

ATIVACÃO BIOLÓGICA DA ROCHA FOSFÁTICA E EFEITO DO TAMANHO DE PARTÍCULA PARA OBTENÇÃO DE BIOFERTILIZANTE FOSFATADO

R. Klaic^a, F. Plotegher^b, C. Ribeiro^b, T.C. Zangirolami^a, C.S. Farinas^{a,b,*}

^aPrograma de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, SP, Brasil. ^bEmbrapa Instrumentação, SP, Brasil. rodrigoklaic@yahoo.com.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio.

Resumo

A solubilização biológica da rocha fosfática (RF) é uma alternativa para obter fertilizantes com baixo impacto ambiental a partir do cultivo microbiano em conjunto com a RF. Entretanto, é necessário estudar estratégias para aumentar a solubilização da RF por processo microbiológico. Portanto, este trabalho propõe avaliar o efeito de quatro diferentes meios nutrientes no cultivo do fungo *Aspergillus niger* (microrganismo solubilizador) com duas RFs de diferentes origens a RF Itafós e a RF Bayóvar. O efeito do tamanho de partícula da RF (ativação mecânica) na solubilização também foi avaliado a partir da moagem da RF. Os resultados mostram que o meio nutriente utilizado no cultivo microbiano tem elevado impacto na solubilização da RF, proporcionando um aumento de até 50% na solubilização da RF e uma ativação mecânica de apenas 10 min possibilitou um aumento de solubilização de 60%, sendo o tempo de moagem (tamanho de partícula) que resultou na maior eficiência de solubilização.

Palavras-chave: Biofertilizante; Rocha fosfática; Tamanho de partícula; *Aspergillus niger*.

BIOLOGICAL ACTIVATION OF PHOSPHATE ROCK AND EFFECT OF THE PARTICLE SIZE FOR OBTAINING A PHOSPHATE BIOFERTILIZER

Abstract

The biological solubilization of phosphate rock (RF) is an alternative to obtain fertilizers with low environmental impact from microbial culture with RF. However, it is necessary to study strategies to increase RF solubilization by microbiological process. Therefore, this work proposes to evaluate the effect of four different nutrients medium in the cultivation of the fungus *Aspergillus niger* (solubilizing microorganism) with two RFs of different origins, RF Itafós and RF Bayóvar. The effect of RF particle size (mechanical activation) on solubilization was also evaluated from RF milling. The results show that the nutrient medium used in the microbial culture has a high impact on RF solubilization, providing an increase of up to 50% in RF solubilization and a mechanical activation of 10 min allowed an increase of 60% in the solubilization, the time of grinding (particle size) which resulted in the highest solubilization efficiency.

Keywords: Biofertilizers; Rock phosphate; Particle size; *Aspergillus niger*.

Publicações relacionadas: R. Klaic; F. Plotegher; C. Ribeiro, T.C. Zangirolami; C.S. Farinas. A novel combined mechanical-biological approach to improve rock phosphate solubilization. *International Journal of Mineral Processing*, 161, 50-58, 2017 (DOI: 10.1016/j.minpro.2017.02.009).

1 INTRODUÇÃO

Fertilizantes químicos fosfatado são utilizados em todo o mundo para melhorar a produtividade agrícola. Entretanto, o processo de produção destes fertilizantes envolve altos custos, uso intenso de ácidos inorgânicos fortes e pode causar danos ambientais. A aplicação de microrganismos capazes de solubilizar fosfatos (MSP) tem sido considerada uma potencial estratégia para obter biofertilizantes via solubilização de rocha fosfática (RF) (KLAIC et al., 2017; MENDES et al., 2014). A solubilização biológica acontece pela acidulação natural, produção de ácidos orgânicos, proporcionada por um microrganismo (MENDES et al., 2014). Por estas razões, é de grande interesse o estudo de técnicas de cultivo submerso utilizando MSP e estratégias para aumentar a produção dos

ácidos orgânicos e a interação destes ácidos com as partículas de RF presentes no meio de cultivo. Portanto, este trabalho propõe avaliar o efeito de quatro diferentes meios nutrientes no cultivo do fungo *Aspergillus niger* com duas RFs de diferentes origens, RF Itafós e RF Bayóvar. As RFs também foram ativadas mecanicamente por moagem e os diferentes tamanhos de partículas obtidos utilizando diferentes tempos de moagem foram avaliados na solubilização biológica. Caracterizações detalhadas das RFs também foram realizadas para entender melhor o processo de solubilização do fósforo (P) presente nessas rochas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Microrganismo

O isolado *Aspergillus niger* C foi obtido da coleção da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Este fungo foi selecionado entre oito fungos filamentosos como o melhor para solubilizar rocha fosfática (KLAIC et al., 2017).

