

ESTUDO DA BIOSOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO EM MEIO ÁCIDO PRODUZIDO EM REATOR AIR-LIFT

ANA CAROLINA F. SOLDAN¹, BRUNA V. CABRAL¹, TACIANA SOARES DO CARMO¹, LARISSA. N. S. S. FALLEIROS¹, VICELMA L. CARDOSO¹ e ELOÍZIO J. RIBEIRO¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Química
E-mail para contato: acfs105@gmail.com.br

RESUMO – O baixo nível de fósforo disponível no solo para as plantas é uma condição comum ao redor do mundo. Fertilizantes em grandes quantidades são utilizados a fim de suprir a deficiência desse elemento garantindo assim um melhor desenvolvimento da planta, no entanto isso gera altos custos e problemas ambientais. O presente trabalho propôs o uso de micro-organismos fúngicos excretores de ácidos orgânicos para aumentar a concentração de fósforo em solução, sendo essa uma possível alternativa, ecologicamente correta e sustentável, ao processamento químico tradicional.

1. INTRODUÇÃO

O fósforo possui papel importante no desenvolvimento de plantas. Ele é um dos responsáveis pela transferência de energia da célula, respiração e fotossíntese. As limitações na sua disponibilidade, no início do ciclo vegetativo, podem resultar em restrições ao desenvolvimento, das quais a planta não se recupera posteriormente, mesmo aumentando o suprimento de fósforo a níveis adequados (Grant et al., 2001).

Embora o fósforo total do solo possa ser alto, ele não está disponível para as plantas, sendo encontrado ligado firmemente a compostos orgânicos e inorgânicos. No entanto, em condições apropriadas, os minerais podem ser solubilizados e tornam-se disponíveis para as plantas e micro-organismos (Behera et. al, 2013).

O uso de fertilizantes gera altos custos e vários problemas ambientais. Como uma alternativa menos agressora ao meio ambiente e mais barata surge o termo biofertilizante definido como o uso de micro-organismos do solo para aumentar a disponibilidade e absorção de nutrientes minerais para as plantas, visando à melhoria da produtividade agrícola e tornando-se uma ferramenta promissora para a agricultura atual do mundo (Vessey, 2003). O presente trabalho visa analisar a interação dos micro-organismos na solubilização de rochas fosfatadas.

Diversos tipos de reatores têm sido utilizados para estudo do processo de biossolubilização ganhando destaque os reatores air-lift (ARL). Os ARLs são os que melhor conferem homogeneidade de nutrientes e de iluminação ao sistema. Esses reatores consistem de duas zonas distintas, preenchidas por um líquido, na qual uma delas é de dispersão gasosa. É devido à diferença de densidade do fluido, em razão das bolhas de gás que se dispersam pela zona chamada de riser, em comparação com a zona de downcomer, que se dá a

movimentação do fluido no reator. O principal objetivo dos ARLs é facilitar o intercâmbio de matéria entre as fases líquida e gasosa, como por exemplo, possibilitando a dissolução de CO₂ da fase gasosa para a líquida, bem como a remoção de O₂ produzido da fotossíntese da fase líquida para a fase gasosa (Merchunk e Gluz, 1999).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Utilizou-se o concentrado fosfático (fluorapatita), com teor de 35,7% de P₂O₅, fornecido pelo Complexo de Mineração de Tapira (Vale/Fosfertil), localizado na região do Alto Paranaíba, situado em Araxá, distante 340 km a oeste de Belo Horizonte, Minas Gerais. Os fungos aqui utilizados foram coletados em diferentes locais do Complexo de Mineração de Tapira (Vale/Fosfertil), localizado na região do Alto Paranaíba, Minas Gerais.

2.2. Métodos

Isolamento e Cultivo: O fungo, inicialmente, foi isolado das amostras coletadas para obtenção de culturas puras. Realizou-se o repique para a manutenção e manipulação dos isolados fúngicos. Para o isolamento e o cultivo utilizou-se placas de Petri com meio sintético seletivo sólido descrito na tabela 1 e ilustrado pela figura 1 (Pikovskaya, 1948).

Tabela 1 – Meio Sintético Seletivo Sólido (Pikovskaya, 1948).

| Componente | Quantidade (g/L) |
|-----------------------|------------------|
| Dextrose (=D-glicose) | 10 |
| Ágar | 15 |
| Extrato de Levedura | 0,5 |
| Fosfato Tricálcico | 5 |
| Sulfato de Magnésio | 0,1 |
| Sulfato de Amônio | 0,5 |
| Sulfato Ferroso | 0,0001 |
| Sulfato de Manganês | 0,001 |
| Cloreto de Potássio | 0,2 |

Figura 1 – Placas de Petri com meio sintético seletivo sólido



Armazenamento e preservação: As placas de Petri contendo os isolados foram armazenadas em refrigerador a ± 4 °C. Para garantir a viabilidade das culturas foram realizados cultivos periódicos por meio de repicagens de 3 a 3 meses. Utilizou-se também óleo mineral 40% (glicerol) previamente esterilizado para cobrir totalmente as colônias contidas em eppendorfs. Para reativar o micro-organismo armazenado a 4°C sob óleo mineral, foi necessário repicar o mesmo para placas contendo meio sintético seletivo sólido e esperar a reativação de crescimento da cultura.

