



You are free: to copy, distribute and transmit the work; to adapt the work.  
You must attribute the work in the manner specified by the author or licensor

## VIABILIDADE DA APLICAÇÃO DO MÉTODO RESPIROMÉTRICO DE BARTHA PARA A ANÁLISE DA ATIVIDADE MICROBIANA DE SOLOS SOB APLICAÇÃO DE VINHAÇA.

Jaqueline A. Camargo<sup>1</sup>; Natália Pereira<sup>2</sup>; Patricia R. Cabello<sup>3</sup>; Francisco J. C. Teran<sup>4</sup>

### RESUMO

A cultura de cana-de-açúcar tem ganhado grande destaque no Brasil, em consequência do momento econômico vivido no país. Incentivos nacionais são praticados para potencializar a sua produção com a finalidade de ser utilizada como combustível. Assim, é gerado um crescente volume de vinhaça que desperta atenção quanto a sua destinação e uso. Este trabalho permitiu verificar a possibilidade da aplicação do método respirométrico de Bartha para a análise da atividade microbiana, sob a interferência da vinhaça, no solo do Oeste Paulista. O respirômetro de Bartha é uma técnica simples e de baixo custo para se determinar a biodegradação dos poluentes no solo, através da medição do CO<sub>2</sub> quantificado no sistema. Os resultados demonstram que a curva de biodegradação do respirômetro controle e do ensaio apresentaram uma considerável diferença na quantidade de CO<sub>2</sub> produzido nos mesmos. Esta divergência da linearidade de funções representadas no gráfico pode estar atribuída à grande quantidade de matéria orgânica presente no resíduo em estudo. A técnica se apresenta como uma alternativa de baixo custo e simplicidade para se avaliar as taxas de biodegradação de possíveis contaminantes no solo.

**Palavras-chave:** biodegradação, respirometria de Bartha, respiração do solo, vinhaça.

### FEASABILITY OF RESPIROMETRIC BARTHA METHOD FOR MICROBIAL ACTIVITY ANALISYS IN SOILS SUBMITTED TO VINASSES APPLICATION.

#### ABSTRACT

The cultivation of sugar cane has gained prominence in Brazil, as a result of economic time lived in the country. National incentives are offered to increase its production in order to be used as fuel. Therefore, it generated a growing volume of vinasse which arouses attention as your destination and use. In this work provides the possibility of diagnosing the method of respirometry Bartha for analysis of microbial activity under the influence of the vinasse in the soil of the West Paulista. The respirometer of Bartha is a simple technique and low cost to determine the biodegradation of pollutants in soil, by measurement of CO<sub>2</sub> measured in the system. Results confirmed that biodegradation curve in control respirometer related with the same curve in sample respirometer, showed considerable difference in CO<sub>2</sub> production. This variation in functions linearity may be consequent of high organic matter quantity that was present in waste. Technique proved to be a low cost simple alternative to biodegradation rate assessment in soil pollution.

**Key-words:** biodegradation, Bartha's respirometer, soil respiration, vinasse.

---

Trabalho recebido em 09/05/2009 e aceito para publicação em 08/06/2009.

<sup>1</sup> Aluna do curso de Engenharia Ambiental da Universidade Estadual Paulista (Unesp) em Presidente Prudente SP. e-mail: [jaque\\_acamargo@hotmail.com](mailto:jaque_acamargo@hotmail.com);

<sup>2</sup> Aluna do curso de Engenharia Ambiental da Unesp em Presidente Prudente SP. e-mail: [natybelgium@yahoo.com.br](mailto:natybelgium@yahoo.com.br);

<sup>3</sup> Graduanda em Engenharia Ambiental pela Faculdade de Ciência e Tecnologia, Unesp, SP. e-mail: [patyrosalino@hotmail.com](mailto:patyrosalino@hotmail.com);

