6,1% e 1,3%) e zinco (67,5% e 33,3%) por meio do resultado da ação microbiana sobre o vinhoto, algumas substâncias são utilizadas e outras produzidas, alterando os valores destes parâmetros.

A fase de adição de ortopolifosfato foi capaz de reduzir os teores de DQO (1,5%), pH (26,9%) e cobre (33,3%). Apresentaram aumento oxigênio dissolvido (1,7%), DBO (4,5%), sólidos sedimentáveis (3,7%), nitrogênio total (5,7%), nitrogênio amoniacal (1,7%), manganês (100%) e zinco (42,9%).

Mantiveram sem alteração em seus valores sólidos suspensos totais (0,5 mg/L) e ferro (0,8 mg/L).

Apresentaram redução em seus teores entre as etapas inicial e final do tratamento de vinhoto, taninos (19,921 a 11,625 mg/100g), açúcares totais (0,2239 e 0,041%), glicose (0,1477 e 0,02%) e sacarose (0,0737 e 0,019%). Porém, houve aumento nos valores de clorofila (0,216 a 0,275 mg/100g) entre as mesmas etapas.

Por meio da avaliação da toxicidade aguda, verificou-se quanto aos valores de CE, que retrata a taxa de diluição necessária para eliminar 50% das *Daphnia* submetidas ao contato com o vinhoto diluído, ficou entre (0,36 a 25,51) e UT (277,78 e 3,92 unidades tóxicas). Neste contexto observou-se que com o tratamento IV houve redução de 98,6% na toxicidade do vinhoto em relação ao número de unidades tóxicas afetadas.

Aumento nos teores dos itens avaliados, em vez de reduzi-los, ocorreu com DBO (processos fermentativos com agitação tumultuosa e lenta, e adição de ortopolifosfato); DQO(fermentação com agitação lenta e tumultuosa); sólidos suspensos totais (flocos químicos); sólidos sedimentáveis (flocos químicos, fermentação com agitação lenta e adição de ortopolifosfato); nitrogênio total (adição de ortopolifosfato); nitrogênio amoniacal (fermentação com agitação lenta, adição de ortopolifosfato e de hipoclorito de sódio); cobre (fermentação com agitação lenta e adição de hipoclorito de sódio); ferro (fermentação com agitação tumultuosa); manganês e zinco (fermentação com agitação tumultuosa e adição de ortopolifosfato).

De acordo com a subdivisão das caracterizações dos itens avaliados (Tabela 5), observou-se que cada etapa do tratamento influenciou aumentando ou reduzindo os valores. Portanto na caracterização genérica foram reduzidos e aumentados com a fase de flocos químicos, e reduzidos com o processo fermentativo por meio da agitação tumultuosa.

A caracterização do grau de mineração foi reduzida com flocos químicos e processo fermentativo com agitação lenta. Caracterização da presença de sais e de elementos-traço foi reduzida com flocos químicos.

A avaliação do grau de oxigenação e poluição orgânica foram reduzidos e aumentados com flocos químicos. Caracterização da presença de sólidos foi reduzida com flocos químicos, processo fermentativo com agitação lenta e agitação tumultuosa.

A caracterização da presença de nutrientes foi reduzida após flocos químicos e adição de hipoclorito de sódio a 4%. Nesse contexto, observa-se que com flocos químicos houve maior redução, seguido dos processo fermentativo com agitação lenta, fermentação com agitação tumultuosa e adição de hipoclorito de sódio a 4%, respectivamente.

De acordo com a Tabela 05, pode-se observar que o tratamento IV foi eficiente na redução da população microbiana, uma vez que a alta densidade população resultante do tratamento influi diretamente no conteúdo de matéria orgânica do possível efluente.

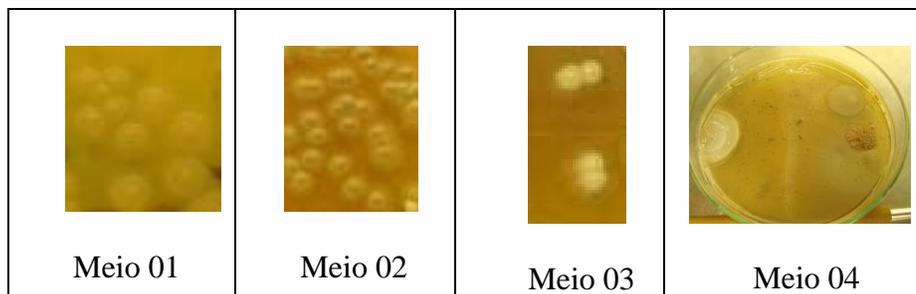


FIGURA 5 Apresentação da população microbiana nos quatro meios de cultivo do tratamento IV

De acordo com a Figura 5, pode-se observar que os diferentes meios utilizados apresentaram morfotipos diferentes, como também alteração da densidade populacional, que pode ser justificado pela diferença na composição do meio de cultivo, como também de acordo com a fase do tratamento em questão, por meio da diferença na constituição físico-química de cada etapa.

