

AValiação DA BIOSsolubilização DE POTÁSSIO POR BACTÉRIAS A PARTIR DE RESÍDUO DE EXTRAÇÃO DE ROCHAS ORNAMENTAIS

Camila Ferreira Chaves Mattos

Aluna de Engenharia de Bioprocessos, 7º período, UFRJ
Período PIBIC/CETEM: janeiro de 2010 a julho de 2012
cmattos@cetem.gov.br

Cláudia Duarte da Cunha

Orientadora, Eng. Química, D.Sc.
ccunha@cetem.gov.br

1. INTRODUÇÃO

A agricultura no Brasil tem uma grande importância na economia, contudo a mesma é muito dependente da importação de fertilizantes. Com o crescimento da produção agrícola, tanto para fins alimentícios quanto para biocombustíveis, aumenta-se a demanda pelos fertilizantes, dentre eles, destaca-se o potássio, visto que sua taxa de importação chega a 90%. Torna-se, portanto, necessário o estudo de rotas alternativas para obtenção do mesmo (KULAIF; FERNANDES, 2010).

Ainda se conhece pouco sobre os genes envolvidos e os mecanismos de biossolubilização de minerais por bactérias, porém recentemente tal capacidade vem sendo testada em ensaios *in vitro*. Sendo assim, a biossolubilização é uma das rotas alternativas de obtenção de fertilizantes e é objeto de estudo deste trabalho (UROZ; FREY-KLETT, 2011).

2. OBJETIVOS

A partir de ensaios *in vitro* foi avaliado o potencial de biossolubilização de potássio a partir do resíduo de extração de rochas ornamentais por estirpes isoladas de rizosfera de algodão.

3. METODOLOGIA

3.1 Ensaios de Biossolubilização

3.1.1. Avaliação da melhor concentração de glicose.

A partir dos resultados obtidos em ensaio preliminares de biossolubilização, foi identificada a necessidade do ajuste da concentração de substrato a ser utilizada nos ensaios com duração de 14 dias, evitando o esgotamento do mesmo em 5 dias.

Neste experimento, foram testadas duas concentrações de glicose: 2 g/L (a mesma utilizada em testes anteriores) e 5 g/L. Foram utilizados frascos erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL do meio Bushnell Haas modificado, não incorporando potássio ao meio (0,2 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,02 g/L $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0,88 g/L NaH_2PO_4 , 1,0 g/L $(NH_4)HPO_4$, 0,39g/L NH_4NO_3), e 1,31 g do resíduo de extração de rochas ornamentais (Feldspato de Potássio contendo 9,6% K_2O , proveniente da Paraíba), com granulometria na faixa de 14 - 35 mesh. Foi adicionado um inóculo de 10%(v/v) da estirpe 5.7, após crescimento em meio Bushnell Haas comercial por 24 h. Os frascos foram colocados sob agitação em shaker (150 rpm), à 30°C por 5 dias. Os experimentos foram realizados em duplicata, além do ensaio controle, sem adição do inóculo para cada concentração de glicose testada.

Amostras foram retiradas no tempo inicial (0 h), em dois tempos intermediários (24 e 48 horas) e no tempo final (5 dias) para avaliação do consumo de glicose pelo método DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) (SUMNER, 1924). Para as análises de solubilização de potássio, por espectrometria de absorção atômica, e de crescimento microbiano, indiretamente pela concentração de proteína utilizando método de Lowry (LOWRY *et.al.*1954), foram utilizadas amostras apenas do tempo inicial e final.