Classificação Quantitativa: Teve como objetivo identificar entre os isolados aqueles com maior capacidade de solubilização do fosfato de rocha em meio líquido. Para realização deste ensaio preparou-se o meio seletivo modificado líquido descrito na Tabela 2. Porções de 100 mL do meio modificado foram distribuídas em erlenmeyers de 500 mL. Os recipientes tampados com rolhas de algodão foram esterilizados. Após resfriamento a temperatura ambiente, foram inoculadas em Erlenmeyers cerca de 10^6 esporos dos isolados fúngicos selecionados sob temperatura ambiente, agitação de 100 RPM e aeração constante durante 7 dias (Sampaio et al., 2003).

Tabela 2 - Meio seletivo modificado líquido (Sampaio *et al.*, 2003)

| Componente | Quantidade (g/L) |
|------------------------|-------------------------|
| Dextrose (= D-glicose) | 5 |
| Extrato de Levedura | 0,5 |
| Rocha fosfática | 5 |
| Sulfato de Magnésio | 0,1 |
| Sulfato de amônio | 0,5 |
| Sulfato ferroso | 0,001 |
| Sulfato de manganês | 0,001 |
| Cloreto de potássio | 0,2 |

Determinação do fósforo solúvel: O fósforo solúvel foi quantificado nos extratos líquidos (meio líquido) após os ensaios. A determinação do fósforo solúvel em solução se deu de acordo com o procedimento descrito em APHA – AWWA – WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. Washington, D. C.: American Public Health Association, 1998. – part 4000 Inorganic nonmetallic constituents, 4500-P Phosphorus.

Reator Air-lift (figura 2): Utilizou-se 3000 mL de meio sintético seletivo líquido (Tabela 2) exceto pela rocha fosfática em reator air-lift com aeração ascendente de ar comprimido a 0,4 m/s. Operou-se o mesmo durante 5 dias em que alíquotas eram coletadas diariamente para avaliação do crescimento celular e produção de ácidos orgânicos. O meio líquido produzido no reator air-lift após 5 dias foi empregado, em erlenmeyers, para avaliação da capacidade de biossolubilização de fósforo pelo micro-organismo 8.

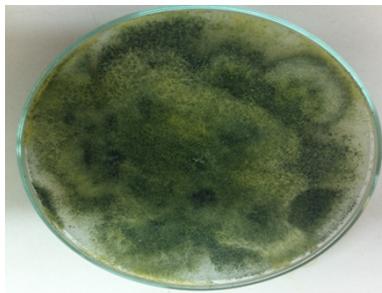
Figura 2 – Reator Air-Lift



3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Através de experimentos preliminares o isolado fúngico que apresentou maior capacidade de solubilização foi o isolado 8, ilustrado pela figura 3, sendo o mesmo utilizado em todos experimentos seguintes.

Figura 3 – Isolado fúngico 8



Inicialmente, em reator air-lift estudou-se o crescimento celular apresentado na Figura 4, consumo de açúcar e a produção de ácidos, os quais foram identificados e quantificados através de cromatografia líquida (HPLC), como apresentado na Tabela 3.

Figura 4 – Crescimento celular

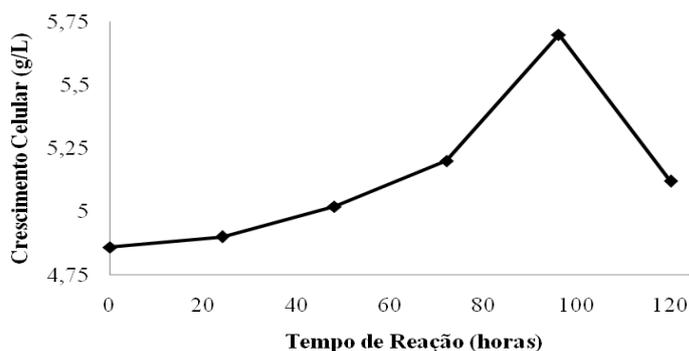


Tabela 3 – Produção de Ácidos em reator air-lift durante 5 dias empregando meio sintético seletivo líquido (Tabela 2) sem rocha com velocidade do ar comprimido igual a 0,4 m/s

| Dias | Ácido Lático (g/L) | Ácido Acético (g/L) | Ácido Propiônico (g/L) |
|------|--------------------|---------------------|------------------------|
| 1 | 0,0006 | 0,0117 | 0 |
| 2 | 0,0015 | 0,0083 | 0,6544 |
| 3 | 0,0016 | 0,0156 | 1,2710 |
| 4 | 0,0262 | 0,0118 | 1,6695 |
| 5 | 0,0350 | 0,0170 | 1,7359 |