A densidade populacional no inóculo variou entre $4,1 \times 10^9$ e $3,7 \times 10^{10}$ UFC/mL, no lodo da fase de fermentação tumultuosa houve variação de $7,9 \times 10^9$ e $7,5 \times 10^9$ UFC/mL, no lodo da fermentação com agitação lenta a população variou entre 0,0 e 1×10^5 UFC/mL.

Nos meios de cultura 01 e 03 foi possível detectar o crescimento populacional até a última etapa do tratamento. O que não ocorreu com os meios 02 e 04. A partir de todos os meios utilizados, observou-se que houve redução da população microbiana a partir da fase 04 (agitação lenta) de aproximadamente 05 ciclos log sendo que na fase 03 (flocos químicos) não houve crescimento detectado. Esse não crescimento pode ser justificado pela diluição usada para a realização do plaqueamento.

5.2 Comparação dos parâmetros físico-químicos avaliados nos quatro tratamentos

Pode-se observar que com as análises físico-químicas, os itens avaliados sofreram variações nos diferentes tratamentos e nas diferentes etapas de cada tratamento. O tratamento I foi eficiente quanto a DQO, zinco e população microbiana; tratamento II foi eficaz apenas quanto a sólidos sedimentáveis; o tratamento III atuou melhor em relação à cobre, manganês e zinco; e o tratamento IV apresentou melhor eficiência quanto à DBO, sólidos suspensos, potássio, nitrogênio (total e amoniacal) e ferro. Os valores de pH

foram satisfatórios em todos os tratamentos, e oxigênio dissolvido foi melhor nos tratamentos III e IV.

Nesse contexto observou-se que a etapa de fermentação com agitação lenta reduziu os teores de DBO, DQO, cloretos, dureza total, condutividade elétrica, cor, turbidez, alcalinidade bicarbonatos, sólidos totais fixos, sólidos suspensos totais, sólidos dissolvidos totais, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal, cobre, magnésio e potássio. Foi eficiente para aumentar os valores de oxigênio dissolvido e pH.

A etapa de filtração foi eficiente para reduzir a turbidez, sólidos sedimentáveis, cobre e magnésio.

Com a fase de adição de ortopolifosfato, pode-se reduzir os teores de cloretos, sólidos totais, sólidos totais fixos, sólidos totais voláteis (com exceção do tratamento IV), sólidos sedimentáveis, sólidos dissolvidos totais, nitrogênio total e amoniacal (com exceção do tratamento IV), cálcio e potássio.

Na etapa final dos tratamentos, adição de hipoclorito de sódio, foi possível reduzir os valores de DBO (apenas no tratamento IV), cloretos (com exceção do tratamento IV), condutividade elétrica (com exceção do tratamento II), DQO e sólidos dissolvidos totais (apenas foi reduzido no tratamento IV), cor, turbidez, dureza total, sólidos suspensos totais (com exceção do tratamento III), sólidos sedimentáveis, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal (com exceção do tratamento IV), cobre, ferro, zinco e potássio (apenas nos tratamentos I e III), manganês, fósforo, cálcio e magnésio (apenas no tratamento I).

Não foi possível estabelecer um tratamento que atuasse de forma totalmente eficiente nos parâmetros que comprometem o lançamento do efluente nos corpos d'água, porém, percebeu-se que de todos os tratamentos propostos, o tratamento IV possibilitou a maior redução dos parâmetros normalizados pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG n^o 1 de 5 de maio de 2008 como DBO, sólidos suspensos totais, nitrogênio total e amoniacal, cobre,

ferro, magnésio e zinco, além da redução de parâmetros físico-químicos não normalizados, como cloretos, dureza, cor e turbidez. Esse tratamento também foi mais eficaz na diminuição da população microbiana com redução de até 7 ciclos log.

