

BIOSSOLUBILIZAÇÃO DE POTÁSSIO A PARTIR DE AGROMINERAIS

BIOSOLUBILIZATION OF POTASSIUM FROM AGROMINERALS

Karolayne dos Santos Souza

Aluna de Graduação de Ciências Biológicas com ênfase em Biotecnologia
13º período, Universidade Federal do Rio de Janeiro
Período PIBIC: setembro de 2023 a agosto de 2024
karolayne.souza@ufrj.br

Claúdia Duarte da Cunha

Orientador, Engenharia Química, D.Sc.
ccunha@cetem.gov.br

Daniele Leonel da Rocha

Orientador, Química, D.Sc.
dleonel@cetem.gov.br

RESUMO

O presente estudo buscou investigar o desempenho das estirpes bacterianas *Paenibacillus polymyxa* e *Burkholderia cepacia* na solubilização biológica a partir de resíduos de rochas provenientes da produção de agregados, por meio da variação de diferentes parâmetros, visando principalmente a otimização do processo de extração do potássio. Primeiramente foram realizados ensaios de teste de halo em placa de *petri* para identificação do potencial de biossolubilização de potássio por estas estirpes bacterianas. Posteriormente foi realizado um planejamento experimental completo, na presença de dois pós de rocha provenientes de Magé e Itaguaí, tendo como variáveis a densidade de polpa (1% e 10%) e agitação (estático e 150rpm), na presença dos diferentes microrganismos. Como resultado, foi possível observar nos ensaios de halo, a mudança visual de coloração, indicando a competência dos microrganismos para produzir ácidos orgânicos, o que demonstra a sua possível capacidade solubilizadora. Nos ensaios de biossolubilização de potássio, as maiores médias de remoção foram atingidas na presença do resíduo oriundo de Itaguaí, alcançando 690 mg/Kg na presença do microrganismo *B. cepacia* e 930mg/Kg na presença do microrganismo *Paenibacillus polymyxa*, sendo ambos nas condições de menor densidade de polpa e maior agitação (150rpm), confirmados pela análise estatística.

Palavras-chaves: biossolubilização, agromineral potássio.

ABSTRACT

This study sought to investigate the performance of the bacterial strains *Paenibacillus polymyxa* and *Burkholderia cepacia* in the biological solubilization of waste rock from the production of aggregates, by varying different parameters, with the main aim of optimizing the potassium extraction process. Firstly, halo tests were carried out in petri dishes to identify the potential for potassium biosolubilization by these bacterial strains. Subsequently, a full experimental design was carried out in the presence of two rock powders from Magé and Itaguaí, with pulp density (1% and 10%) and agitation (static and 150rpm) as variables, in the presence of the different microorganisms. As a result, it was possible to observe a visual change in color in the halo tests, indicating the ability of the microorganisms to produce organic acids, which demonstrates their possible solubilizing capacity. In the potassium biosolubilization tests, the highest average removals were achieved in the presence of waste rock from Itaguaí, reaching 690 mg/Kg in the presence of the microorganism *B. cepacia* and 930mg/Kg in the presence of the microorganism *Paenibacillus polymyxa*, both under conditions of lower pulp density and greater agitation (150rpm), confirmed by statistical analysis.

Keywords: biosolubilization, agromineral, potassium.

1. INTRODUÇÃO

O potássio (K) é um elemento essencial a todos os organismos vivos, com relação direta ou indireta em processos metabólicos e fisiológicos cruciais para o desenvolvimento e sobrevivência. Nas plantas é o macronutriente mais importante depois do nitrogênio (N) e fósforo (P), desempenhando diversos papéis, tais como: osmorregulação, síntese proteica, fotossíntese, transporte de solutos, resistência a estresses bióticos e abióticos, dentre outros (SOUWARE, DJIBRIL, DIÉDHIU, 2023; WANG et al. 2013). Sendo a maior parte do potássio indisponível para absorção direta pelas plantas, a aplicação de fertilizantes químicos, por conseguinte, é indicada para que diferentes culturas satisfaçam as demandas na produção agrícola (ZÖRB, SENBAYRAM, PEITER, 2014). O Brasil acompanha a tendência crescente de aplicação de fertilizantes, sendo o sexto maior importador a nível global com importações representando 80% da demanda nacional. A dependência brasileira é ainda mais alarmante a respeito dos fertilizantes potássicos, atingindo a marca de 96% do insumo importado (BRASIL, 2023; EMBRAPA, 2023).