3.1.2. Avaliação da solubilização de potássio pelas estirpes isoladas

Os ensaios foram realizados com 10 estirpes isoladas de solo rizosférico de algodão e mais uma estirpe isolada a partir do resíduo (R.1.4.2), que foram testadas em ensaios prévios de biossolubilização. Contudo, o resíduo anterior era diferente, pois apresentava menor granulometria e teor de K_2O mais baixo (3,4%). Foram utilizados frascos erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL do mesmo meio (Bushnell Haas modificado) e 1,31 g do resíduo de extração de rochas ornamentais (Feldspato de Potássio contendo 9,6% K_2O). Foi adicionado um inóculo de 10% (v/v) de cada estirpe testada, após crescimento em meio Bushnell Haas comercial por 24 h. Adotou-se a concentração inicial de 5 g/L de glicose, realizando uma adição de substrato correspondente a 5 g/L após 5 dias. Os frascos foram colocados sob agitação em shaker (150 RPM), à 30 °C por 14 dias. Os experimentos foram realizados em duplicata, além de um ensaio controle, sem adição do inóculo. Amostras foram retiradas no tempo inicial (0h), no tempo intermediário (5 dias) e no tempo final (14 dias) para avaliação da concentração de potássio por espectrometria de absorção atômica, consumo de glicose pelo método DNS (SUMMER, 1924) e crescimento microbiano, pela dosagem de proteína pelo método de Lowry (LOWRY *et.al.*1954).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação da melhor concentração de glicose

Os resultados referentes ao consumo de glicose pela estirpe 5.7 estão apresentados na Figura 1. A. Observa-se que adotando a concentração de 2 g/L, em 24 horas o substrato já está esgotado, sendo tal concentração, de fato, insuficiente para o período de ensaio desejado, conforme havia sido observado em experimento preliminar. Em contra partida, a nova concentração de 5g/L de glicose foi reduzida a metade em 24 horas, mostrando que o substrato continuou sendo consumido, porém disponível ao final dos 5 dias. Como se desejava realizar os ensaios de biossolubilização com as outras estirpes num período de 14 dias, e considerando que tal concentração residual de glicose (1,5 g/L) seria insuficiente para um período mais longo, concluiu-se ser necessário a adição de mais substrato no tempo de 5 dias para que não houvesse limitação de crescimento e atividade microbiana devido a escassez do mesmo.

A partir dos resultados de crescimento microbiano obtidos indiretamente pela dosagem de proteína (Figura 1. B), observa-se que não houve diferença no tempo final em função da concentração de glicose adotada, contudo houve uma maior disponibilidade de substrato onde foi utilizada uma concentração maior de glicose.

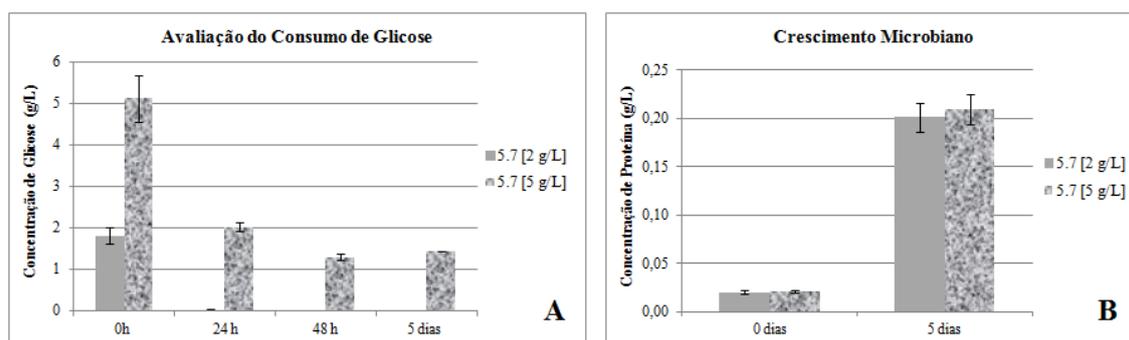


Figura 1. A. Consumo de Glicose pela estirpe 5.7. B. Crescimento Microbiano (Concentração de proteína - estirpe 5.7).

Com os resultados da quantificação de potássio obtidos para a estirpe 5.7, não foi possível observar diferença significativa em relação à concentração de glicose utilizada (dados não apresentados).

4.2. Avaliação da solubilização de potássio pelas estirpes isoladas

Os resultados da concentração de glicose estão apresentados na Figura 2. É possível observar que a maioria das estirpes no tempo de 5 dias já havia consumido mais da metade da glicose inicial, contudo o consumo foi desacelerado no período entre 5 e 14 dias. A reposição de substrato no tempo de 5 dias foi essencial para algumas estirpes, visto que neste tempo já havia sido esgotada a glicose para as estirpes 2.5; 3.2; 5.7 e 6.2.