É preciso que haja um aperfeiçoamento das etapas do tratamento IV a fim de atender às exigências da Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG n^o 1 de 5 de maio de 2008 para o resíduo lançado nos corpos d'água ou para este resíduo (vinhoto) após o tratamento ser usado como água de reuso para lavagem de instalações industriais.

Portanto, para otimizar o tratamento, faz-se necessário eliminar a etapa de fermentação com agitação tumultuosa; aumentar o período fermentativo com fermentação lenta, flocos químicos e adição de ortopolifosfato.

6 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia utilizada neste trabalho, pode-se concluir que:

- Os parâmetros físico-químicos variaram com os diferentes tratamentos
- Os parâmetros físico-químicos variaram nas diferentes etapas dos tratamentos
- O tratamento IV foi a mais eficiente para redução de parâmetros normalizados, além dos não normalizados pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008, em relação as demais tratamentos
- O tratamento IV foi o mais eficaz na diminuição da população microbiana, com redução de até 7 ciclos log
- Com o tratamento IV foi possível reduzir em 98,6% o índice de toxicidade aguda
- É preciso que haja aperfeiçoamento das etapas do tratamento IV com a finalidade de atender às exigências da Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1 de 5 de maio de 2008 quanto aos parâmetros DQO, sólidos sedimentáveis e taninos

7 PESQUISAS FUTURAS: OTIMIZAÇÃO DO TRATAMENTO

- * Eliminar a etapa de fermentação com agitação tumultuosa

- * Aumentar o período fermentativo com aeração lenta

- * Aumentar o período para formação de flocos químicos

- * Aumentar o período de atuação de ortopolifosfato e adicioná-lo após a fase de flocos químicos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19. ed. Washington, 1995. 1223p.

AMUDA, O. S.; AMOO, I. A. Coagulation/flocculation process and sludge conditioning in beverage industrial wastewater treatment. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 141, n. 3, p. 778-789, Mar. 2006.

ARAÚJO JÚNIOR, M. M. **Reator combinado anaeróbio-aeróbio de leito fixo para a remoção de matéria orgânica e nitrogênio de água residuária de indústria produtora de lisina**. 2006. 136 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil: Área Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, Rio Claro.

CARDOSO, M. das G. Análises físico-químicas de aguardente. **Produção artesanal de aguardente**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. p. 61-73.

CORTEZ, L. A. B.; PÉREZ, L. E. B. Experiences on vinasse disposal: Part III: combustion of vinasse fuel oil emulsions. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. São Paulo, v.14, n. 1, mar. 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-66321997000100001&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 14 dez. 2009.

DIAS, A. M. P.; BRENTANO, D. M.; CARVALHO-PINTO, C. R. S.; MATIAS, W. G. Avaliação de toxicidade aguda de fluidos de corte utilizados em processos de usinagem usando como organismo teste *Poecilia reticulata* e *Daphnia magna*. **Biotemas**, Florianópolis, v. 19, n. 3, p. 7-13, set. 2006.

KHARDENAVIS, A. A.; KUMAR, M. S.; MUDLIAR, S. N.; CHAKRABARTI, T. Biotechnological conversion of agro-industrial wastewaters into biodegradable plastic, poly β -hydroxybutyrate. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 18, p. 3579-3584, Dec. 2007.

LIU, J.; BJORNSSON, L.; MATTIASSON, B. Immobilised activated sludge based biosensor for biochemical oxygen demand measurement. **Biosensors & Bioelectronics**, Essex, v. 14, n.12, p. 883-893, 2000.

LORENZETTI, J. M; FREITAS, P. G. R. **Aplicação da vinhaça por aspersão**. [S.l : s.n], [1978]. 27p.

LUCAS, A.; RODRÍGUEZ, L.; VILLASEÑOR, J.; FERNÁNDEZ, F. J. Biodegradation kinetics of stored wastewater substrates by a mixed microbial culture. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v.26, n. 1/3, p.191-197, Nov. 2005.

MACEDO, I. Greenhouse gas emissions and energy balances in bio-ethanol production and utilization in Brazil (1996). **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.14, n. 1, p. 77-81, 1998.

MACEDO, R. K. A importância da avaliação ambiental. In: TAUK, S. M. (Org.). **Análise ambiental: uma visão multidisciplinar**. São Paulo: UNESP/FAPESP, 1991, p.11-26

MANCINE, L.; FORMICHETTI, P.; D'ANGELO, A. M.; PIERDOMINICI, E.; SORACE, A.; BOTTONI, P.; IACONELLI, M.; FERRARI, C.; TANCIONI, L.; ROSSI, N.; ROSSI, A. Freshwater quality in urban areas: a case study from Rome, Italy. **Microchemical Journal**, New York, v. 79, n. 1/2, p. 177-183, Jan. 2005.