A biossolubilização surge como uma rota biotecnológica alternativa e interessante, caracterizada pela capacidade de microrganismos em disponibilizar o potássio contido nos minerais através de diversos mecanismos, tais como a produção de ácidos orgânicos, inorgânicos e exopolímeros. Entre os microrganismos solubilizadores de potássio encontram-se estirpes bacterianas dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acidithiobacillus*, *Paenibacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pantoea*. (SOUWARE, DJIBRIL, DIÉDHIU, 2023). No entanto, devido as diferentes estruturas mineralógicas existentes é fundamental a realização de estudos mais aprofundados para estabelecer um processo de solubilização otimizado e eficaz (BAGHEL et al. 2020; MEENA, et al. 2015).

2. OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a eficiência de duas estirpes bacterianas, *Paenibacillus polymyxa* e *Burkholderia cepacia*, na solubilização *in vitro* de potássio presente em resíduos de rochas (Magé e Itaguai), além de identificar as melhores condições e parâmetros para otimização do processo de biossolubilização.

3. METODOLOGIA

Os resíduos utilizados no presente estudo foram gentilmente cedidos pela Empresa Magé Mineradora (Magé) e Mineradora Santa Luzia (Itaguai), apresentando 3,7% e 3,4% de K₂O, respectivamente. Inicialmente foi realizado o teste de halo adaptado do proposto por Rajawat et al. 2016, a fim de se determinar os potenciais das estirpes na solubilização de potássio. Para tanto, foram testadas as estirpes bacterianas, *Paenibacillus polymyxa* (Coleção de culturas do Laboratório de Biotecnologia do CETEM – LABIOTEC) reconhecida na literatura como produtora de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) e *Burkholderia cepacia* adquirida comercialmente (ATCC 25416). Dessa forma, foi adicionada uma microgota da suspensão bacteriana preparada a partir de um pré inóculo de 24h nas placas de *petri* contendo meio *Bushnell-Haas* modificado (composição: glicose 5 g/L; MgSO₄.7H₂O 0,2 g/L; CaCl₂ 0,02 g/L; NaNO₃ 0,88 g/L; Na₂HPO₄ 27 g/L; NaH₂PO₄ 18,5 g/L; ágar nutriente 15g/L; corante azul de bromotimol 25 mL/L) e 2 g/L de pó de rocha, procedendo assim para incubação a 30°C em estufa. Após o período de incubação (24h/48h), os halos formados foram avaliados. Posteriormente, foram realizados ensaios de biossolubilização de potássio em frascos erlenmeyer de 250mL contendo 100mL de meio *Bushnell-Haas* modificado (Glicose 5 g/L; MgSO₄.7H₂O 0,2 g/L; CaCl₂ 0,02 g/L; NaNO₃ 0,88 g/L; Na₂HPO₄ 27 g/L; NaH₂PO₄ 18,5 g/L; pH 7), tendo o pó de rocha como fonte única de potássio.

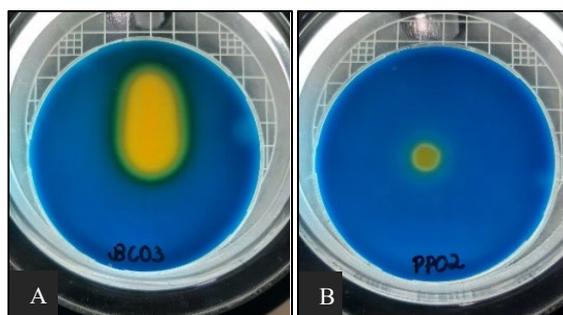
Foram admitidos diferentes parâmetros para o planejamento experimental completo 2², sendo abordadas variações na velocidade de agitação de 150 rpm (+1) e estático (-1), densidade de polpa de 10% (+1) e 1% (-1), e a aplicação das duas diferentes estirpes bacterianas com 5% (v/v) de inóculo. Os tratamentos foram realizados em duplicatas além do controle abiótico, realizado na ausência de microrganismos. Após 20 dias de incubação a 30°C, nos frascos que

continham microrganismos foram adicionados 4 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), e manteve-se o material sob aquecimento por 20 minutos. As amostras foram centrifugadas, e o sobrenadante filtrado em membrana de 0,22µm e acidulado com ácido nítrico.