2.2 Rochas fosfáticas

Neste estudo foram utilizadas duas RFs de diferentes origens. A RF Bayóvar (RFB) de origem sedimentar da região de Sechura (Peru), com 30.7% P_2O_5 e a RF Itafós (RFI) de origem ígnea da região Arraisas (Brasil), com 20.3% P_2O_5 . Caracterizações físico-químicas foram realizadas para obter a composição e a mineralogia das RFs por Fluorescência de Raios-X (FRX) e Difração de Raios-X (DRX), além disso, a morfologia das RFs foi observada utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG). A área superficial também foi determinada. As metodologias de caracterização utilizadas estão descritas em Klaic et al. (2017).

2.3 Solubilização das rochas fosfáticas

A solubilização das RFs foi avaliada por cultivo submerso utilizando o fungo *A. niger* adicionando-se uma concentração de 5 g L^{-1} de RF ao meio. As fontes de fosfato foram analisadas individualmente e todos os ensaios foram realizados em triplicatas utilizando quatro meios nutrientes propostos na literatura. Pikvoskaya (PVK), constituído l^{-1} : glucose, 10 g; $(NH_4)_2SO_4$, 0.5 g; NaCl, 0.2 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.1 g; KCl, 0.2 g; extrato levedura, 0.5 g; $MnSO_4 \cdot H_2O$, 0.002 g e $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.002 g (PIKVOSKAYA, 1948). Czapek constituído l^{-1} : Sacarose, 30 g; $NaNO_3$, 2 g; K_2HPO_4 , 1 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5 g; KCl, 0.5 g e $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.1 g (GRAYSTON, 1986). NBRIY constituído l^{-1} : glucose, 10 g; $(NH_4)_2SO_4$, 0.5 g; NaCl, 0.2 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.1 g; KCl, 0.2 g; $MnSO_4 \cdot H_2O$, 0.002 g e $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.002 g (NAUTIYAL, 1999). NBRIP constituído l^{-1} : glucose, 10 g; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 5 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.25 g; KCl, 0.2 g e $(NH_4)_2SO_4$, 0.1 (NAUTIYAL, 1999). A metodologia detalhada utilizada nos ensaios de solubilização está descrita em Klaic et al. (2017). Após 96 h de cultivo o material foi filtrado em papel filtro e posteriormente centrifugado a 12000 rpm, 20 °C por 20 min e, o sobrenadante foi analisado pelo método da calorimetria (MURPHY; RILEY, 1986).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização das rochas fosfáticas

As caracterizações foram realizadas para avaliar a natureza química e física das RFs. As análises de DRX para RFB (Figura 1a) revelaram duas principais fases cristalinas correspondente a alfa-quartz (SiO_2 , PDF2 pattern file #01-089-8934) e uma fase fluorapatita ($Ca_5(PO_4)_3F$, PDF2 pattern file #01-087-2462). Estudos anteriores mostraram que a principal fase cristalina desta rocha é um tipo de fluorapatita modificada denominada francolita ou carbonato-fluorapatita $\{Ca_{10}[(PO_4)_6 \cdot x(CO_3, SO_4)_x]F_2\}$, alguns grupos fosfato (PO_4^{3-}) no retículo cristalino podem ser substituídos por carbonato (CO_3^{2-}) ou sulfato (SO_4^{2-}) grupos. Isso resulta em modificação das propriedades físico-químicas do material, como sua reatividade e solubilidade (MCARTHUR, et al. 1986). O DRX para a RFI (Figura 2b) revelou a presença de três fases cristalinas correspondente a alfa-quartz (SiO_2 , PDF2 pattern file #01-089-8934) e duas fases ricas em fosfato belinita ($Al(PO_4)_3$, PDF2 pattern file #01-076-0228) e hidroxiapatita ($Ca_5(PO_4)_3OH$, PDF2 pattern file #01-086-0740). A Tabela 1 mostra a composição química detalhada destes materiais e confirma a presença das fases fosfáticas e alfa-quartz observadas pelo DRX. Também se observa que a RFB apresenta uma fase fosfática mais rica com

30,72 % P_2O_5 e a RFI 20,29 % P_2O_5 e uma área superficial maior que da RFI. Portanto, os materiais apresentaram diferenças em suas estruturas químicas e diferentes fases de fosfato.