<sup>4</sup> Doutor em Hidráulica e Saneamento, Professor do Departamento de Física, Química e Biologia, Unesp, em Presidente Prudente Endereço para correspondência: Rua Roberto Simonsen, 305 CEP 19060-900, Presidente Prudente SP. e-mail: [fteran@fct.unesp.br](mailto:fteran@fct.unesp.br)

## 1. INTRODUÇÃO

O setor canavieiro brasileiro é considerado um dos mais produtivos e competitivos do mundo (PAGEL, 2006). O principal pólo de produção localiza-se no Estado de São Paulo, mas se estende para toda região centro-sul do país (UNICA, 2009). Gradativamente, esta cultura, que representa mais estabilidade e ganhos financeiros para o produtor rural, foi se expandindo e inúmeras fazendas trocaram suas lavouras e pastagens (BRUNALDI, 2007).

A produção de álcool no Brasil amplia continuamente, conforme demonstram os dados estatísticos da ÚNICA (UNIÃO NACIONAL DAS USINAS DE CANA DE AÇUCAR), pois entre as safras de 1997/1998 e a de 2007/2008 o aumento foi de 62%, havendo um acréscimo de 190 milhões de toneladas de cana produzida no país. Este fato está vinculado principalmente ao aumento de veículos bicompostíveis que podem ser abastecidos tanto com o álcool como a gasolina, além do consumo interno e externo do álcool anidro.

A vinhaça é o resíduo final da fabricação do álcool etílico por via fermentativa e também é conhecida por vinhoto, restilo, caldo ou garapão, dependendo da região. Até que se conhecesse uma destinação mais adequada

para este resíduo, ele era considerado um problema nas usinas e destilarias de álcool e açúcar, por ser rico principalmente em potássio (K), matéria orgânica (M.O.), nitrogênio (N), enxofre (S), cálcio (Ca) e água. Na década de 70, quando a produção de cana voltou a ganhar destaque, os problemas ambientais que ela trazia voltaram a despertar o interesse dos pesquisadores. Nesta época, a crise de petróleo incentivava os países a buscar combustíveis alternativos, e o Brasil investiu enormemente no então criado Proálcool (Programa do Açúcar e do Álcool). Com o advento do Proálcool, houve uma grande expansão da indústria alcooleira do país e, como consequência, um aumento significativo da produção de álcool, o que fez com que o problema da poluição por vinhaça voltasse a ser fonte de grande preocupação.

Com o incentivo do Proálcool, a produção canavieira cresceu trazendo graves impactos ambientais, como os inúmeros relatos de grande mortalidade de peixes, quando se dispunha a vinhaça diretamente nos rios, gerando o Decreto-Lei nº 303, de 28 de fevereiro de 1967, que proibiu definitivamente a disposição da vinhaça nos rios, lagos e cursos de água.

Os primeiros estudos para aplicação da vinhaça nos solos datam da década de 1950 e foram realizados na Escola

Superior de Agronomia Luiz de Queiroz (ESALQ), da Universidade de São Paulo, situada na cidade de Piracicaba. Estes estudos, que foram ministrados pela equipe do Professor Jaime Rocha de Almeida, deram início a esta linha de pesquisa, que até hoje ainda expressa cautela quanto a sua disposição direta no solo. Essa ocorrência se dá pelo fato de ser a vinhaça um resíduo de natureza orgânica, desconstituída de contaminantes, metais ou outros compostos indesejáveis.

Os desequilíbrios ecológicos provocados pelo descarte da vinhaça nos cursos d'água deram início ao desenvolvimento de estudos para descobrir meios racionais que buscassem o aproveitamento desse resíduo. Dentre as diversas alternativas, destaca-se o seu uso como fertilizante, através da fertirrigação que se tornou freqüente entre as usinas desde a década de 80 do século passado. (CORAZZA, 2000).

