



BIOSSOLUBILIZAÇÃO DE FÓSFORO PROVENIENTE DA ROCHA FOSFÁTICA UTILIZANDO LEVEDURAS PARA A PRODUÇÃO DE UMA BASE FOSFATADA

Gabriel Ferreira¹

Carolina Resmini Melo Marques²

Débora De Pellegrin Campos³

Larissa Bento Bortolatto⁴

Aline Resmini Melo⁵

Resumo: O mercado de fertilizantes é um dos que mais cresce mundialmente e detém um grande mercado em constante crescimento, favorecendo cada vez mais o desenvolvimento de pesquisas, com inovações nos produtos e tecnologias. O avanço tecnológico dos fertilizantes, trouxe para as plantações de diversos tipos de cultura a capacidade de se adaptar as principais adversidades. Partindo disto a indústria busca suprir a demanda que as culturas vêm necessitando, em principal suprir a demanda nutritiva das plantas. No entanto os impactos ambientais gerados por todos estes processos vêm sendo reavaliados nos últimos anos, fazendo com que novas leis sejam criadas e também o consumidor se tornou mais exigente. Isto resultou em um novo mercado onde biofertilizantes e fertilizantes orgânicos tomaram espaço por sua proposta menos agressiva na agricultura, reduzindo todos os impactos ambientais e levando para o consumidor um produto mais seguro. Este estudo buscou uma fonte alternativa de fósforo para a produção de fertilizantes, tendo como fonte inicial de fósforo a rocha fosfática, que possui em sua composição fósforo, mas que não é liberado para absorção das plantas. Para a sua extração então foi utilizado leveduras da indústria cervejeira, de pão e grãos de kefir. O procedimento foi realizado por meio de uma fermentação aerada para forçar o caminho do ciclo do ácido cítrico, conhecido como ciclo de Krebs, para a produção de ácido cítrico e então extração do fósforo. Os testes foram divididos conforme sua formulação, sendo: 5, 10, 20 e 30% de ácido cítrico inseridos no meio de cultura. Os grãos de kefir obtiveram o melhor desempenho na extração com o valor de 0,3% com uma concentração de 20% de ácido cítrico inserido no meio de cultura. As demais leveduras apresentaram um crescimento no rendimento da extração por conta da acidificação no meio. Em testes com 5% as leveduras não obtiveram resultados satisfatórios por conta de incompatibilidades com o meio de cultura e com 30% houve alteração do meio de cultura impossibilitando a extração.

Palavras-chave: Fertilizantes. Fósforo. Leveduras.

¹ Graduando em Engenharia Química, UNISATC. E-mail: gabrielferreiraeq@gmail.com

² Professora UNISATC. E-mail: carolina.melo@satc.edu.br

³ Professora UNISATC. E-mail: debora.campos@satc.edu.br

⁴ Professora UNISATC. E-mail: larissa.bortolatto@satc.edu.br

⁵ Professora UNISATC. E-mail: aline.melo@satc.edu.br



1 INTRODUÇÃO

O fósforo possui papel importante no desenvolvimento da agricultura, sendo responsável pela transferência de energia das células, respiração e fotossíntese, a sua deficiência pode resultar em diversas limitações do crescimento vegetal. Embora a concentração do elemento no solo seja alta, o mesmo não está disponível para absorção das plantas, pois está ligado firmemente a compostos orgânicos e inorgânicos, entretanto em algumas condições específicas os minerais podem ser solubilizados e tornarem-se disponíveis para as plantas (CABRAL, 2016).

Comumente, para suprir a necessidade de fósforo das culturas utiliza-se fertilizantes industriais, porém estes provêm de um processo produtivo de custo elevado, além de causarem impactos ambientais no descarte de seus resíduos tanto da sua produção como da aplicação (PANTANO et al., 2016).

Na busca de reduzir os impactos gerados, surgiram os biofertilizantes, que utilizam microrganismos que substituem as funções de agrotóxicos e fertilizantes industriais. No caso do mineral estudado, o microrganismo atua solubilizando e disponibilizando o fósforo para a planta (ALVES, 2012).

O presente estudo realizou a extração do fósforo presente em rochas fosfáticas utilizando leveduras, sendo elas as mais utilizadas na produção de cervejas artesanais, a levedura utilizada na produção de pães e grãos de kefir, avaliando a eficiência de cada uma na extração por meio de análises periódicas da concentração de fósforo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será abordada a revisão bibliográfica, sintetizando os conteúdos que serão necessários para a compreensão do presente trabalho.

2.1 ROCHA FOSFÁTICA

A rocha fosfática detém concentrações de fósforo, que é um macronutriente mineral com grande importância para o desenvolvimento e manutenção de crescimento das culturas. É solúvel, possui alta reatividade com cálcio, ferro e alumínio, isto faz com que haja formação de complexos de alta insolubilidade,



resultando na precipitação do fósforo disponível. Na natureza é encontrado na forma de concentrados fosfáticos, que são usualmente expressos em função de seu percentual em pentóxido de fósforo (P_2O_5). Globalizando, a rocha fosfática (concentrado fosfático) é a única fonte de fósforo viável, sendo que 85% é de origem sedimentar e 15% ígnea e biogenética, este, é composto de concentrações orgânicas nitrogenadas, originadas pelos dejetos de aves e se constitui de menor importância econômica (PANTANO et al., 2016).

Os minerais de origem sedimentar estão em sua maioria localizados nos Estados Unidos, México, Marrocos e no Noroeste do Saara e Oriente Médio. Os de origem ígnea estão em territórios da África do Sul, Rússia, Finlândia e Brasil, dentre outros países. No Brasil, o minério presente, possui concentração acentuada de rocha carbonatítica e minerais micáceos, com baixo teor de P_2O_5 . Esse fosfato é denominado como fosfato natural, rocha fosfática ou concentrado fosfático (CABRAL, 2016).

Listando os minerais conhecidos, 370 possuem teores de fósforo superiores a 10%, destes, 96 tem concentração superiores aos da apatita (18,4% de P_2O_5). Apesar da grande quantidade de minerais com concentrações elevadas de fósforo, apenas os da série da apatita constituem minerais-minérios. Todas as características mineralógicas, químicas e texturais determinam a vantagem da utilização ou não do mineral como rocha fosfática de aplicação direta (fertilizantes) (SUMÁRIO MINERAL, 2016).

A apatita, é um mineral-minério constituído de fósforo, com seu teor variando de 5 a 15% de P_2O_5 , devido a sua alta concentração, pode ser utilizada para produção de ácido fosfórico, bem como matéria-prima para produção de adubos. A grande parte dos minérios deste grupo pode ser caracterizado como fosfatos cristalinos de cálcio com flúor, com variações de cor, brilho vítreo, dureza, apresentam densidade entre 3,1 a 3,2 g/cm³. Pode apresentar aparência similar ao de uma gema quando bem cristalizado. A apatita possui uma mineralogia complexa, possuindo impurezas contaminantes de influência marcante na recuperação de fósforo nos vegetais (SUMÁRIO MINERAL, 2016).

Dentro desse cenário, onde a rocha fosfática tem ampla utilização na indústria de fertilizantes por conta da sua concentração do pentóxido de fósforo, o Brasil é o quarto maior consumidor de matérias-primas destinadas para fabricação de



fertilizantes. Sendo que 80% dos fertilizantes utilizados no país provém do mercado externo, causando grande dependência do exterior (CABRAL, 2016).

2.2 BIODISSOLUBILIZAÇÃO

Os microrganismos são essenciais na manutenção de um ecossistema, participando das cadeias alimentares, reciclagem de nutrientes e nos ciclos biogeoquímicos existentes no meio. A biodegradação é um processo complexo, que necessita de diferentes espécies de microrganismos. A degradação de um composto orgânico é indispensável para manutenção do solo. (LEITE, 2009).