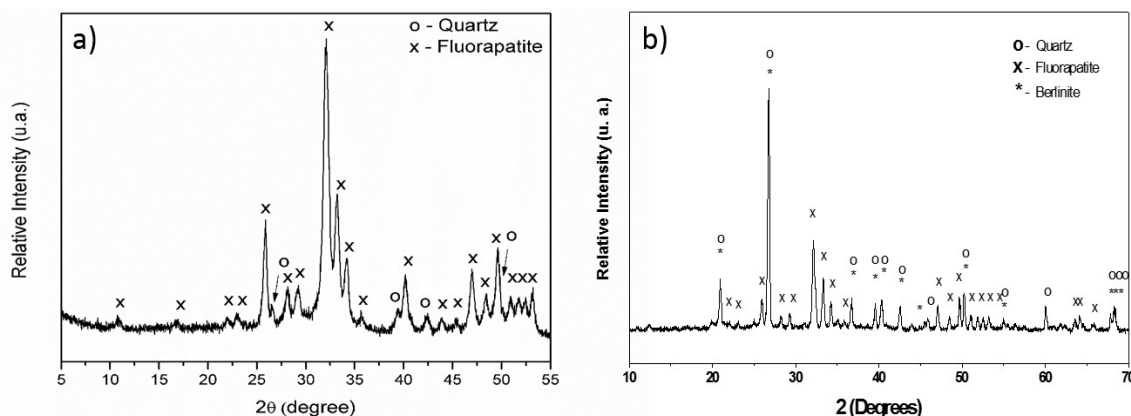


Figura 1. DRX a) Rocha fosfática Bayóvar b) Rocha fosfática Itafós.

Tabela 1. Composição química e área superficial das rochas fosfáticas.

Espécies	Itafós		Bayóvar	
	% Massa		% Massa	
SiO ₂	36,4		4,42	
Al ₂ O ₃	4,60		0,96	
Fe ₂ O ₃	2,03		0,87	
CaO	30,4		46,6	
MgO	0,52		0,53	
TiO ₂	0,22		0,07	
P ₂ O ₅	20,29		30,72	
Na ₂ O	0,30		1,98	
K ₂ O	0,88		0,30	
MnO	0,10		0,01	
Loss on ignition	4,33		10,57	
Total	100		97,03	
F*	-		2,24	
C**	-		2,23	
Área Superficial (m ² /g)	3,02		19,3	

(*) – Fluorine determined by specific ion analysis. (**) – Carbon determined by infrared spectroscopy.

3.2 Solubilização das rochas fosfáticas

Os resultados mostram que a solubilização do P presente nas RFs diferente utilizando os meios de cultivo propostos. A solubilização do P quando utilizado a RFB foi mais eficiente quando utilizado o meio de cultivo NBRIP (60% solubilização), seguido pelo meio Czapek (57% solubilização), NBRIY (48% solubilização) e PVK (40% solubilização). Para a RFI os meios de cultivo Czapek, NBRIP e NBRIY, apresentaram uma solubilização entre 45-48%, já utilizando o meio PVK a solubilização foi de apenas 35%. Estes resultados mostram que a escolha e a otimização do meio de cultivo são etapas fundamentais para aumentar a solubilização da RF. Observa-se que a solubilidade da RFB é maior que da RFI, isto deve as diferenças das fases fosfáticas presentes em cada rocha como observado na etapa de caracterização (Secção 3.1). A RFI apresenta uma fase alfa-quartz mais intensa que a RFB e uma fase de fosfato de alumínio (Berlinita) de difícil solubilização, isto faz com que a eficiência de solubilização seja menor para a RFI.

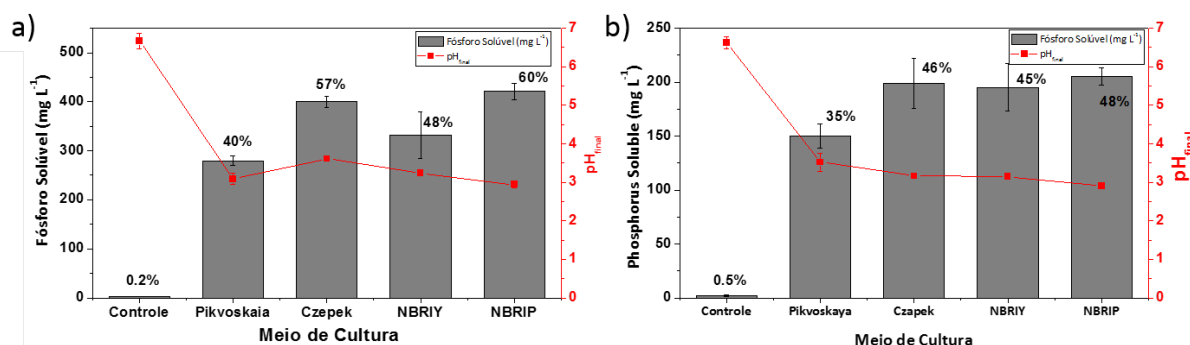


Figura 2. Solubilização da rocha fosfática em diferentes meios de cultivos por cultivo submerso. a) Rocha fosfática Bayóvár b) Rocha fosfática Itafós.