A adoção da prática da fertirrigação, amplamente difundida pelas agroindústrias, consiste na infiltração da vinhaça in natura no solo com objetivo de fertilizá-lo e também irrigar a cultura da cana-de-açúcar. O baixo investimento inicial (tanques de decantação, caminhões, bombas e tubos), o baixo custo de manutenção, a rápida disposição da vinhaça no solo (sem necessidade de

grandes tanques reguladores) e o aumento da produtividade da safra e da produtividade na fabricação do açúcar podem ser citados como razões da difusão dessa prática (VIANA, 2006).

A Resolução CNRH N° 54 (2005) define os efluentes líquidos de agroindústrias tratados ou não como água residuária, e o reuso da água como sendo a utilização de águas residuárias. Assim, o uso de vinhaça em solos brasileiros configura-se como maior exemplo de reuso da água. A produção de vinhaça brasileira está em torno de 200 bilhões de litros, quase que na sua totalidade empregada para uso na irrigação de solos, segundo informações da APTA (2008).

Em março de 2005, foi homologada a Norma Técnica da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (CETESB) P4.231 intitulada "Vinhaça: Critérios e Procedimentos Para Aplicação no Solo Agrícola", objetivando estabelecer os critérios e procedimentos para aplicação de vinhaça gerada na atividade sucroalcooleira pelo processamento de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo.

A atividade canavieira paulista começa a contemplar novas áreas de inserção e novas fronteiras do Oeste paulista começam a ser objeto de expansão

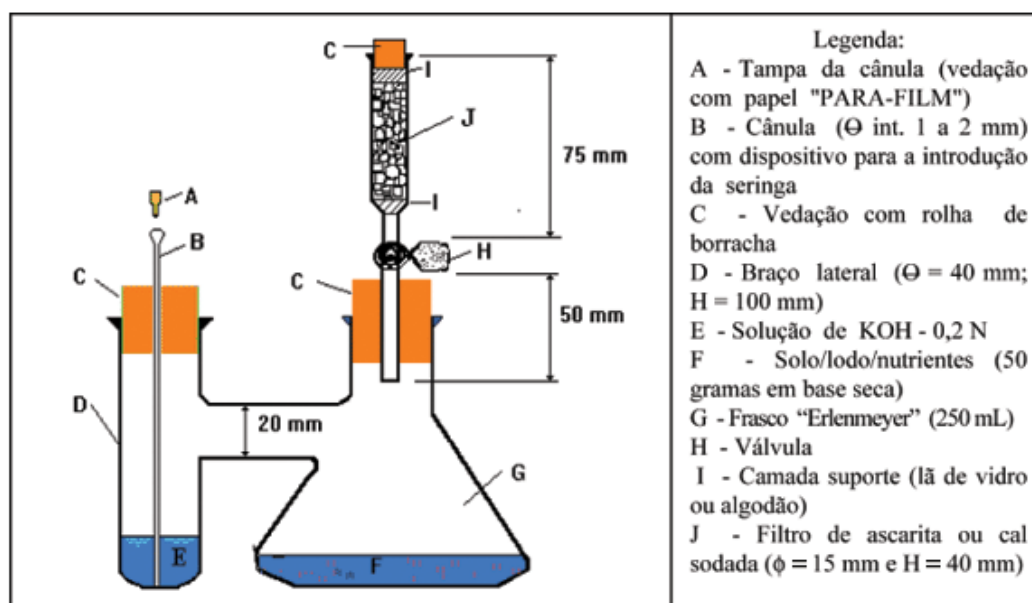
para esta atividade, entretanto esta região se caracteriza por ser possuidora de um solo com baixíssimo poder tampão e não possuir grande quantidade de estudos sobre o comportamento da aplicação na região. Este trabalho relata as experiências realizadas visando avaliar a biodegradabilidade da vinhaça quando aplicada no solo na região do oeste paulista sem histórico de aplicação, por meio da utilização do método Respirométrico de Bartha, padronizado pela norma brasileira NBR 14283 (ABNT, 1999). Este método tem sido utilizado como uma importante ferramenta para avaliar a degradação de compostos orgânicos no solo, a partir de medidas da evolução do CO<sub>2</sub>. O método baseia-se na medição de gás carbônico, produzido durante a atividade microbiana no processo de respiração, e possibilita