A atividade de microrganismos solubilizadores de fosfatos vem sendo estudada desde 1903, as observações iniciais foram detectadas como uma “ação solvente” realizada pelas bactérias presentes no solo (CABRAL, 2016). Agrupando os estudos acerca dos microrganismos solubilizantes de fosfatos, é possível obter diversos gêneros contidos no solo, destacando bactérias *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Agrobacterium* e de fungos *Aspergillus* e *Penicillium*. O Qd. 1 apresenta alguns microrganismos com capacidade de solubilizar o fosfato presente no solo (ALVES, 2012).

Quadro 1: Microrganismos solubilizadores de fosfato presentes no solo.

Microrganismo	Fosfato
<i>Glomus fasciculatum</i>	Fosfato de ferro
<i>Penicillium bilaji</i>	Fosfato de rocha Idaho
<i>Penicillium fuscum</i>	Fosfato de rocha Idaho
<i>Pseudomonas striata</i>	KH_2PO_4
<i>Bacillus polymyxa</i>	KH_2PO_4
<i>Bacillus subtilis</i>	KH_2PO_4
<i>Bacillus circulans</i>	KH_2PO_4
<i>Aspergillus niger</i>	KH_2PO_4
<i>Bacillus firmus</i>	Fosfato de rocha
<i>Enterobacter sp.</i>	Fosfato de rocha
<i>Pseudomonas sp.</i>	Fosfato de rocha
<i>Rhizopus sp.</i>	Fosfato de rocha
<i>Bacillus megaterium</i>	Fosfato tricálcico
<i>Enterobacter sp.</i>	Fluorapatita
<i>Glomus deserticola</i>	Fluorapatita
<i>Mesorhizobium mediterraneum</i>	Fosfato tricálcico
<i>Glomus deserticola</i>	Fluorapatita
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Fluorapatita
<i>B. megaterium</i> var. <i>phosphaticum</i>	Fosfato de rocha
<i>phosphaticum</i>	Fosfato de rocha
<i>Penicillium sp.</i>	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
<i>Aspergillus</i>	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
<i>Acidithiobacillus</i>	Fosfato de rocha Gafsa
<i>Bacillus megaterium</i>	Fosfato de rocha



<i>Bacillus mucilaginous</i>	Fosfato de rocha
<i>Azobacter chroococcum</i>	Fosfato de rocha
<i>Glomus mossae</i>	Fosfato de rocha

Fonte: Adaptado de Alves (2012, p. 6)

A maioria das bactérias do solo tem capacidade de dissolver fosfato de rocha quando mantidas em meio de cultura. Os fungos filamentosos são amplamente utilizados como produtores de ácidos, dentre eles o *Aspergillus niger* tem sido bastante estudado por conta da sua produção de ácido cítrico. O ácido cítrico por sua vez apresenta diversas vantagens na solubilização do fosfato, por ter operação simples, pouco consumo de energia e não requer um controle e sistema muito sofisticado (RODRIGUES, 2006).

Embora, *Aspergillus niger* e melão sejam utilizados em escala industrial para produção de ácido cítrico, há 30 anos o interesse em processos alternativos trouxe novos microrganismos para a produção do ácido cítrico. Os gêneros de leveduras que produzem ácido cítrico a partir de várias fontes de carbono incluem: *Candida*, *Hansenula*, *Pichia*, *Debaromyces*, *Torula*, *Torulopsis*, *Kloekera*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces* e *Yarrowia* (RIBEIRO, 2018).

A produção do ácido cítrico por meio de levedura é feita em cultura submersa, utilizando processos em batelada ou também em cultura contínua e com células imobilizadas (RIBEIRO, 2018).

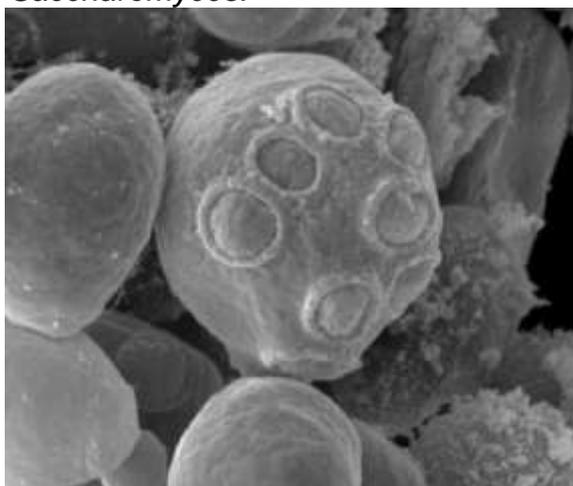
Diante disto, com a produção do ácido cítrico por diversos microrganismos citados, é possível obter a solubilidade do fósforo, usando fontes naturais do ácido. Comercialmente os fertilizantes fosfatados são classificados quanto a sua solubilidade em água, alguns em citrato de amônio e em ácido cítrico (SOUSA; LOBATO, 2003).

2.3 LEVEDURAS

As leveduras podem ser caracterizadas como esféricas, ovais ou elípticas, podendo também apresentarem-se alargadas. Na Fig. 1 é possível observar o formato da levedura por meio de uma imagem de microscópio eletrônico de varredura (MEV). Entretanto seu formato não é necessariamente um fator para a identificação da espécie. Não possuem flagelo, logo são imóveis, seu tamanho varia consideravelmente em função de sua espécie, nutrição, idade e outros vários fatores.

Caracterizam-se pelo método de reprodução vegetativa, mais conhecida como brotamento ou gemulação (GUIMARÃES, 2005).

Figura 1: MEV da levedura do gênero *Saccharomyces*.



Fonte: NASA (2018)

Quimicamente, as leveduras compõem-se de 68 a 83% de água e também substâncias nitrogenadas, carboidratos, lipídios, vitaminas, minerais, entre outras substâncias. Assim como os demais microrganismos, necessitam de fatores físicos e químicos essenciais ao crescimento e reprodução, basicamente: água, fontes de carbono, nitrogênio, oxigênio e minerais (GUIMARÃES, 2005).