3.3 Efeito do tamanho de partícula da rocha fosfática na solubilização do fósforo

Nessa etapa a RFB foi utilizada como uma rocha modelo para avaliar o efeito do tamanho de partícula no cultivo submerso. A RFB foi ativada mecanicamente em um moinho laboratorial utilizando diferentes tempos de moagem (2,5; 5; 10; 20; 40; 80 e 160 min) e o material obtido foi utilizado no cultivo submerso, assim a solubilidade pode ser aumentada em decorrência da maior área superficial juntamente com a alteração local do pH, devido aos ácidos orgânicos produzidos durante o cultivo. Os resultados mostraram um aumento na solubilização de 60% em relação a RF sem ativação mecânica em apenas 10 min de moagem (Figura 3a), sendo este o tempo de moagem que se obteve a maior solubilização. A partir de 10 min de moagem não foi observado um aumento na eficiência de solubilização embora o tamanho de partícula tenha reduzido. A Figura 3b mostra a morfologia e a área superficial da RF para cada tempo de moagem, observa-se que a partir de 10 min de moagem uma tendência de formação de aglomerados que pode ter prejudicado a solubilização.

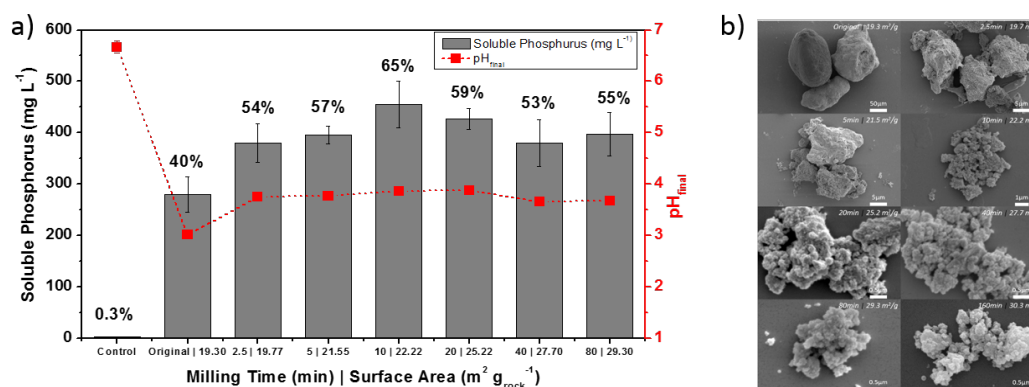


Figura 3. a) Solubilização da rocha fosfática e pH_{final} usando diferentes tamanhos de partículas em cultivo submerso. b) MEV-FEG, tamanho de partícula e área superficial para os diferentes tempos de moagem.

4 CONCLUSÃO

Os resultados mostram que o meio nutriente utilizado no cultivo microbiano tem elevado impacto na solubilização, proporcionando um aumento de até 50% na solubilização da RF. A ativação mecânica mostrou-se uma potencial estratégia para melhorar a solubilização da RF. Reduzidos tempos de moagem (10 min, tempo de moagem que resultou na maior eficiência de solubilização) resultaram em um aumento de solubilização de 60% quando comparado com a rocha natural. Estes resultados contribuem para avanços e novas estratégias para o desenvolvimento industrial de bioprocessos para solubilização microbiológica da RF.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro Conselho Nacional de (CNPq) e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agrônômica (Embrapa).

REFERÊNCIAS

- GRAYSTON, S.J. et al. Sulphur oxidation by fungi. Transactions of the British Mycological Society, v. 87, p. 193–198, 1986.
- KLAIC, R. et al. A novel combined mechanical-biological approach to improve rock phosphate solubilization. International Journal of Mineral Processing, v. 161, p. 50-58, 2017.
- MCARTHUR, J. M. et al. Stable isotopic characterization of francolite formation. Earth and Planetary Science Letters, v. 77, p. 20-34, 1986.
- MENDES, G.D. et al. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. Annals of Microbiology, v. 64, n. 1, p. 239-249, 2014.
- MURPHY, J.; RILEY, J. P. Citation-classic - a modified single solution method for the determination of phosphate in natural-waters. Current Contents/Agriculture Biology & Environmental Sciences, v. 12, p. 16-16, 1986.
- NAUTIYAL, C.S. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiol. Lett, v. 170, n.1, p. 265–270, 1999.
- PIKVOSKAYA. Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species. Microbiology, p. 362-370, 1948.