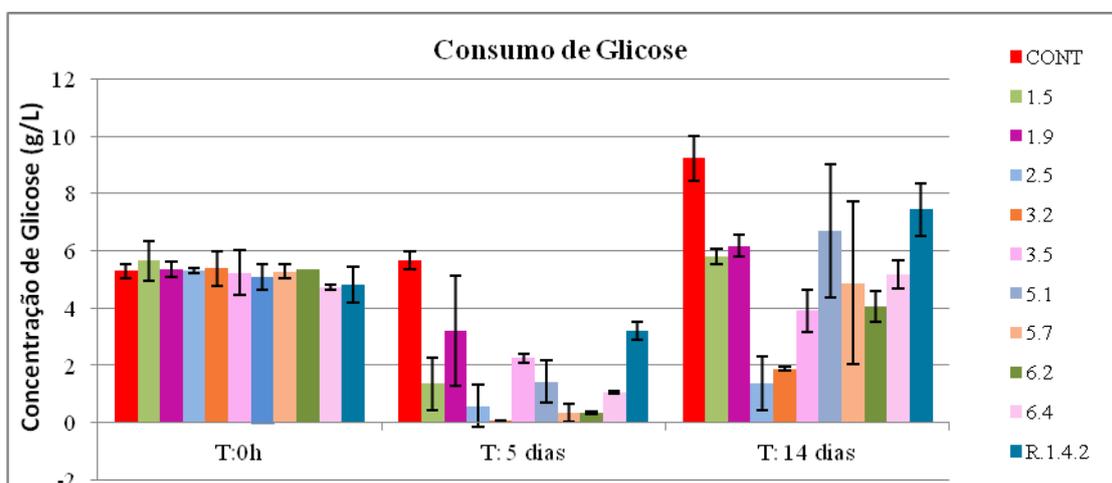


Figura 2. Consumo de glicose pelas estirpes isoladas no ensaio de biossolubilização

Analisando os resultados de crescimento microbiano apresentados na Figura 3, observa-se que as estirpes 3.2 e R.1.4.2 apresentaram os maiores crescimentos em relação às demais isoladas, ressaltando a importância da reposição de substrato em 5 dias.