As concentrações de potássio (K) foram quantificadas pela técnica de espectroscopia de absorção atômica (AAS). O delineamento experimental e as análises estatísticas de variância (ANOVA) e de regressão múltipla foram realizados utilizando o software STATISTICA versão 7.0 (StatSoft Inc.).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 é possível observar a mudança de coloração e formação de halo nas placas de *petri* contendo meio de cultivo na presença dos microrganismos *Burkholderia cepacia* e *Paenibacillus polymyxa*. O teste possibilitou a identificação preliminar de microrganismos capazes de biossolubilizar potássio, uma vez que a formação do halo indica a produção de ácidos orgânicos, como descrito por Pamar & Sindu (2018).



Fonte: autoria própria.

Figura 1: Teste de halo: (A) *Burkholderia cepacia* e (B) *Paenibacillus polymyxa*.

Na Tabela 1 são apresentados os resultados médios de remoção de potássio nos ensaios de biossolubilização para os resíduos de Magé e Itaguaí, sendo os mesmos listados em médias de remoção, ressaltando que foram descontados os respectivos controles abióticos.

Tabela 1: Valores médios de remoção de potássio obtidos no planejamento experimental 2², para os resíduos de rocha provenientes de Magé e Itaguaí, na presença dos microrganismos *B. cepacia* e *P. polymyxa*.

| Agitação | Densidade de polpa | Microrganismo | Remoção | | Remoção média | |
|----------|--------------------|--------------------|-----------------------|-------|--------------------|--------|
| | | | média (mg/Kg) Magé | D.P | (mg/Kg) Itaguaí | D.P |
| -1 | -1 | <i>P. polymyxa</i> | 315,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| -1 | +1 | <i>P. polymyxa</i> | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| +1 | -1 | <i>P. polymyxa</i> | 130,00 | 0,00 | 930,00 | 42,43 |
| +1 | +1 | <i>P. polymyxa</i> | 135,50 | 0,71 | 188,50 | 45,96 |
| 0 (PC) | 0 (PC) | <i>P. polymyxa</i> | 23,63 | 28,28 | 120,59 | 5,14 |
| -1 | -1 | <i>B. cepacia</i> | 365,00 | 0,00 | 235,00 | 120,21 |
| -1 | +1 | <i>B. cepacia</i> | 31,00 | 16,97 | 76,00 | 14,14 |
| +1 | -1 | <i>B. cepacia</i> | 425,00 | 63,64 | 690,00 | 84,85 |
| +1 | +1 | <i>B. cepacia</i> | 322,00 | 94,75 | 68,00 | 4,24 |
| 0 (PC) | 0 (PC) | <i>B. cepacia</i> | 4,54 | 6,43 | 204,22 | 25,71 |

Agitação: (-1) - 0 rpm, (+1) - 150 rpm, (0) PC - 80 rpm; Densidade de polpa: (-1) - 1 %, (+1) - 10%, (0) PC - 5,5 %.

Obs: Valores de remoção com diferença em relação ao ensaio controle (abiótico).

