

RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE O USO DE VINHOTO COMO MEIO DE  
CULTURA PARA 8 ESPÉCIES DE ALGAS DE ÁGUA DOCE

OLIVEIRA, H.T.\* e CACERES, O.\*

RESUMO

O cultivo de 8 diferentes espécies de algas de água doce, em meio de cultura definido e em solução de vinhoto 0,1% em água destilada, permitiu evidenciar alguns aspectos do crescimento, determinar a concentração de carboidrato total e observar que os referidos microorganismos aumentaram o pH do meio de 5,2 para 8,0. Dentre as espécies estudadas *Chlorella sp* e *Scenedesmus bijugatus* foram as que apresentaram melhor taxa de crescimento. Embora estes resultados sejam preliminares, o uso de vinhoto como meio de cultura para essas algas parece ser um método satisfatório em adição àqueles já convencionais.

ABSTRACT - PRELIMINARIES RESULTS OF VINASE AS A CULTURE MEDIUM  
TO 8 SPECIES OF FRESHWATER ALGAE

Eight species of freshwater algae were grown in defined culture medium and in 0,1% vinasse dissolved in

---

\* Departamento de Ciências Biológicas da UFSCar

distilled water. In both treatments algal growth was observed the pH of culture medium increased from 5.2 to 8.0. Among the species studied *Chlorella* sp and *Scenedesmus bijugatus* showed the highest growth rate. Although these result are preliminary, the use of vinasse as culture medium seems to be a satisfactory method in addition to the conventional ones.

## INTRODUÇÃO

Como principal resposta à busca de fontes energéticas renováveis para o país, foi implantado, há dez anos atrás, o Plano Nacional do Alcool (PNA) para fazer face ao crescente consumo de combustível no país. O volume de produção prevista pelo PNA para 1985 é da ordem de 15 bilhões de litros de álcool e para o ano 2000, 70 bilhões de litros de álcool por ano, volumes que poderão ser aumentados, na medida em que cresce a produção de automotores movidos a etanol e amplia-se o mercado consumidor internacional.

A produção de álcool através do sistema de fermentação biológica produz um resíduo final, líquido, denominado vinhaça. De acordo com a tecnologia adotada atualmente, a relação litro de álcool obtido/litro de vinhaça resultante tem sido, em média, de 1 para 12, o que significa mais de 180 bilhões de litros de vinhaça, só neste ano. Apesar da legislação específica vigente, a situação dos rios e estuários que recebem despejos de destilarias é preocupante, pois, se por um lado a vinhaça é uma fonte de matéria orgânica e minerais, principalmente potássio (DANTAS, 1981), é também uma fonte enorme de poluição, se esses materiais não são reciclados.

Entre as várias aplicações experimentadas para a vinhaça, a utilização para irrigação e adubação do solo é a que tem apresentado maior viabilidade financeira (SHEEHAN & GREENFIELD, 1980). Foi observado em experimento realizado pe

lo Instituto do Açúcar e do Alcool que o rendimento no cultivo da cana, por hectare, passou de 45 para 100 toneladas (DANTAS, 1981). Por outro lado, tem sido tentada a produção de biomassa, cultivando-se levedo para forragem (ISIK, 1977), com diminuição da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) em 50%. Outros processos para o aproveitamento do vinhoto têm sido experimentados tais como:

- a) depuração via digestão anaeróbica, com aproveitamento do biogás;
- b) produção de proteínas por meio de síntese microbiológica, com diminuição da DBO em cerca de 60% (DANTAS, 1981);
- c) produção de proteínas de leveduras (TAUK, 1979);
- d) concentração de vinhaça para posterior utilização em rações balanceadas (KATZ, 1980);
- e) utilização da vinhaça como fonte de nutrientes para o crescimento de suínos (WEIGAND and KIRCHGESSNER, 1980a,b, 1981).

Do ponto de vista técnico, o sistema mais seguro na utilização do vinhoto parece ser a sua evaporação e incineração, sendo as cinzas utilizadas como fertilizantes para o solo. Se sua rica composição inorgânica for considerada (MEDEIROS, 1981), é evidente que sua aplicação como fertilizante parece ser a possibilidade mais concreta. No entanto, alguns problemas técnicos devem ser resolvidos, tais como, pH muito baixo e alta concentração de compostos orgânicos.