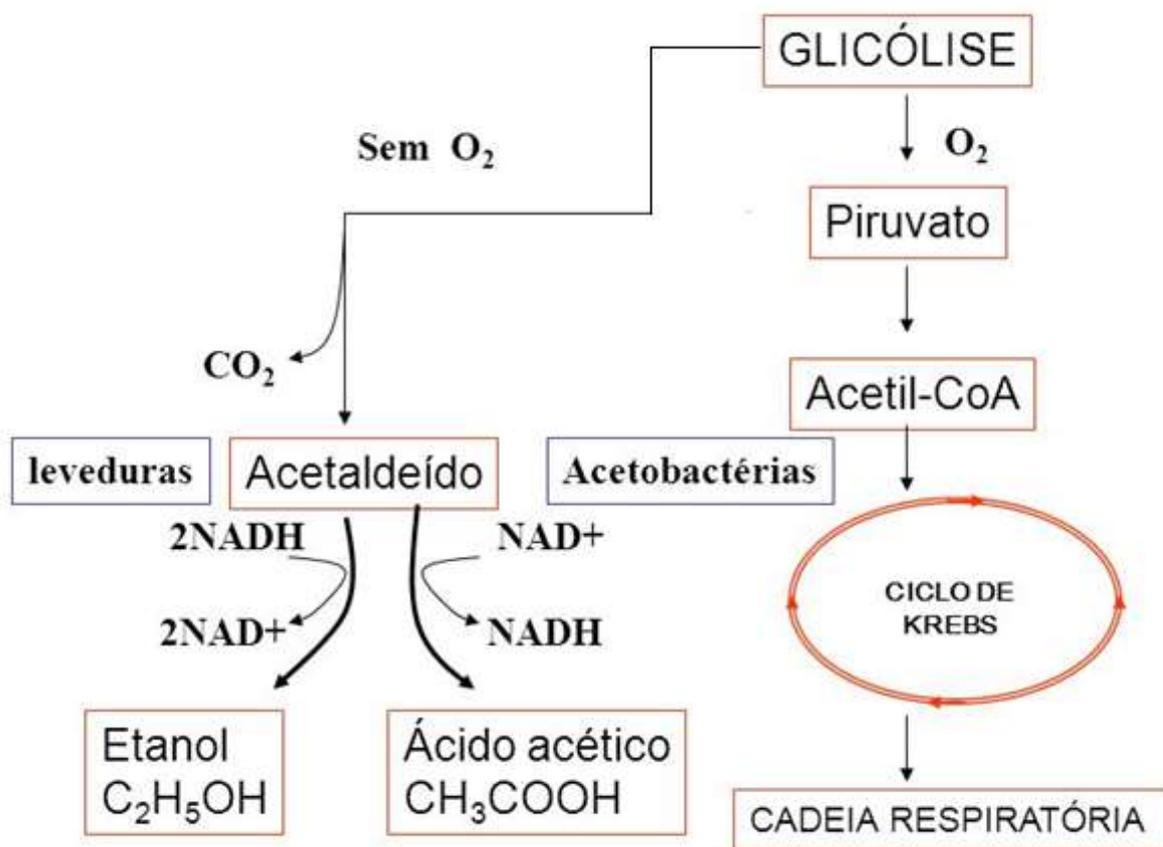
De forma geral, na fermentação a maioria das leveduras apresenta ciclos de carbono similares, mas apresentam diferenças na absorção e utilização de nutrientes. Apenas algumas espécies de levedura tem a possibilidade de crescer em meios anaeróbicos, o melhor dos exemplos é a *Saccharomyces Cerevisae*. O interesse neste ramo está ligado pela aplicação industrial de cada espécie, em principal na produção do etanol (KHAN; DWIVEDI, 2013).

2.4 METABOLISMO DA LEVEDURA

O metabolismo da levedura está interligado com diversos processos anabólicos e catabólicos que podem ser sumarizados (Fig. 2) na produção de energia, etanol, dióxido de carbono e outros metabólitos intermediários.

É possível observar que na metabolização de glicose, existem dois caminhos, um aeróbico, com a presença de oxigênio (O_2) outro anaeróbico, sem a presença de oxigênio. Nas condições aeróbicas, o piruvato formado pela glicose entra no ciclo de Krebs, também conhecido como ciclo do ácido cítrico (RODRIGUES; LUDOVICO; LEÃO, 2005).

Figura 2: Metabolismo da levedura.

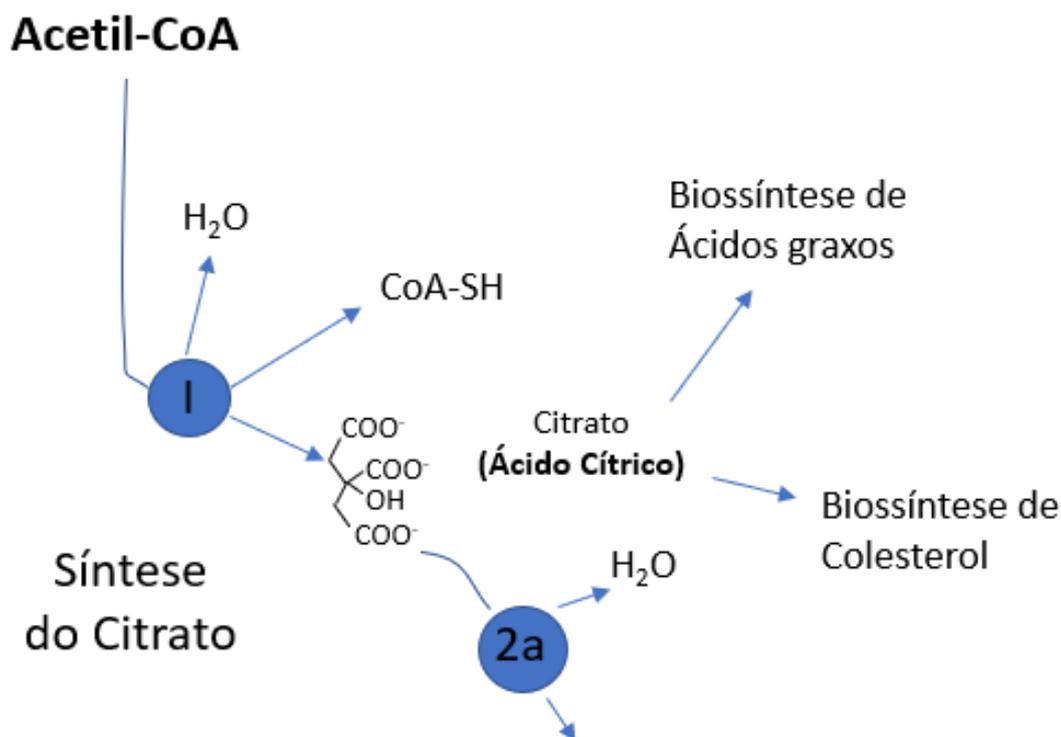


Fonte: Adaptado de Silas (2016)

O ácido cítrico é intermediário no ciclo de Krebs (Fig. 3) e difundido na natureza, em frutos como o limão e laranja. Tem papel crítico no processo fermentativo. Em fermentações de bebidas alcoólicas os níveis altos de concentração de ácido cítrico podem ocasionar em um crescimento mais baixo da levedura. Entretanto a produção do ácido cítrico em fermentações ocorre em níveis relativamente baixos, entre $0,5$ e 1 g.L^{-1} , por conta da falta de oxigênio presente no processo que impossibilita a continuação do ciclo do piruvato no ciclo de Krebs (SILAS, 2016).

O ciclo de Krebs, está diretamente ligado com a produção de um meio ácido em condições aeróbicas. A sua principal função é a redução de coenzimas que são necessárias para a operação da respiração. O ciclo inicialmente produz citrato, que é no caso o ácido cítrico (SILAS, 2016). Que será o agente solubilizante do fosfato.

Figura 3: Produção de ácido cítrico no ciclo de Krebs.

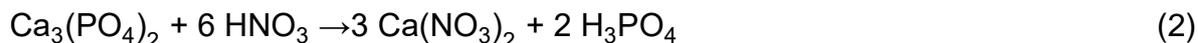


Fonte: Adaptado de Moreira (2013)

2.5 SOLUBILIDADE DO FÓSFORO

A solubilidade do fósforo na forma de fosfato é mais comum utilizando ácidos minerais, como o fosfórico, nítrico, sulfúrico e em alguns casos até clorídrico. São utilizados por conta da total ou parcial transformação de fosfatos tricálcicos presentes nas rochas fosfáticas. O uso do ácido concentrado é direcionado na obtenção de uma acidificação da rocha de forma que se obtenha o ácido fosfórico, destinado para o uso na indústria de fertilizantes (CATANI, 1975).

A reação global de dissolução do fósforo em ácido é representada pelas reações de ácido sulfúrico, Reação (1); nítrico, Reação (2) e fosfórico, Reação (3) (PORTO, 2018).



Além dos ácidos minerais, alguns estudos apontam uso de citrato de amônia, ácido cítrico e fórmico para liberação do P_2O_5 solúvel em água. Os aspectos granulométricos do concentrado fosfático influenciam na quantidade de fósforo que pode ser extraído e também o tipo de rocha utilizada. Na extração do fósforo com ácido cítrico, foram estudadas diversas fontes de rochas fosfáticas (Tab. 1) em diferentes concentrações de ácido cítrico para avaliar seu potencial de extração (PORTO, 2018).