estimar a velocidade de degradação completa de resíduos no solo, o tempo de estabilização dos compostos orgânicos e uma possível toxicidade do mesmo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A determinação da taxa de biodegradação da matéria orgânica contida no resíduo agrícola foi feita através do método respirométrico de Bartha (Figura 1), o qual está prescrito na norma técnica L 6.350 da CETESB e a NBR 14283/99.

A amostra de solo, sem histórico de uso prévio de vinhaça, foi coletada próxima a Central de Laboratórios no Campus na Faculdade de Ciência e Tecnologia (UNESP - Presidente Prudente), conforme as recomendações da CETESB L 6.245.



**Figura 1.** Esquema respirômetro de Bartha (ABNT, 1999).

A escavação apresentou as seguintes características: altura variando de 40 – 45 cm; comprimento de 11 cm e largura de 32 cm. O solo foi coletado a partir dos 30 cm de profundidade para que a amostra não retivesse nenhum resquício do horizonte orgânico. O resíduo foi fornecido por uma usina sucroalcooleira da região de Presidente Prudente

O experimento foi feito em triplicata e para cada respirômetro pesou-se ( $50 \pm 0,1$ ) g de solo e aplicou-se 15 mL de vinhaça, que corresponde a 30% em relação à massa do solo, ou seja, 17,145 g de vinhaça (Densidade:  $1,143 \text{ g mL}^{-1}$ ).

A mistura do solo e do composto orgânico foi homogeneizada e, posteriormente, incubada na estufa de DBO/DQO á  $20^\circ\text{C} \pm 2$  com fotoperíodo de 12 horas. Para a determinação da quantidade de  $\text{CO}_2$  produzido por microrganismos aeróbios ao metabolizarem dada fonte de carbono, a solução de KOH (10 mL; 0,2 N), localizada no braço lateral do respirômetro, foi periodicamente retirada com seringa, e a quantidade de gás carbônico absorvida foi medida pela titulação do KOH residual, após a adição de solução de cloreto de bário (1 mL; 1,0 N) com uma solução padronizada de HCl (0,1 N). Durante este procedimento, os respirômetros foram aerados durante minutos, enquanto

realizava-se a titulação da solução de hidróxido de potássio, através dos filtros de ascarita (cal sodada).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os respirômetros ficaram incubados no período de 34 dias. Abaixo, apresenta-se a Tabela 1 que mostra das leituras feitas do volume de HCl gasto nas titulações durante este espaço de tempo.

O volume de ácido titulado no ensaio é estipulado através da média aritmética dos três respirômetros. Através destes valores, estipula-se a quantidade de  $\text{CO}_2$  desprendido pela seguinte fórmula:

$$\mu\text{mol CO}_{2\text{solo(resíduo)}} = (A - B).50.f_{\text{HCl}} \quad (1)$$

em que A é o volume de HCl 0,1 N gasto para titular o branco (mL); B é o volume de HCl 0,1 N gasto para titular o tratamento (mL); 50 é um fator para transformar equivalente em  $\mu\text{mol}$  de  $\text{CO}_2$ ;  $f_{\text{HCl}}$  é o fator do HCl 0,1N.

A Tabela 2 fornece os valores de  $\text{CO}_2$  desprendidos dos respirômetros do ensaio e do controle. Para se determinar a quantidade de gás carbônico produzida devido a biodegradação, subtraiu-se o  $\text{CO}_2$  gerado no respirômetro controle daquele observado na média do tratamento, obtendo-se os dados de produção acumulada ao longo dos 34 dias (Tabela 3).