Neste sentido, parece interessante retomar os ensaios feitos por OKUBA (1967) em que foi testado o cultivo das algas *Chlorella vulgaris* e *Chlorella pyrenoidosa*, apresentando bom crescimento, reduzindo a DBO e removendo 90% da Matéria Orgânica Dissolvida (MOD). Os resultados aqui apresentados tiveram por objetivo testar o crescimento em vinhoto, de 8 diferentes espécies de algas de água doce e acompanhar

as variações de pH e concentração de carboidrato durante es  
se período de cultivo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas as seguintes clorofíceas: *Ankistrodesmus fusiformis*, *Scenedesmus bijugatus*, *Monoraphidium contortum*, *Xanthidium sp.*, *Hyaloteca sp.*, *Chlorella sp.*, *Tetraedron caudatum* e *Chlamydomonas sp.*, procedentes da Represa do Broa, localizada próximo à cidade de São Carlos, SP. As culturas foram mantidas em culturas unialgais, em sala com temperatura constante ( $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ ), fotoperíodo natural e sob intensidade luminosa de 4000 lux.

Na preparação dos meios de culturas foi utilizado vi  
nhoto desidratado por "Spray-Drying", tal como em secagens industriais, procedente da Usina São Martinho, localizada no município de Pradópolis, SP. A proporção utilizada foi de 0,1 g/100 ml de água deionizada. Esta solução foi filtrada em Millipore AP 20-04700 e autoclavada por uma hora a  $120^{\circ}\text{C}$ . A seguir as algas foram inoculadas num volume de 50 ml de meio, em réplica, sendo uma série com pH corrigido para 7,0 e outra com pH normal da solução, isto é, 5,2. As culturas foram acompanhadas durante 30 dias com retiradas semanais de amostras (4 ml) para medidas de crescimento, pH e concentra  
ção de carboidratos (ASHWED, 1957).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi testado inicialmente o efeito de diferentes concentrações de vinhoto no crescimento celular das espécies ci  
tadas anteriormente. Dentre as várias concentrações experimentadas, verificou-se que 0,1 g/100 ml de água destilada foi a que apresentou melhores resultados de crescimento, sen

do que as concentrações superiores a essa mostraram-se letais para a maioria das algas estudadas.

Na Tab. 1 pode-se observar que o crescimento foi satisfatório em quase todas as culturas à base de vinhoto com exceção de *T. caudatum* e *Xanthidium sp* em que os valores ficaram muito abaixo daqueles encontrados para culturas em meio definido. Além disso, as culturas de *Chlorella sp* e *S. bijugatus* apresentaram crescimento muito superior às culturas correspondentes em meio definido.

Tabela 1 - Comparação do número de algas/ml após 30 dias de incubação em meio de cultura definido e vinhoto 0,1% em água destilada.

ESPÉCIES	Nº de células/ml ( $\times 10^6$ )	
	VINHOTO 0,1%	MEIO DEFINIDO
<i>A. fusiformis</i>	3,7	3,9*
<i>S. bijugatus</i>	8,5	2,8**
<i>M. contortum</i>	7,5	6,8*
<i>Chlorella sp</i>	16,0	6,5**
<i>T. caudatum</i>	0,6	2,0**
<i>Chlamydomonas sp</i>	1,6	2,2**
<i>Hyaloteca sp</i>	0,9	0,6*
<i>Xanthidium sp</i>	3,7	5,5*

\* meio Woods Hole

\*\* meio Bristol

A correção prévia do pH das culturas parece ser dispensável. Como pode ser observado na Fig. 1, o pH é corrigido pelas próprias algas, provavelmente, através do consumo de  $\text{CO}_2$  dissolvido, titulando a solução na direção de um pH