Tabela 1: Resultado da extração de P_2O_5 em porcentagens em diferentes proporções de soluções de ácido cítrico.

Identificação	1:100	1:200	1:300
Serra do Salitre	2,76	5,31	6,34
Pedra Bayóvar	7,12	24,16	27,82
Pedra Lagmar	5,79	9,65	11,78
Pedra Cajati	0,33	1,06	1,64
Pedra Catalão	4,09	7,02	9,29
Pedra Irecê	3,3	6,86	9,35
Pedra Chile	9,85	15,84	17,92
Pedra Morocco – Cinza	9,46	15,34	18,55
Pedra Morocco – Branca	11,11	19,91	24,90

Fonte: Adaptado de Porto (2018)

2.6 FERTILIZANTES

O consumo de fertilizantes comerciais cresce de forma exponencial no mundo ao final do século XX e início do XXI. Isto resultou na expansão deste mercado com uma variedade imensa de produtos, que oferecem diversas quantidades de fontes fertilizantes, de diferentes formas físicas e químicas, buscando suprir a necessidade de cada cultura. Sendo assim, dependendo das garantias que o produto apresenta mineralmente e o seu processo de industrialização, os fertilizantes podem diferir-se em formatos de partícula, cor, densidade, concentração e solubilidade (MCAULEY; JONES; JACOBSEN, 2009).

Dentro do ramo agrícola as garantias, são os nutrientes dos fertilizantes: nitrogênio (N), o fósforo (P) e o potássio (K). De forma geral, três números são usados para representar a concentração dos macronutrientes nos fertilizantes e estes três



números sempre se referem, na ordem, à concentração dos macronutrientes primários: nitrogênio, fósforo e potássio, por exemplo um fertilizante 10-5-10 possui em sua formulação 10% de nitrogênio, 5% de fósforo e 10% de potássio.

Os fertilizantes mistos são misturas que contêm NPK, NP, NK ou PK em sua composição. Na legislação brasileira sobre fertilizantes, corretivos e inoculantes é relatado que a concentração mínima dos nutrientes na fórmula deve ser de 24% e a máxima 54%. Este valor se refere ao percentual em massa de todos os macronutrientes somados (LOPES; SILVA, 2012).

Em 2010 o Brasil se tornou o quarto maior consumidor de fertilizantes do mundo. No processo da agricultura é difícil para o agricultor obter uma safra lucrativa sem utilizar no mínimo fertilizantes fosfatados, nitrogenados e potássicos. Segundo dados da Associação Internacional da Indústria de Fertilizantes (IFA), a cada safra no Brasil são utilizados, em média 2.855.000 toneladas de nitrogênio, 3.384.000 toneladas de fosfato e 3.894.00 toneladas de potássio (IFA, 2014).

2.6.1 Fertilizante nitrogenado

O nitrogênio é essencial no desenvolvimento das culturas, principalmente no desenvolvimento do milho. O nitrogênio absorvido pelas plantas em sua maioria é encontrado nas moléculas de compostos orgânicos, como aminoácidos e proteínas. Tem função de ativar enzimas para realização dos processos essenciais a vida da planta, como síntese de proteínas, absorção iônica, fotossíntese, respiração, multiplicação e diferenciação celular além de fazer parte da composição da clorofila (MENDONÇA, 2015).

A ação do nitrogênio no meio de cultura é muito complexa, produzindo reações tanto no solo quanto na atmosfera, quando presente no meio fica em constante troca dinâmica de várias formas (REETZ, 2016).

Em suma, os fertilizantes nitrogenados são obtidos através do nitrogênio e hidrogênio presentes na atmosfera, sendo que sua obtenção é advinda da queima de combustíveis fósseis, como gás natural e óleo. No Brasil os fertilizantes nitrogenados mais consumidos são: ureia, nitrato de amônio e sulfato de amônio (LOPES, 2017).



2.6.2 Fertilizante potássico

O potássio é um dos elementos químicos que mais tem consumo pelas culturas, entretanto a sua fixação no solo é mais dificultosa visto que os sais de potássio, que são rochas sólidas e minerais, possuem baixa capacidade de troca catiônica e uma baixa absorção pelas plantas (LOPES, 2017).

Para fertilizar com potássio então é feita uma extração com métodos específicos utilizando acetato de amônio ($C_2H_7NO_2$). As culturas que mais demandam desse fertilizante são a de soja e de milho, onde existe um aumento grande na produtividade em kg/hectare após sua aplicação (SOUSA; LOBATO, 2003)

O potássio tem baixa produção no Brasil, comumente o nutriente é obtido por meio de importação na forma de cloreto de potássio. Normalmente esse composto é obtido na extração de depósitos marinhos na forma de cloreto ou sulfato de potássio. Os fertilizantes potássicos em suma se resumem em: cloreto de potássio (KCl), sulfato de potássio (K_2SO_4) e nitrato de potássio (KNO_3) (REETZ, 2016).

2.6.3 Fertilizante fosfatado

Mediante as características químicas do solo brasileiro, existe uma grande necessidade de suprir a deficiência de fósforo presente, principalmente nas culturas de grãos. A soja absorve aproximadamente 8,4 kg de fósforo por cada tonelada produzida, sendo essa a cultura que mais exige a fertilização em comparação com as culturas de trigo e milho (LEITÃO; SILVA, 2004).

Em consequência do crescimento da agricultura na economia mundial, houve um aumento drástico no consumo de fertilizantes fosfatados, isto resultou na diversificação das fontes fosfatadas produzidas. Nos processos de fabricação, em sua maioria, são empregados ácidos aplicados em rochas fosfatadas que resultam em produtos com alta concentração e de alta solubilidade (HANSEL, 2013).

Em geral os fertilizantes fosfatados mais utilizados na agricultura são: fosfato diamônico, hiperfosfato, superfosfato simples e fosfato bicálcico. Nas culturas o fósforo é encontrado e reciclado em diversas formas, como no solo, atmosfera e no meio ambiente (SIMPLICIO, 2015).



2.7 FERTILIZANTES ORGÂNICOS

Os fertilizantes orgânicos são constituídos de materiais de procedência vegetal ou animal que podem ser utilizados para fertilizar as culturas. Diferente dos fertilizantes convencionais, apresentam baixo impacto ambiental, possuem alto valor agregado e baixo custo de produção. Contudo, os materiais utilizados na produção dos orgânicos não podem conter resíduos contendo metais pesados, produtos químicos tóxicos. Além disto precisam estar conforme toda a legislação vigente dos órgãos que regulamentam a agricultura orgânica (MENEGHEL, 2017).

Os fertilizantes apresentam diversas vantagens, como: a liberação mais lenta dos nutrientes para as plantas e uma alta durabilidade no solo. A fertilização orgânica também auxilia evitando a compactação do solo, que dificulta o desenvolvimento da cultura. Entretanto, possuem desvantagens: demoram mais para surtir efeitos pela absorção mais lenta e em grandes escalas se tornam mais inviáveis, principalmente em culturas de cereais (CAVALLARO JÚNIOR, 2006).

3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Inicialmente foram preparadas as soluções em triplicata para o desenvolvimento de cada levedura individualmente. Em cada béquer foram adicionados os reagentes conforme a Tab. 2 sendo que os valores de cada matéria-prima são baseados nos meios de cultura presentes na Empresa Rhal Ciência e Tecnologia, situada na cidade de Criciúma que exerce pesquisa, desenvolvimento e disponibiliza para o mercado produtos com alto valor tecnológico. Seus complexos nutricionais fornecem macro e micronutrientes, bioativadores, tecnologia de aplicação e proteção.

Tabela 2: Meio de Cultura.