Para os ensaios contendo o resíduo oriundo de Magé, a melhor média de remoção de potássio foi obtida com a menor densidade de polpa na presença do microrganismo *B. cepacia*, alcançando cerca de 425mg/Kg com agitação de 150 rpm. Na presença do microrganismo *P. polymyxa* a maior remoção média de potássio foi de 315mg/Kg, também na presença de menor densidade de polpa, e sem agitação. Para o resíduo oriundo de Itaguaí, as maiores médias de remoção de potássio foram atingidas utilizando a menor densidade de polpa, com agitação, para ambas as estirpes testadas. Na presença do microrganismo *B. cepacia* foi obtida uma remoção média de 690 mg/Kg e na presença do microrganismo *P. polymyxa* uma remoção média de 930mg/Kg. A título de exemplo, o estudo realizado por Schueler *et al.* (2021) investigou quatro estirpes bacterianas (*Burkholderia* sp., *Bacillus* sp., *Caballeronia glathei* e *Paraburkholderia caribensis*) junto a dois meios de cultura distintos (Aleksandrov e *Bushnell-Haas*) isoladamente ou em consorcio (*Burkholderia* sp. + *Bacillus* sp.) Os ensaios de biossolubilização de potássio foram conduzidos com 2% (m/v) da rocha verde (6,5% de K_2O) no período de incubação de 15 dias. Foram alcançados resultados significativos apenas em meio Aleksandrov, sendo estes de 261,5 mg/Kg para *C. glathei*; de 270,5 mg/Kg para *P. caribensis*; 329,5 mg/Kg para *Bacillus* sp.; e de 315,5 mg/Kg para o consórcio microbiano. Comparativamente, em um estudo realizado por Nascimento, *et al.*, 2023 foram alcançados valores médios de remoção de 500mg/Kg de potássio em ensaios contendo 1g de pó de rocha de Kamafugito (3% de K_2O) na presença de um microrganismo isolado de solo com plantio, com agitação de 150rpm por 10 dias. Desta forma, os valores de potássio em solução obtidos no presente estudo estão dentro dos valores reportados pela literatura.

Como indicado anteriormente, o microrganismo que apresentou o melhor resultado de remoção de potássio foi o *P. polymyxa*. É suposto que a alta produção de EPS possa ter favorecido a solubilização de potássio (Pinheiro, *et al.* 2022). Dessa forma, é de interesse o avanço nos estudos relacionados a solubilização a partir de ensaios contendo biopolímeros liberados por microrganismos na presença de minerais, assim como estudos relacionados a otimização de produção e utilização deste biopolímero.

É possível observar através dos gráficos de superfície de resposta obtidos (Figura 2), que dentre as variáveis testadas, a densidade de polpa apresentou efeito negativo para todas as condições testadas, evidenciando que altos valores de concentração de pó de rocha pode dificultar o processo de solubilização biológica.

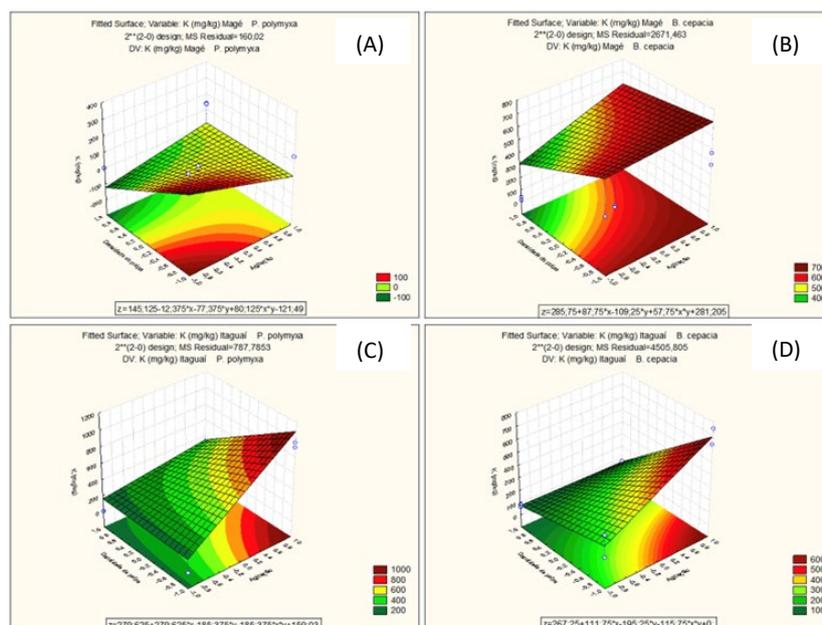


Figura 2: Gráfico de superfície de resposta para as variáveis agitação e densidade de polpa, obtido pelo planejamento experimental completo 2^2 , para os dois tipos de pós de rocha e os dois diferentes microrganismos. (A) resíduo proveniente de Magé com o inóculo de *P. polymyxa*, (B) resíduo proveniente de Magé com o inóculo de *B. cepacia*, (C) resíduo proveniente de Itaguaí com o inóculo de *P. polymyxa*, (D) resíduo proveniente de Itaguaí com o inóculo de *B. cepacia*.