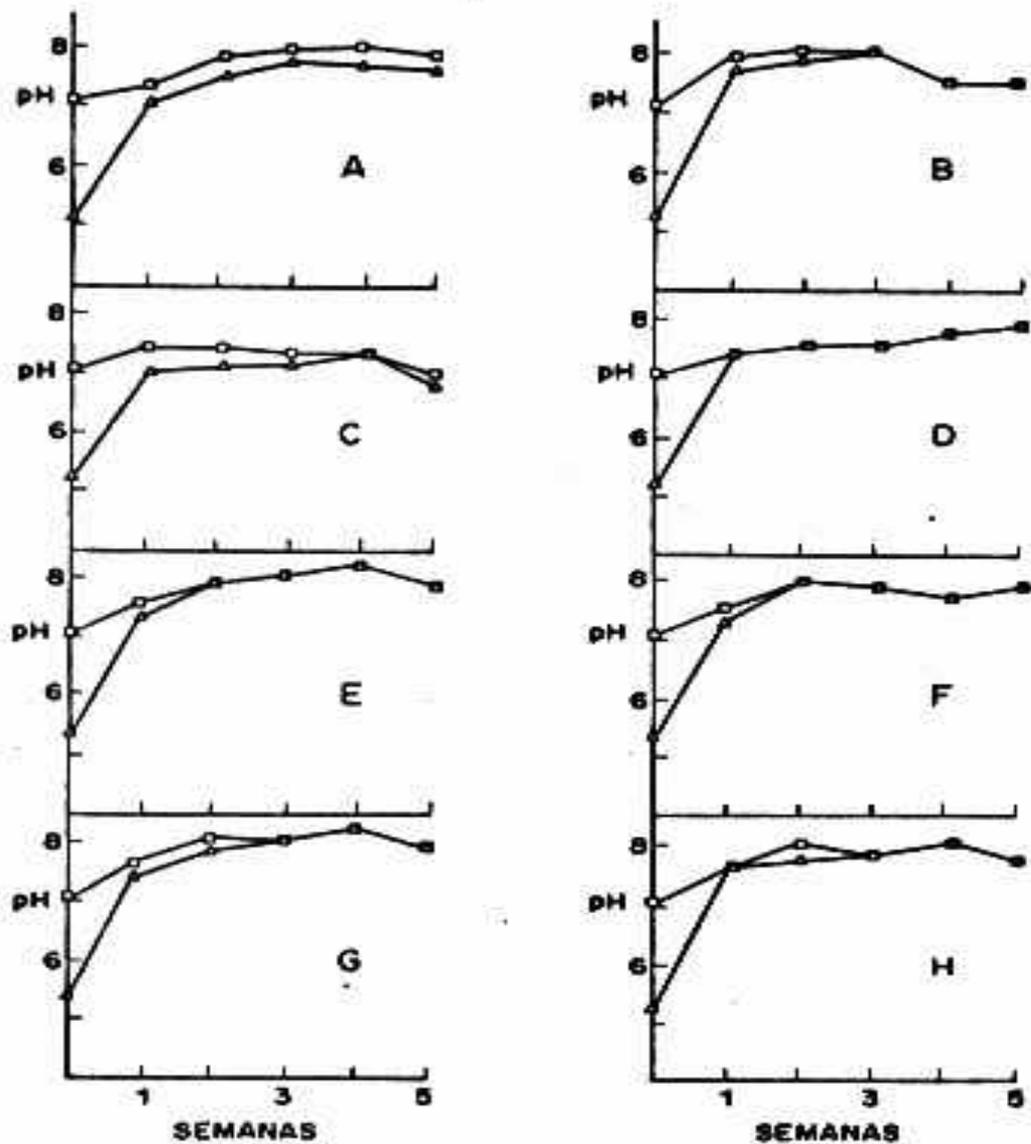


Figura 1 - Variação do pH nas culturas de *A. fusiformis* (A); *M. con-tortum* (B); *S. bijugatus* (C); *Chlorella sp* (D); *T. cauda-lum* (E); *Xanthidium sp* (F); *Chlamydomonas sp* (G) e *Hyalo-teca sp* (H) quando mantidas em meio de cultura preparado a partir de vinhoto e água destilada (0,1 g%) com pH inicial 5,2 ( $\Delta$ — $\Delta$ ) e com pH corrigido para 7,0 com NaOH ( $\square$ — $\square$ ).

alcalino, fato esse comum em culturas de algas devido à fotossíntese. Contudo, não se deve descartar, em princípio, que outros fatores possam ser considerados na explicação desta modificação do pH do meio. Também isto se torna irrelevante se considerado que esse fator não interferiu no crescimento das algas estudadas.