Reagente	Quantidade (g)
Água	68,9%
Rocha fosfática	3,4%
Melaço	10,9%
Glúten de Trigo	6,7%
Farinha de Soja	8,4%
Sulfato de Manganês	0,8%
Sulfato de Zinco	0,8%

Fonte: Do autor (2019)



As soluções foram movidas para kitassatos junto com os microrganismos ativados isoladamente. Foram utilizadas 6 leveduras da indústria cervejeira, sendo elas 3 tipos mais utilizados em cervejas do tipo Ale, que foram denominadas como A1 e A2, 2 tipos de leveduras utilizadas em cervejas Lager, denominadas como L1 e L2 e outra mais utilizada em vinhos ou hidroméis denominada como V1 conforme o Qd. 2. Além destas foram também utilizados nos testes a levedura convencional para pães e grãos de kefir e para realizar a comparação dos testes foram feitos 2 testes em branco, um deles com ácido cítrico para obter o rendimento real das extrações e outro sem ácido cítrico.

Quadro 2: Leveduras utilizadas na extração.

Levedura	Código
Red Star	V1
Saflager S-23	L1
Saflager w-34/70	L2
Safale wb-06	A1
Safale US – 05	A2
Levedura de pão	P
Kefir	K
Branco com ácido cítrico	BC
Branco sem ácido cítrico	BS

Fonte: Do autor (2019)

Na ativação para inserção no meio de cultura, primeiramente cada levedura foi ativada de forma isolada, onde cada uma foi adicionada em um béquer respectivo para cada microrganismo, contendo uma solução de açúcar invertido a 30°C para sua ativação, os microrganismos ficaram nesta solução por 5 min. e em seguida foram utilizadas. As condições seguem a padronização industrial da Empresa Rhal tanto de temperatura como de tempo de extração biológica.

Os microrganismos então foram movidos para os kitassatos, que estavam devidamente identificados com o tipo de levedura presente e com a solução de meio de cultura. Para que o meio de extração se mantivesse aerado, ele foi agitado manualmente todos os dias para que tivesse contato do meio de cultura com o ar. Após 10 dias de fermentação foi adicionado ácido cítrico em diferentes concentrações de 5, 10, 20 e 30% para auxílio na extração e também atuação como conservante.

Com o sistema de fermentação completo foram realizadas análises periódicas da quantidade de fósforo presente em cada amostra de cada levedura, sendo retiradas em um intervalo de 7, 15, 30 e 45 dias após 10 dias da adição de ácido cítrico. O teor de fósforo foi obtido com o método Gravimétrico do Quimociac,



este teste foi realizado no Controle de Qualidade da empresa e consiste na solubilização do fósforo da amostra por extração fortemente ácida e posterior precipitação do íon ortofosfato como fosfomolibdato de quinolina, o qual é filtrado, secado e pesado.

Com os dados obtidos nas análises periódicas de fósforo foi possível identificar qual das leveduras que nas mesmas condições obteve melhor desempenho.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão descritos os resultados e discussões.

4.1 EXTRAÇÕES

Com a preparação dos meios de cultura, foram realizadas extrações com percentuais de 5, 10, 20 e 30% de ácido cítrico no meio para observar o comportamento de dissolução de cada levedura.

4.1.1 Extração com 5% de ácido cítrico

Utilizando 5% na formulação da extração do ácido cítrico pode-se observar os resultados obtidos com a extração em relação ao tempo na Tab. 3.

Tabela 3: Extração com 5% de ácido cítrico.

Levedura	7 dias	15 dias	30 dias	45 dias
V1	0,02	0,06	0,06	0,05
L1	0,04	0,05	0,07	0,05
L2	0,04	0,05	0,07	0,09
A1	0,03	0,05	0,03	0,04
A2	0,03	0,05	0,06	0,05
P	0,26	0,34	0,27	0,26
K	0,32	0,31	0,25	0,25
BS	0,09	0,15	0,14	0,15
BC	0,07	0,11	0,12	0,15

Fonte: Do autor (2019)



A primeira extração realizada com 5% de ácido cítrico em formulação resultou em valores baixos para as leveduras V1, L1, L2, A1 e A2, apresentando valores inferiores à 0,1% de P_2O_5 no decorrer de todo o experimento. Isto pode ser justificado por alguma incompatibilidade dos microrganismos com o meio de cultura ou falha na ativação das mesmas, também pode ter sido ocasionado por algum erro sistemático, onde ocorrem algumas falhas na execução do procedimento resultando em divergências nos resultados e também erros aleatórios, que se trata das variáveis não controladas no decorrer do processo, como calibrações e interferências nos equipamentos.

A levedura de P e K apresentaram rendimentos relevantes, superiores à 0,3%. Comparando com o valor obtido pelo teste branco, o rendimento real das leveduras foi de aproximadamente 0,18%. Como os resultados ao decorrer do tempo tiveram uma pequena variação é possível tirar a média, para obter o valor médio de cada extração por levedura subtraindo o valor do teste branco com ácido cítrico, obtendo assim o valor real da extração do microrganismo (Tab. 4). Os resultados negativos das leveduras V1, L1, L2, A1 e A2 podem ser justificados pelos motivos já citados anteriormente, visto que o valor do teste branco foi superior ao das extrações com microrganismo.

Tabela 4: Rendimento real de cada levedura com 5% de ácido cítrico.

Levedura	Rendimento médio
V1	-0,06
L1	-0,06
L2	-0,05
A1	-0,07
A2	-0,06
P	0,18
K	0,18

Fonte: Do autor (2019)

4.1.2 Extração com 10% de ácido cítrico

Utilizando 10% na formulação da extração do ácido cítrico pode-se observar os resultados obtidos com a extração em relação ao tempo na Tab. 5.

Tabela 5: Extração com 10% de ácido cítrico.

Levedura	7 dias	15 dias	30 dias	45 dias
V1	0,44	0,48	0,43	0,39
L1	0,56	0,49	0,46	0,42



L2	0,48	0,41	0,52	0,52
A1	0,34	0,42	0,48	0,45
A2	0,45	0,42	0,37	0,42
P	0,55	0,57	0,52	0,58
K	0,55	0,57	0,48	0,51
BS	0,11	0,11	0,11	0,12
BC	0,33	0,30	0,24	0,25

Fonte: Do autor (2019)

Na extração com 10% as extrações com leveduras V1, L1, L2, A1 e A2 obtiveram um rendimento superior ao teste de 5%, obtendo uma extração com valores médios oscilando entre 0,4 a 0,5%. Destaca-se os valores da levedura P e K que apresentaram os resultados mais altos de extração, conforme anteriormente é possível obter o valor médio de cada rendimento, subtraindo o valor do branco com ácido cítrico para observar o rendimento real de cada levedura. Os valores estão apresentados na Tab. 6, nota-se que o valor das leveduras P e K demonstraram melhores rendimentos perante as demais leveduras, apenas a L1 e L2 obtiveram um rendimento aproximado destas citadas.

Tabela 6: Rendimento real de cada levedura com 10% de ácido cítrico.

Levedura	Rendimento médio
V1	0,15
L1	0,20
L2	0,20
A1	0,14
A2	0,13
P	0,27
K	0,24

Fonte: Do autor (2019)

4.1.3 Extração com 20% de ácido cítrico

Utilizando 20% na formulação da extração do ácido cítrico pode-se observar os resultados obtidos com a extração em relação ao tempo na Tab. 7.

Tabela 7: Extração com 20% de ácido cítrico.