**Tabela 1.** Leitura do volume de HCl utilizado nas titulações da solução de KOH.

Data de Leitura	Volume de HCl gasto (mL)		
	Branco	Ensaio (Média)	Controle
27/out	18	0	0
03/nov	17,5	11,6	17
07/nov	17,8	8,2	16,1
10/Nov	17	8,6	17
13/Nov	17,5	11,3	16,4
20/Nov	16,7	10,6	16,6
30/Nov	17,3	9,5	15,5

**Tabela 2:** Quantidade de CO<sub>2</sub> liberada nos respirômetros.

Data de Leitura	Tratamento (μmol CO <sub>2</sub> )	Controle (μmol CO <sub>2</sub> )
27/out	0	0
03/nov	316,84	49,5
07/nov	435,6	44,5
10/Nov	455,4	39,6
13/Nov	282,15	29,7
20/Nov	341,15	44,55
30/Nov	356,4	59,4

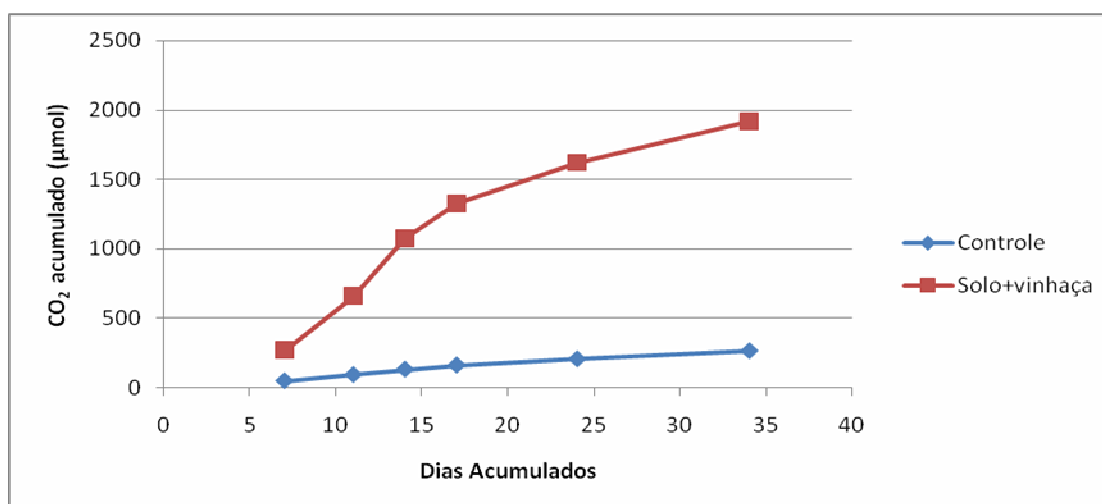
**Tabela 3.** Produção acumulada de CO<sub>2</sub> durante o experimento.

Produção Acumulada	Dias
0	0
267,3	7
658,35	11
1074,15	14
1326,6	17
1623,6	24
1920,6	34

Através destes dados, pode-se gerar o gráfico da quantidade de CO<sub>2</sub> acumulado produzido por biodegradação em função do tempo, conforme mostrado na Figura 2.

A Figura 2 demonstra que a curva da biodegradação do ensaio solo + vinhaça ao

longo do período em que foi realizado o experimento, manteve-se ascendente. Os resultados mostraram que ocorreu aumento no desprendimento do CO<sub>2</sub> a partir do décimo primeiro dia na mistura solo + vinhaça.



**Figura 2.** Produção de CO<sub>2</sub> acumulado durante o período de 34 dias.

#### 4. CONCLUSÃO

Este experimento supôs a análise prática da técnica de respirometria a partir das análises de amostras de vinhaça em diferentes profundidades no solo. Contudo, pôde-se verificar a biodegradação da vinhaça no solo em apenas uma profundidade, a qual foi descrita na metodologia (30 cm). Foi desconsiderada a primeira leitura da titulação da solução de KOH, pois os cálculos resultaram em um valor negativo de desprendimento de CO<sub>2</sub>, ficando inviável a sua relevância na curva de biodegradação. Os resultados demonstram que a curva de biodegradação do respirômetro controle e do ensaio apresentaram uma considerável diferença na quantidade de CO<sub>2</sub> produzido nos mesmos. Esta divergência da linearidade de funções representadas no gráfico pode estar atribuída à grande quantidade de

matéria orgânica presente no resíduo em estudo.