Com relação à produção de carboidratos as algas cultivadas com vinhoto apresentaram concentrações intra e extracelulares mais elevadas que as algas crescidas em meio de finido (Fig. 2).

A concentração de carboidrato inicial no meio de cultura com 0,1% de vinhoto era 104 mg/ml. No início da 2<sup>a</sup> semana este valor caiu para pouco mais que a metade em todas as culturas, o que sugere a sua utilização como fonte de energia durante esse período de tempo, caracterizando capacidade heterotrófica.

Dessa forma, o cultivo em vinhoto de 8 diferentes espécies de algas de água doce permitiu esboçar algumas características de crescimento, determinar a concentração de carboidrato total e observar que os referidos microorganismos modificaram o pH do meio de cultura, elevando-o de 5,2 para aproximadamente 8,0. Dentre as espécies estudadas, *Chlorella* sp e *S. bijugatus* foram as que apresentaram melhor crescimento. Contudo, a reprodutibilidade desses resultados nem sempre tem se caracterizado de forma suficientemente confiãvel. Este fato indica a necessidade de novos experimentos que permitam a obtenção de resultados mais conclusivos. De qualquer forma, ainda que sejam resultados preliminares, é possível que esta venha a ser uma possibilidade de uso alternativo do vinhoto, que do ponto de vista ecológico será, a curtíssimo prazo, um gigantesco problema a ser solucionado. Do contrário, inviabilizará o Plano Nacional do Alcool em função de todos os prejuízos que acarretará para o meio ambiente.