Levedura	7 dias	15 dias	30 dias	45 dias
V1	0,88	0,98	1,04	1,31
L1	0,96	1,07	1,06	1,33
L2	0,92	1,00	1,11	1,17
A1	0,94	0,95	1,00	1,20
A2	0,89	0,94	0,92	1,24
P	0,91	1,03	1,02	1,35



K	1,09	1,01	1,02	1,56
BS	0,11	0,11	0,09	0,09
BC	0,71	0,76	0,77	0,99

Fonte: Do autor (2019)

Na extração com 20% de ácido cítrico, as leveduras apresentaram um comportamento similar, com rendimentos próximos a 1%. O valor médio de rendimento real (rendimento da levedura subtraído o valor do teste BC) está apresentado na Tab. 8. Observa-se que a levedura K obteve o melhor rendimento com 0,37% de extração, seguido pela L1 e a P. Neste ponto é possível observar que à medida que aumenta a concentração de ácido cítrico no meio o rendimento das leveduras aumenta também.

Tabela 8: Rendimento real de cada levedura com 20% de ácido cítrico.

Levedura	Rendimento médio
V1	0,25
L1	0,30
L2	0,25
A1	0,22
A2	0,19
P	0,27
K	0,37

Fonte: Do autor (2019)

4.1.4 Extração com 30% de ácido cítrico

Utilizando 30% na formulação da extração do ácido cítrico pode-se observar os resultados obtidos com a extração em relação ao tempo na Tab. 9.

Tabela 9: Extração com 30% de ácido cítrico.

Levedura	7 dias	15 dias	30 dias	45 dias
V1	1,05	0,85	0,88	0,87
L1	1,76	1,81	1,76	1,95
L2	0,90	0,94	1,01	0,96
A1	0,98	0,91	0,94	0,98
A2	1,06	0,72	0,72	0,80
P	2,03	1,94	1,92	2,22
K	1,46	1,62	2,12	2,17
BS	0,11	0,12	0,13	0,10
BC	0,11	1,66	2,02	2,07

Fonte: Do autor (2019)



O último teste com 30% de ácido cítrico apresentou oscilações entre os valores de rendimento. Inicialmente é destacado que o ácido cítrico ficou em supersaturação, visto que obteve o rendimento máximo da extração possível, comparando o branco com as demais leveduras, nenhuma apresentou um valor superior, somente valores aproximados.

Neste teste os meios de cultura adquiriram um aspecto gelatinoso nos primeiros dias e após 15 dias estavam em estado sólido, isto pode ser justificado pela alta higroscopia que o ácido cítrico possui e por estar em quantidades elevadas sua absorção de água resultou no endurecimento do meio e isto pode ter prejudicado todo o procedimento da extração, trazendo valores inconsistentes nos testes.

Obtendo o valor do rendimento médio de cada levedura, descritos na Tab. 10 é possível observar a inconsistência nos resultados por conta dos motivos já citados.

Tabela 10: Rendimento real de cada levedura com 30% de ácido cítrico.

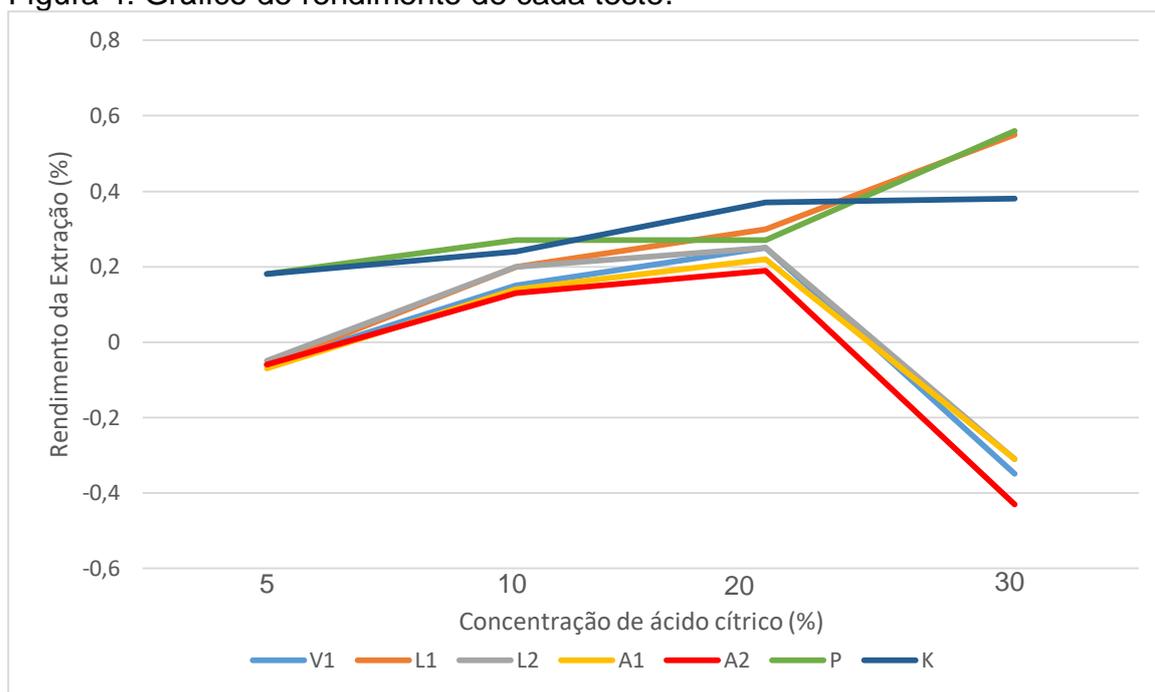
Levedura	Rendimento médio
V1	-0,35
L1	0,55
L2	-0,31
A1	-0,31
A2	-0,43
P	0,56
K	0,38

Fonte: Do autor (2019)

4.2 RENDIMENTO POR CONCENTRAÇÃO

Sintetizando todos os resultados médios obtidos, é possível construir um gráfico para observar, apenas de modo intuitivo e visual o comportamento da extração nos testes (Fig. 4).

Figura 4: Gráfico de rendimento de cada teste.



Fonte: Do autor (2019)

No gráfico está demonstrado o rendimento real de cada levedura em cada teste, observa-se que à medida que se aumenta a concentração de ácido cítrico o rendimento dos microrganismos aumenta.

Inicialmente os testes de 5% para as leveduras V1, L1, L2, A1 e A2 demonstraram rendimentos baixos, inferiores a 0,1%, isto decorreu por conta das interferências já citadas nos resultados, mas para a levedura P e K obtiveram-se valores de 0,18 para ambas respectivamente, este valor refere-se ao rendimento real superior ao teste branco.

No teste com concentração de 10% as leveduras V1, A1 e A2 obtiveram rendimentos que variaram de 0,13 a 0,15% sendo estes os menores valores da extração, as leveduras L1 e L2 detiveram um crescimento na extração para 0,20% e as leveduras P e K para 0,24 e 0,27%.

O teste com 20% as leveduras V1, L2, A1, A2 e P oscilaram com valores de 0,19 a 0,27%, as leveduras K e L1 obtiveram melhores valores de extração sendo 0,37 e 0,30%.