Contudo, estas foram as considerações obtidas no experimento, promovendo o conhecimento de novas fontes de estudo para a técnica que se apresenta como alternativa de baixo custo e simplicidade para se avaliar as taxas de biodegradação de possíveis contaminantes no solo.

#### REFERÊNCIAS

AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS – PÓLO CENTRO SUL. APTA. **Workshop: Aspectos ambientais da cadeia do etanol de cana-de-açúcar.** Projeto Diretrizes De Políticas Públicas Para A Agroindústria Canavieira do Estado de São Paulo - Programa de Pesquisa em Políticas Públicas (PPPP). Piracicaba, 2008.

- Associação Brasileira de Normas Técnicas.  
ABNT NBR 7181: **Solo: Análise Granulométrica: Método de ensaio.** Rio de Janeiro. 1982.
- \_\_\_\_\_  
NBR 10007: **Resíduos Sólidos: amostragem de resíduos sólidos.** Rio de Janeiro. 1987 e 2004
- \_\_\_\_\_  
NBR 14283: **Resíduos em solos: determinação da biodegradação pelo método respirométrico.** Rio de Janeiro. 1999
- \_\_\_\_\_  
NBR 12713: **Água - ensaio de toxicidade aguda com *daphnia similis claus*, 1876 (cladocera, crustacea) - Método de ensaio.** Rio de Janeiro. 1993
- \_\_\_\_\_  
NBR 6502: **Rochas e solo: terminologia.** Rio de Janeiro. 1995
- \_\_\_\_\_  
NBR 6459: **Solos: Determinação do limite de liquidez.** Rio de Janeiro. 1984
- BRUNALDI, C. E MANCINELLI, C. **O avanço da cana-de-açúcar na região da alta paulista: perspectivas e conseqüências econômicas e sociais para os pequenos e médios produtores agrícolas.** Fórum Ambiental da Alta Paulista Vol. III, 2007.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL. CETESB. **Solo: determinação da biodegradação de resíduos: método respirométrico de Bartha: norma técnica L6.350.** São Paulo. 1990.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL. CETESB. **Solo: coleta e preparação de amostras: procedimentos: norma técnica L6.245.** São Paulo, 1984.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL. CETESB. **Vinhaça: critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola: norma técnica P4.231.** São Paulo, 2005.
- CORAZZA, I.C. **Reflexões sobre o papel das políticas ambientais e de ciência e tecnologia na modelagem de opções produtivas ‘mais limpas’ numa perspectiva evolucionista: um estudo sobre disposição da vinhaça.** Departamento de política científica e tecnológica. Instituto de Geociências, da Unicamp. Tese de Doutorado. Campinas, 2000.
- CNRH – CONSELHO NACIONAL DE RECURSOS HÍDRICOS. **Resolução No 54, de 28 de novembro de 2005.** Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente, 2005.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Portaria N° 518,** de 25 de março de 2004.
- PAGEL G. **Setor Sucroalcooleiro: mudança de cenários e boas perspectivas.** Sociedade Rural Brasileira. 2006.
- VIANA, A. B. **Tratamento anaeróbio da vinhaça em reator UASB operado em temperatura na faixa termofílica (55° C) e submetido ao aumento progressivo de carga orgânica.** Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 2006.
- UNICA – UNIÃO NACIONAL DAS USICAS DE CANA DE AÇUCAR. **Estatística de 2009.** Site corporativo disponível em <http://www.unica.com.br>., 2004.