5. CONCLUSÃO

Foram encontrados resultados positivos no teste de halo para os microrganismos *Paenibacillus polymyxa* e *Burkholderia cepacia*, indicado uma possível produção de ácidos orgânicos que são participantes na solubilização biológica de alguns minerais. Para os ensaios de biossolubilização, os maiores valores de remoção de potássio foram obtidos com o resíduo oriundo de Itaguaí quando comparado ao resíduo de Magé, alcançando 930 mg/Kg na presença do microrganismo *Paenibacillus polymyxa*, microrganismo esse, conhecido por sua alta produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS). Após a análise estatística, foi observado que o parâmetro de maior influência foi a densidade de polpa demonstrando que maiores valores de densidade de polpa podem prejudicar ao processo de biossolubilização.

6. AGRADECIMENTOS

A autora agradece ao CETEM, pela disponibilidade da infraestrutura laboratorial, às orientadoras Cláudia Duarte da Cunha e Daniele Leonel da Rocha e à pesquisadora Mariana Ruiz (CETEM) pelas discussões, à COAM/CETEM pela realização das análises, à Empresa Magé Mineradora e Mineradora Santa Luzia pela disponibilização das rochas utilizadas neste estudo, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de iniciação científica, e à SETEC/MCTI pelo apoio financeiro através do Projeto MCTREMIN.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAGHEL, VIKAS et al. Phosphorus and potassium solubilization from rock minerals by endophytic *Burkholderia* sp. strain FDN2-1 in soil and shift in diversity of bacterial endophytes of corn root tissue with crop growth stage. *Geomicrobiology Journal*, vol. 37, n. 6, p. 550-563, 2020.

BRASIL. Ministério da Indústria Comércio Exterior e Serviços. Governo Federal. Comex Stat. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/comex-vis>. Acesso em: jul. 2024.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (Brasil). Instrução Normativa Nº 5, de 10 de março de 2016. Estabelece as regras sobre definições, classificação, especificações e garantias, tolerâncias, registro, embalagem, rotulagem e propaganda dos remineralizadores e substratos para plantas, destinados à agricultura. Brasília, DF, 2016.

MEENA, V.S.; BAHADUR, I.; MAURYA, B.R.; KUMAR, A.; MEENA, R.K.; MEENA, S.K.; VERMA, J.P. Potassium-solubilizing microorganism in evergreen agriculture: An overview. In: Meena, V. Maurya, B. Verma, J. Meena, R. (eds). Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture. p. 1-20, 2016.

NASCIMENTO, M.R.F. et al. Biossolubilização de rochas e resíduos de rochas como fontes alternativas de fertilizantes para a agricultura. *Revista Ensaios Pioneiros*, vol. 7, n. 2, 2023.

PARMAR, P.; SINDHU, S.S. The novel and efficient method for isolating potassium solubilizing bacteria from rhizosphere soil. *Geomicrobiology Journal*, vol.36, n.2, p. 1-7, 2018.

PINHEIRO, A.S.; DIAS, D.S. CUNHA, C.D. Produção de um biopolímero em larga escala utilizando biorreator. XXX Jornada de Iniciação Científica e VI Jornada de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação, CETEM. 2022.

SCHUELER, T.A. et al. Biosolubilization of verdete: an alternative potassium source for agriculture fertilizer. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 34, p. 102031, 2021.

SOUMARE, A.; DJIBRIL, S.A.R.R.; DIÉDHIU, A.G. Potassium sources, microorganisms and plant nutrition: Challenges and future research directions. *Pedosphere*, vol. 33, n. 1, p. 105-115, 2023.

WANG, Min et al. The critical role of potassium in plant stress response. *International journal of molecular sciences*, vol. 14, n. 4, p. 7370-7390, 2013.

ZÖRB, C.; SENBAYRAM, M.; PEITER, E. Potássio na agricultura – status e perspectivas. *Journal of plant physiology*, vol. 171, n. 9, p. 656-669, 2014.