O último teste com 30% de ácido cítrico obteve desvios nos seus rendimentos. Em concentrações elevadas, no caso do teste com concentração de 30% de ácido cítrico o meio de cultura é prejudicado pela solidificação do meio,



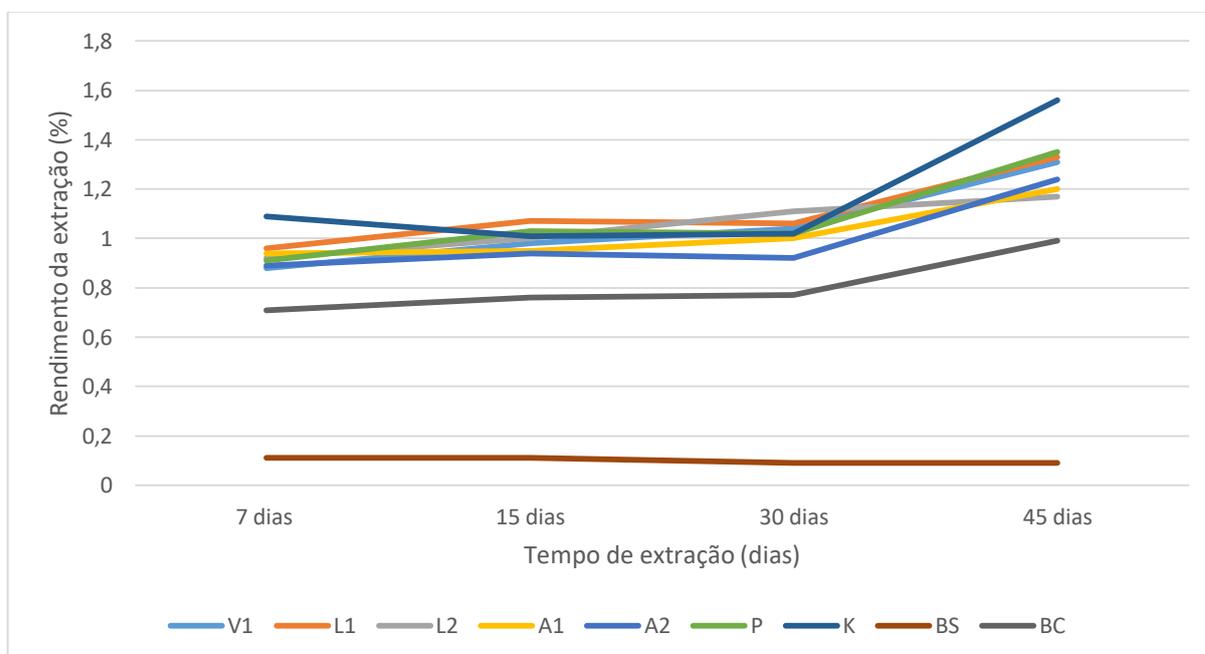
criando inconsistência nas extrações, isto faz com que não seja viável trabalhar com concentração superior a este valor.

A levedura K obteve melhores rendimentos em todos os testes de extração sendo superior as demais leveduras, isto justifica-se pela estabilidade microbiológica e consistência, visto que o kefir é constituído por mais de 40 microrganismos, sendo várias leveduras dependendo de sua origem e cultivo (ZANIRATI, 2012). Essas características conferem uma grande adaptabilidade do kefir no meio em que está inserido.

Entretanto, as demais leveduras também apresentaram aumento no rendimento com o aumento da concentração do ácido cítrico, isto se deve ao fato de que as leveduras têm maior capacidade de crescimento em pH menores, mas não inferiores a 4,5, pois valores menores já inibem seu crescimento (MELO, 2006).

Outro fator relevante a ser abordado, é o rendimento que as leveduras obtêm durante o tempo, para fazer essa análise, com os dados da Tab. 8 dos rendimentos do melhor teste com 20% de ácido cítrico, é possível construir um gráfico (Fig. 5) para observar o decorrer do rendimento no período do teste.

Figura 5: Teste de 20% de ácido cítrico: rendimento x tempo



Fonte: Do autor (2019)

Com este gráfico é possível observar que o rendimento das leveduras no período de 7 a 30 dias manteve-se constante e obteve um pequeno aumento no



período de 45 dias, isto significa que a atividade dos microrganismos se deu nos dias iniciais e se estabilizou já nos primeiros dias, essa atividade biológica pode ser observada em todos os testes realizados com outras concentrações de ácido cítrico.

Com esta observação se faz necessário o estudo mais minucioso do tempo de extração, realizando análises com intervalos de tempo menores, não havendo necessidade de realizar a extração por mais de 45 dias, visto que as extrações já estabilizaram.

CONCLUSÕES

O estudo de fertilizantes é de vital importância pois compreende um mercado que está em crescimento. Sendo que a linha de produtos orgânicos cresce exponencialmente visto que o perfil dos consumidores está mudando a cada dia e toda tecnologia ligada a estes produtos é de devida importância.

A substituição das fontes convencionais de macronutrientes na produção de fertilizantes tem por objetivo produzir de forma menos agressiva ao meio ambiente produtos com qualidade destinados para a agricultura orgânica.

A extração do fósforo proveniente da rocha fosfática utilizando leveduras obteve uma resposta positiva, demonstrando o potencial no estudo acerca deste tipo de extração. É possível observar que os valores da extração justificam o alto valor agregado em produtos orgânicos, pois demandam de estudos e novas tecnologias para que o consumidor final obtenha um produto de qualidade.

Os grãos de kefir apresentaram melhores rendimentos a concentração de 20% de ácido cítrico, gerando uma extração de 0,3% de fósforo. Esta concentração deteve os resultados mais satisfatórios por não interferir no meio de cultura.

É válido o estudo da extração por meio de microrganismos, é sugerido então que sejam realizados testes diários para acompanhamento do rendimento, em concentrações com maiores intervalos de ácido cítrico, não ultrapassando o limite de 30%. Bem como é importante observar novos microrganismos além de leveduras para o estudo deste tipo de extração e verificar a viabilidade destes microrganismos utilizados.



REFERÊNCIAS

ALVES, Glaicon Florisbello. **Solubilização de fosfato de rocha por *Aspergillus niger***. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2012. Disponível em:
<<http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/15191/1/d.pdf>> Acesso em: 17 mar. 2019.

CABRAL, Bruna Vieira. **Bissolubilização de fósforo proveniente de concentrado de rocha fosfática por *Trichoderma harzianum* em diferentes biorreatores**. Tese (doutorado) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2016. Disponível em:
<<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/17923/1/Biossolubiliza%C3%A7%C3%A3oFosforoProveniente.pdf>> Acesso em: 17 mar. 2019.

CATANI, R. A. Solubilidade de fosfatos naturais em solução de Ácido fórmico a 2%. **Anais da E.S.A. Luiz de Queiroz**. Departamento de Química da Escola Superior de Agricultura. vol. 14, 1975. Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/aesalq/v32/63.pdf>> Acesso em: 24 mar. 2019.

CAVALLARO JÚNIOR, Mario Luiz. **Fertilizantes orgânicos e minerais como fontes de N e de P para produção de rúcula e tomate**. 2006. 39f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Produção Agrícola) – Instituto Agrônomo, São Paulo, Campinas. Disponível em:
<<http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstitutoposgraduacao/dissertacoes/pb1803904.pdf>> Acesso em: 16 mai. 2019.

GUIMARÃES, Thais Martins. **Isolamento, identificação e seleção de cepas de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* para elaboração de vinho**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Disponível em:
<<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/1919/Isolamento,%20identifica%E7%E3o%20e%20sele%E7%E3o%20de%20cepas%20de%20levedura%20Sac.pdf?s equence=1>> Acesso em 17 de março de 2019.

HANSEL, Fernando Dubou. **Fertilizantes fosfatados aplicados a lanço em linha na cultura da soja sob semeadura direta**. Dissertação (Mestrado) – Ciência do solo, área de concentração em uso, manejo e conservação do solo e da água, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2013. Disponível em:
<<http://w3.ufsm.br/ppgcs/images/Dissertacoes/FERNANDO-DUBOU-HANSEL.pdf>> Acesso em: 30 mar. 2019.



IFA (International Fertilizer Industry Association). **Assessment of fertilizer use by crop at the global level**, Paris, IFA, 2014. Disponível em: <https://www.fertilizer.org/images/Library_Downloads/2017_IFA_AgCom_17_134%20rev_FUBC%20assessment%202014.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2019.

KHAN, Zuber. DWIVEDI, Anjani K. Fermentation of biomass for production of ethanol: a review. **Universal Journal of Environmental Research and Technology**. Vol. 3. 2013. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/a3dc/250d9f9b0bc9e0cc8351e301bc0e0dccde3c.pdf>> Acesso em: 24 mar. 2019.