Em erlenmeyers utilizou-se um volume de 100 mL de meio sintético seletivo derivado do reator air-lift com adição de rocha fosfática e inóculo de micro-organismo 8 acompanhada de aeração com velocidade do ar igual a 0,4m/s. Variou-se a concentração de rocha fosfática em 5, 10 e 20 g/L e avaliou-se a solubilização de fósforo pelo isolado fúngico 8, como apresentado na Tabela 4. O fósforo solúvel foi quantificado através do método calorimétrico em que a curva de calibração obtida é apresentada na Equação 1:

$$\text{Concentração de fósforo (PPM)} = 34,34(\lambda) - 0,4464 \quad (1)$$

Tabela 4 – Biossolubilização de fósforo em erlenmeyers diante de diferentes concentrações de rocha fosfática

| Concentração de rocha (g/L) | Tempo de Reação (horas) | Absorbância | Concentração de Fósforo (PPM) |
|-----------------------------|-------------------------|-------------|-------------------------------|
| 5 | 48 | 0,112 | 40,881 |
| | | 0,152 | |
| | 72 | 0,154 | 51,166 |
| | | 0,170 | |
| | 120 | 0,162 | 85,506 |
| | | 0,362 | |
| 10 | 48 | 0,118 | 36,057 |
| | | 0,117 | |
| | 72 | 0,151 | 51,338 |
| | | 0,174 | |
| | 120 | 0,187 | 59,408 |
| | | 0,185 | |
| 20 | 48 | 0,113 | 35,713 |
| | | 0,120 | |
| | 72 | 0,155 | 46,874 |
| | | 0,144 | |
| | 120 | 0,170 | 55,287 |
| | | 0,178 | |

Ao analisar a Tabela 4 pode-se observar que houve uma maior biossolubilização de fósforo pelo isolado fúngico 8 diante de concentrações inferiores de rocha fosfática. Após 5 dias observou-se um aumento na capacidade de biossolubilização do micro-organismo empregado. Ao avaliar a condição em que empregou-se 5g/L de rocha fosfática nota-se que houve uma biossolubilização de 10,97% do fósforo presente na rocha fosfática, a qual apresentava inicialmente 779,24 PPM de fósforo, ou seja, 37,5% de teor de P_2O_5 .

Sabe-se do trabalho de Schneider et al. (2010) que os diferentes tipos de rocha contribuem para o pH e a acidez do meio e que estes parâmetros influenciam na solubilização do fósforo como pode ser visto pelos resultados por eles obtidos: rocha fosfática de Catalão Brasil com valores de $P = 281$ mg/L, $pH = 2,62$ e acidez = 3,1 g/L, a rocha de Kapuskasing Canadá obtiveram $P = 306$ mg/L, $pH = 2,57$ e acidez = 2,0 g/L e Carolina do Norte USA valores de $P = 382$ mg/L, $pH = 3,28$ e acidez = 5,1 g/L.

Conclui-se que o uso de biofertilizantes aliados a determinados tipos de rochas são uma alternativa viável para a substituição do uso de fertilizantes químicos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEHERA, B. C.; SINGDEVSACHAN, S. K.; MISHRA, R.R.; DUTTA, S.K.; THATOI, H.N. Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilizing microorganism in mangrove – A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. India. p. 97-110, 2013
- GRANT, C.A.; FLATEN, D.N.; TOMASIEWICZ, D.J.; SHEPPARD, S.C. A importância inicial do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. *Informações Agrônomicas*, Piracicaba, n. 94, p. 1-5, 2001.
- MERCHUK, J. C. and Gluz M. Bioreactor, air-lift reactors. *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation*. Editora John Wiley & Sons. 1999.320-324, 327, 340-344.
- NEPOLEAN, P.; JAYANTHI, R.; PALLAVI, R.V. BALAMURUGAN, A.; KUBERAN, T.; BEULAH, T.; PREMKUMAR, R. Role of biofertilizers in increasing tea productivity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. p.1443-1445, 2012.
- PIKOVSKAYA, R.I. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Microbiologiya* 17, 362-370, 1948.
- SAMPAIO, R.M.; ALEGRE, R.M.; MARCOS, S.K.; BARROTI, G.; UBEDA, B. T. Estudo da Solubilidade de Fosfato de Rocha Tipo Tapira por Fungos do Gênero *Aspergillus*. In: XIV Simpósio Brasileiro de Fermentações - SINAFERM, 2003, Florianópolis. Anais do. XIV Simpósio Brasileiro de Fermentações - SINAFERM, 2003
- SCHNEIDER, K.D.; VAN STRAATEN, P.; DE ORDUÑA, R.M.; GLASAUER, S.; TREVORS, J.; FALLOW, D.; SMITH, P.S. Comparing phosphorus mobilization strategies using *Aspergillus niger* for the mineral dissolution of three phosphate rocks. *Journal of Applied Microbiology*. v.108(1), p. 366-374, 2010.
- VESSEY, J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*. Canada. n. 255, p. 571-586, 2003.