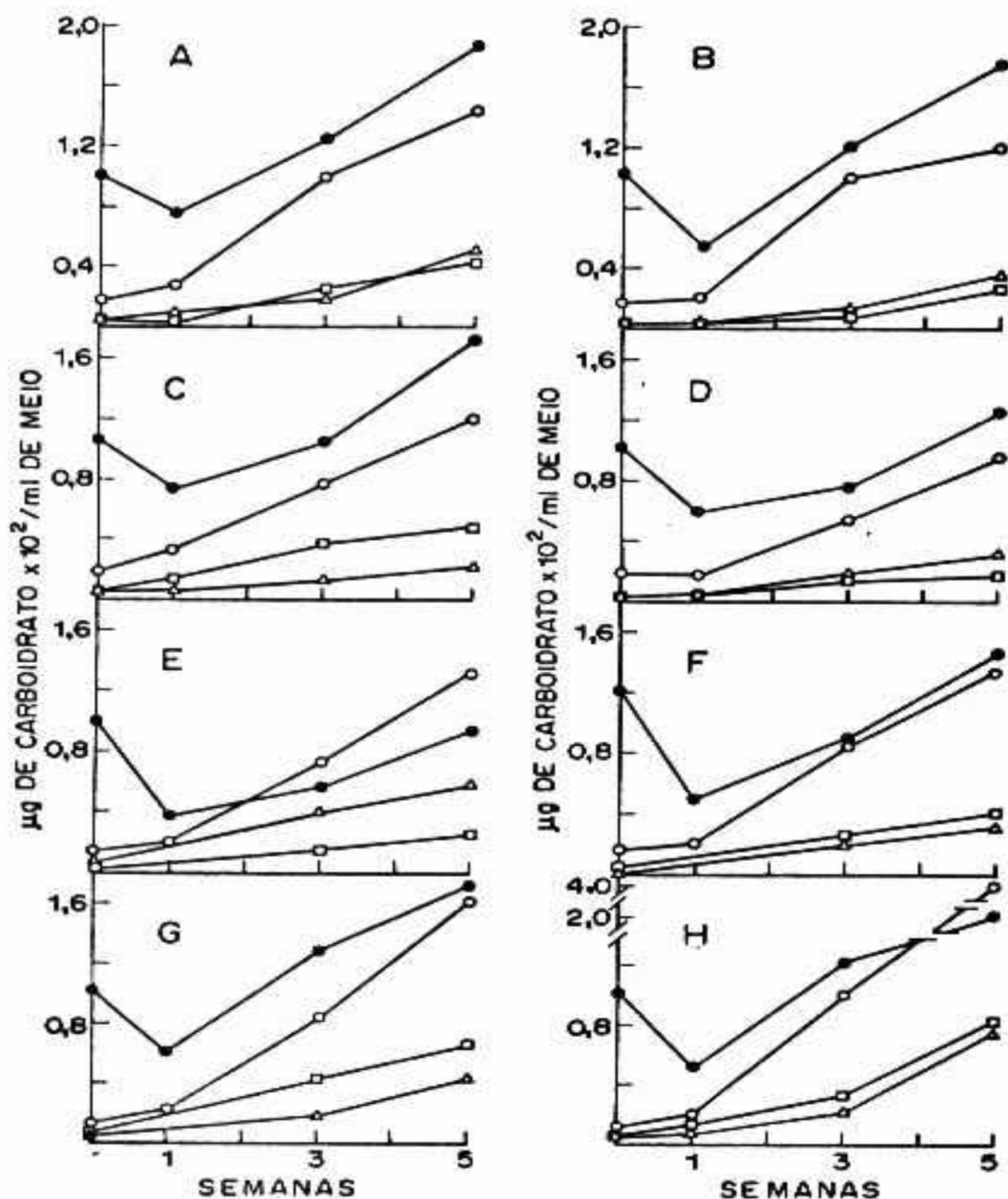


Figura 2 - Variação da concentração de carboidratos durante o crescimento de: A. *fusiformis* (A); *M. contortum* (B); *S. bijugatus* (C); *Xanthidium* sp (D); *Hyaloteca* sp (E); *T. caudatum* (F); *Chlorella* sp (G) e *Chlamydomonas* sp (H) no meio de cultura contendo vinhoto (—•— intra e -○- extra) e no meio definido (— — intra e  $\Delta$ - $\Delta$  extra).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHWED, G. Methods in enzymology. New York, Academic Press, 1957. vol. 3, p. 85.
- DANTAS, F.A.C. A importância dos estuários. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 2, 1981, Recife-PE. Anais... Recife, 1981.
- ISIK, H. Production of fodder yeast from vinasse. Seker, 103: 1-11, 1977.
- KATZ, G.M. Concentração de vinhaça até 60 °Bx. Energia, 3 (9): 45-6, 1980.
- MEDEIROS, A.P. Composição química dos diferentes tipos de vinhaça nos Estados de Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte. Sacharum, 12: 36-40, 1981.
- OKUBA, H. et al. Alcohol distillation wastes treatment by unicellular algae culture. II. Cultural conditions of *Chlorella* in flat flasks. Hakko Kyokaishi, 25: 76-82, 1967.
- SHEEHAN, G.J. & GREENFIELD, P.F. Utilization, treatment and disposal of distillery waste water. Water Res., 14: 257-77, 1980.
- TAUK, S.M. Adaptação de leveduras a vinhaça e vinhaça suplementada com melaço. Ci. e Cult., 31(5): 522-30, 1979.
- \_\_\_\_\_. Estudo dos fatores de crescimento de *Candida solani* em vinhaça. Ci. e Cult., 33(2): 267-73, 1981.
- WEIGAND, E. & KIRCHGESSNER, M. Protein and energy value of vinasse for pigs. Anim. Feed Sci. Technol., 5(3): 221-32, 1980.

WEIGAND, E. & KIRCHGESSNER, M. Using vinasse in feeds for market pigs. Wirtschaftseigene Futter, 26(2): 150-62 1980.

---

\_\_\_\_\_ . Betaine and glutamic acid contribution to nitrogen digestion and balance during feeding of vinasse to growing pigs. Arch. Tierernaehr 31(5/6): 335-44, 1981.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq e a FAPESP pelo auxílio financeiro à realização desta pesquisa.

#### ENDEREÇO DOS AUTORES

OLIVEIRA, H.T. e CÁCERES, O.  
Departamento de Ciências Biológicas  
Universidade Federal de São Carlos  
13560 São Carlos - SP