LEITÃO, Adriana Carrhá. SILVA, Osvaldo Aulino. Variação sazonal de macronutrientes em uma espécie arbórea de cerrado, na Reserva Biológica e Estação. **Rodriguesia**, vol. 55, n. 84. 127-136. 2004. Disponível em: <https://rodriguesia.jbrj.gov.br/FASCICULOS/Rodrig55_84/85584.pdf> Acesso em: 7 abr. 2019.

LEITE, Marcela Vieira. **Fungos Filamentosos do Lodo de Esgoto: Impacto na Microbiana Fúngica e Potencial Enzimático**. Dissertação (Mestrado) – Desenvolvimento de Processos Ambientais, Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2009. Disponível em: <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp129582.pdf>> Acesso em: 17 mar. 2019.

LOPES, Alfredo Scheid. Fertilizantes e seu Uso Eficiente. **Associação Nacional para Difusão de Adubos (ANDA)**. São Paulo. 2017. Disponível em: <<http://www.ufla.br/dcom/wp-content/uploads/2018/03/Fertilizantes-e-seu-uso-eficiente-WEB-Word-Ouubro-2017x-1.pdf>> Acesso em: 16 mai. 2019.

LOPES, Alfredo Scheid. SILVA, Douglas Ramos Guelfi. **Princípios básicos para formulação e mistura de fertilizantes**. Boletim Técnico - n.º 89 - p. 1-46. 2012 Lavras, Minas Gerais. Disponível em: <<http://livraria.editora.ufla.br/upload/boletim/tecnico/boletim-tecnico-89.pdf>> Acesso em: 28 abr. 2019.

MCAULEY, Ann. JONES, Clain. JACOBSEN, Jeff. **Commercial fertilizers and soil amendments**. No.10. Nutrient Management a self-study course from MSU Extension Continuing Education Series. Montana State University, may 2009. Disponível em: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.577.4503&rep=rep1&type=pdf>> Acesso em: 30 mar. 2019.

MELO, Hélio Fernandes. **Respostas ao estresse ácido em leveduras da fermentação alcoólica industrial**. Tese (Doutorado) – Biologia de Fungos do Departamento de Micologia – Universidade Federal de Pernambuco. 2006. Recife. Disponível em:



<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/650/1/arquivo4595_1.pdf> Acesso em 14 de out. 2019.

MENDONÇA, Rodrigo Silva. **Fontes de fertilizantes nitrogenados para a cultura do milho**. 2015, 23 f. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Agrônômica) – Universidade Federal de São João Del Rei, Sete Lagoas, 2015. Disponível em: <<https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/ceagr/TCC%202015%201%201/FONTES%20DE%20FERTILIZANTE%20NITROGENADOS%20PARA%20A%20CULTURA%20DO%20MILHO-%20Rodrigo%20Silva%20Mendonca.pdf>> Acesso em: 7 abr. 2019.

MENEGHEL, João Victor. **Produção de fertilizante a partir de uma esterqueira**. 2017, 21f. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Química) – Faculdade SATC, Criciúma, 2017.

MOREIRA, Catarina. Respiração. **Revista de Ciência Elementar**, Vol. 1. 2013 Disponível em: <https://www.fc.up.pt/pessoas/jfgomes/pdf/vol_1_num_1_07_art_respiracao.pdf> Acesso em: 30 mar. 2019.

NASA. **Yeast-Group Activation Packs (Yeast-GAP)**. Disponível em: <https://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/306.html#top> Acesso em: 24 mar. 2019.

PANTANO, Glaucia. GROSSELI, Guilherme M. MOZETO, Antonio A. FADINI, Pedro S. Sustentabilidade no uso do fósforo: uma questão de segurança hídrica e alimentar. **Química Nova**, Vol. 39, No. 6, 732-740, 2016. Disponível em: <<http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/RV20150854.pdf>> Acesso em: 24 mar. 2019.

PORTO, Fabricio Menezes. Solubility of phosphate rocks in citric acid. **World Scientific Research**. Vol. 5, No. 1. 2018. Disponível em: <<http://www.asianonlinejournals.com/index.php/WSR/article/viewFile/1352/1242>> Acesso em: 24 mar. 2019.

REETZ, Harold F. Fertilizers and their Efficient Use. **International Fertilizer Industry Association (IFA)**. Paris, France. 2016. Disponível em: <https://www.fertilizer.org/images/Library_Downloads/2016_ifa_reetz.pdf> Acesso em: 16 mai. 2019.



RIBEIRO, Bernardo Dias. PEREIRA, Karen Signori. NASCIMENTO, Rodrigo Pires do. COELHO, Maria Alice Zarur. **Microbiologia Industrial**. vol 2: alimentos. 1 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018.

RODRIGUES, Cristine. **Desenvolvimento de bioprocesso para produção de ácido cítrico por fermentação no estado sólido utilizando polpa cítrica**.

Dissertação (Mestrado) Processos Biotecnológicos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. Disponível em:

<<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/14843/disserta%C3%A7%C3%A3oCorrigida.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em: 17 mar. 2019.

RODRIGUES, Fernando. LUDOVICO, Paula. LEÃO, Cecília. **Sugar Metabolism in Yeasts: an Overview of Aerobic and Anaerobic Glucose Catabolism**.

Universidade de Minho: Braga, Portugal. 2005. Disponível em:

<<https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/6231/1/Ch06.pdf>> Acesso: 24 mar. 2019.

SILAS, Chidi Boredi. **Organic Acid Metabolism in *Saccharomyces Cerevisiae* Genetic and Metabolic Regulation**. Tese (doutorado) – Ciências Agrônomicas, - Stellenbosch University – África do Sul, 2016. Disponível em:

<https://scholar.sun.ac.za/bitstream/handle/10019.1/98474/chidi_organic_2016.pdf?sequence=2&isAllowed=y> Acesso em: 24 mar. 2019.

SIMPLICIO, Nathan de Castro Soares. **Ecotoxicidade de fertilizantes: uma análise comparative entre produtos a base de nitrogênio, fósforo e potássio e seus ingredientes ativos isoladamente**. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Desenvolvimento Rural). 2015. 81 f. Universidade de Brasília. Brasília. 2015.

Disponível em:

<http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/19496/1/2015_NathandeCastroSoaresSimpl%C3%ADcio.pdf> Acesso em: 7 abr. 2019.

SOUSA, Djalma Martinhão Gomes de. LOBATO, Edson. **Adubação fosfatada em solos da região do cerrado**. Encarte Técnico – Informações Agrônomicas Nº 102 – Junho/2003: Planaltina, Distrito Federal. Disponível em: <

[http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/78429ADDBF7C6D5183257AA2005C6827/\\$FILE/ENCARTE102.PDF](http://www.ipni.net/publication/ia-brasil.nsf/0/78429ADDBF7C6D5183257AA2005C6827/$FILE/ENCARTE102.PDF)> Acesso em 24 mar. 2019.

Sumário Mineral, Departamento Nacional de Produção Mineral. Coordenadores Thiers Muniz Lima, Carlos Augusto Ramos Neves Brasília: DNPM, Volume 35, Brasília. 2016. 135 p.: il.; 29 cm. ISSN 0101 2053 Disponível em:

<<http://www.dnpm.gov.br/dnpm/publicacoes/serie-estatisticas-e-economia-mineral/outras-publicacoes-1/7-2-fosfato>> Acesso em: 17 mar. 2019.



ZANIRATI, Debora Ferreira. **Caracterização de bactérias lácticas da microbiota de grãos de kefir cultivados em leite ou água com açúcar mascavo por metodologias dependentes e independentes de cultivo.** Dissertação (Mestrado) - Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Minas Gerais. 2012. Disponível em:
<http://www2.ufrb.edu.br/kefirdoreconcavo/images/disserta__o_de_mestrado_d_bora_ferreira_zanirati.pdf> Acesso em 14 de out. 2019.