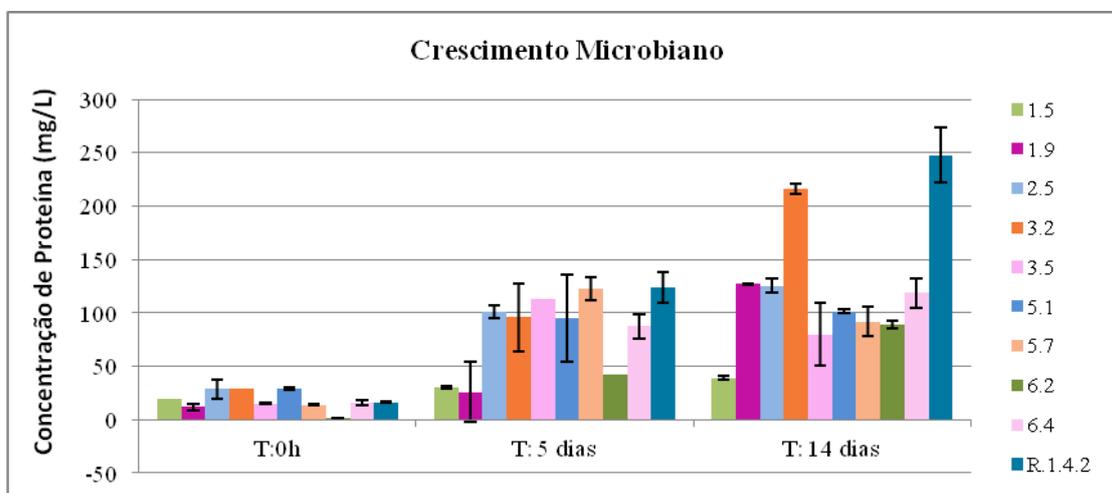


Figura 3. Quantificação de proteína no ensaio de biossolubilização

Com os resultados de liberação de potássio apresentados na Figura 4, destaca-se mais uma vez a estirpe R.1.4.2, que em ensaios preliminares de biossolubilização também apresentou os maiores valores de K^+ solúvel dentre as demais estirpes testadas. Observa-se também que no tempo inicial, os sistemas contendo o inoculo apresentaram maior concentração de K do que o controle, o que indica que se deve realizar mais uma lavagem do inoculo antes da sua adição para uma remoção total do K proveniente do meio de crescimento, visto que o mesmo é carregado pelo inoculo para o frasco de ensaio. Além disso, deve-se estabelecer uma metodologia

para análise de potássio que possivelmente possa ter sido sorvido pelo EPS (substância polimérica extracelular) produzido por algumas estirpes, visto que muitas apresentam características mucoides, sendo possíveis produtoras de EPS, o que subestimaria seu potencial biossolubilizador de K.

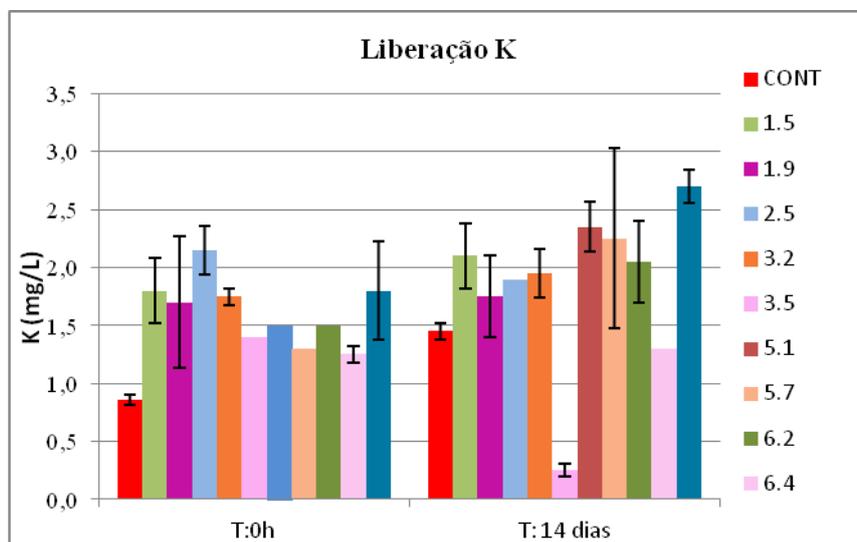


Figura 4. Liberação de K no ensaio de biossolubilização

5. CONCLUSÃO

É possível concluir a partir dos resultados deste trabalho, que a melhor concentração de glicose a ser adotada nas condições avaliadas é de 5 g/L e que dependendo da estirpe, sua reposição faz-se necessária.

A estirpe R.1.4.2 reafirma seu potencial de biossolubilização de K a partir de rejeito de rochas ornamentais e que ainda há a necessidade de mais estudos para avaliação de outros parâmetros que interferem no processo, assim como metodologias para quantificação do potássio, que pode estar sendo sorvido no EPS.

6. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa, ao CETEM/MCT pela infraestrutura, a COAM/CETEM pela realização das análises de dosagem de potássio e à pesquisadora Regina Carrisso pelo suporte técnico na Coordenação do Projeto no qual este trabalho está inserido.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KULAIF, Y; FERNANDES, F. R. C. Panorama dos agrominerais no Brasil: atualidade e perspectivas. In: FERNANDES, F.R.C. et al. (Eds). Agrominerais para o Brasil. 1ed. Rio de Janeiro, RJ, Brasil: Centro de Tecnologia Mineral, 2010, p.61-104.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, n. 193, p. 265-275, 1951.

SUMNER, J.B. The estimation of sugar in diabetic urine using dinitrosalicylic acid. **Journal of Biological Chemistry**. v.62, p. 287-290, 1924.

UROZ, S.; FREY-KLETT, P. Linking diversity to function: highlight on the mineral weathering bacteria. **Central European Journal of Biology**, n. 6, p.817-820, 2011.