MINAS GERAIS. Deliberação normativa conjunta COPAM/CERH-MG n^o1, de 05 de maio de 2008. Dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. **Minas Gerais**, Poder Executivo, Belo Horizonte, 5 maio 1987. Disponível em: < [http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=Delibera%C3%A7%C3%](http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=Delibera%C3%A7%C3%>)>. Acesso em: 14 dez. 2009.

MOLINA, O. E.; PEROTTI DE, G. P.; FRIGERIO, C. I.; CORDOBA, P. B. Single cell protein production from bagasse pith pretreated with sodium hydroxide at room temperature. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 20, n. 5, p. 335-339, Nov. 1984.

NAVARRO, A. R.; SEPÚLVEDA, M. D. C.; RUBIO, M. C. Bio-concentric of vinasse from the alcoholic fermentation of sugar cane molasses. **Waste Management**, Oxford, v. 20, n. 7, p. 581-585, Nov. 2000.

NEVES, L.; RIBEIRO, R.; OLIVEIRA, R.; ALVES, M. M. Enhancement of methane production from barley waste. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 30, n. 6, p. 599-603, June 2006.

NUSSIO, L. G.; BALSALOBRE, M. A. A. Utilização de resíduos fibrosos da industrialização da cana de açúcar na alimentação de bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 1993, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1993. p. 127-149.

OSHIROM, N. I.; SANTOS, A. M.; ANGELIS, D. F.; OLIVEIRA, V. I. A. Avaliação de biodegradabilidade de efluentes de indústrias de produtos químicos. In: SIMPÓSIO EM MICROBIOLOGIA APLICADA, 3., Rio Claro. **Anais...** Rio Claro: Unesp, 2007. CD-ROM.

PHISALAPHONG, M.; LOETSRIMONGKHON, T.; HEMPENSTALL, C.; CRUZ, J. D. Re-use of cane molasses alcohol stillage in single cell protein production by fed-batch reactor. In: REGIONAL SYMPOSIUM ON CHEMICAL, 11., 2004, Bangkok. **Anais...** Bangkok: Nayang Technological University, 2004. CD-ROM.

POOLE, A. J.; CORD-RUWISCHF, R.; JONES, W. Biological treatment of chemically flocculated agro-industrial waste from the wool scouring industry by an aerobic process without sludge recycle. **Elsevier Science**, Amsterdam, v.33, n. 9, p. 1981-1988, June 1999.

MANTZAVINOS, D.; BURROWS, D.M. P.; WILLEY, R.; BIUNDO, G.; ZHANG, S. F.; LIVINGSTON, A. G.; METCALFE, I. S. Chemical treatment of an anionic surfactant wastewater: electrospray-MS studies of intermediates and effect on aerobic biodegradability. **Elsevier Science**, Amsterdam, v. 35, n. 14, p. 3337-3344, Oct. 2001.

PRIANTI JUNIOR, N. G.; AROUCA, J.; CARMO, F. H. Minimização de problemas com ferro e manganês na água de abastecimento de Jacareí – SP. Um estudo de aplicação do orto-fosfato. In: ASSEMBLÉIA NACIONAL DA ASSEMAE - ASSOCIAÇÃO DOS SERVIÇOS MUNICIPAIS DE SANEAMENTO, 26., 1998, Vitória. **Anais...** Vitória: ASSEMAE, 1998. p. 35.

RAJOKA, M. I.; KHAN, S. H.; JABBAR, M. A.; AWAN, M. S.; HASHMI, A. S. Kinetics of batch single cell protein production from rice polishings with *Candida utilis* in continuously aerated tank reactors. **Bioresource Technology**, Essex, v. 97, n. 15, p. 1934-1941, Oct. 2006.

SATYAWALI, Y.; BALAKRISHNAN, M. Wastewater treatment in molasses-based alcohol distilleries for COD and color removal: A review. **Journal of Environmental Management**, London, v. 86, n. 3, p. 481-497, Feb. 2008.

SELIM, M. H.; ELSHAFEI, A. M.; EL-DIWANY, A. I. Production of single cell protein from yeast strains grown in Egyptian vinasse. **Bioresource Technology**, Essex, v. 36, n. 2, p. 157-160, 1991.