

Construção de um Protótipo Móvel para Aplicação de Biossurfactantes em Escala Piloto para Tratamento de Água do Mar Contaminada por Derramamento de Derivado de Petróleo

Leonie A. Sarubbo, Valdemir A. Santos, Alex E. Moura, Juliana M. de Luna e Raquel D. Rufino

Resumo – Este trabalho descreve a separação entre água do mar e derivados de petróleo, com a utilização de biossurfactantes. Espera-se chegar à construção de uma embarcação munida com um sistema dinâmico de coleta e tratamento de águas oceânicas contaminadas por petróleo e derivados. Duas estratégias foram propostas e testadas para adaptação do arranjo experimental a Experimentos testaram a coleta de águas contaminadas em ambiente marinho, com separação simultânea do derivado de petróleo livre. As águas oleosas residuárias foram recuperadas em um protótipo de flotação por ar dissolvido, com auxílio de um biossurfactante de baixo custo. Essa ação poderá evitar que águas coletadas pela Termelétrica de Pernambuco (TERMOPE), para o resfriamento de partes internas de suas turbinas, tragam prejuízos à geração de energia. Além disso, a TERMOPE poderá ainda prestar um serviço de utilidade pública à comunidade do Distrito Industrial e Portuário de Suape.

Palavras-chave – biossurfactantes, flotação, óleo lubrificante, petróleo, poluição ambiental.

I. INTRODUÇÃO

O Pólo Petroquímico de SUAPE tem permitido ao Estado de Pernambuco alcançar níveis de desenvolvimento elevados em virtude da instalação de inúmeros empreendimentos econômicos. A instalação da Refinaria Abreu e Lima, entretanto, tem despertado a preocupação das indústrias instaladas no seu entorno. No caso específico da TERMOPE, com sua localização em termos de captação de água para refrigeração de seu sistema gerador (Figura 1), esta se encontra sujeita a perigo iminente de derramamento ou vazamento desses produtos. Infelizmente, o que se observa na maior parte das empresas brasileiras é que ainda não existe a cultu

ra da prevenção à poluição, estando a gestão ambiental das mesmas direcionada para o cumprimento das exigências dos órgãos governamentais de controle ambiental, refletindo a cultura empresarial do tipo “Controle de fim de linha” e gestão ambiental do tipo “reativa”. Contudo, acreditamos que uma postura pró-ativa com o meio ambiente é muito mais lucrativa para as empresas, sob vários pontos de vista e, sem dúvidas, essa foi a motivação para a elaboração do presente projeto.

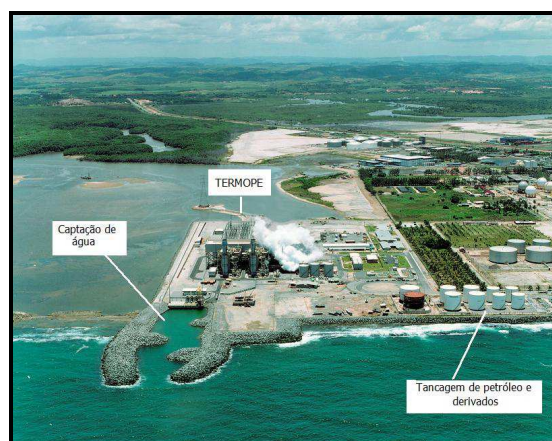


Figura 1. Localização da captação de água pela TERMOPE no Complexo Industrial Portuário de Suape (Fonte: <http://www.iberdrola.es>)

Um exemplo simples, a partir de uma estimativa também simples, é uma suposta perturbação no sistema, cujo resultado poderia ser a perda de 1 % da capacidade de geração da termoelétrica, em virtude da presença de derivados de petróleo na água de refrigeração, motivada pela contaminação dessa devido a um também suposto acidente nos parques de tanques vizinhos à unidade da termoelétrica. No caso da TERMOPE, cuja capacidade de geração é da ordem de 540 MW/h, essa perda anua poderia ser estimada na faixa de: Perda financeira = $0,01 \times 540 \text{ MW/h} \times 8760 \text{ h/ano} \times 150 \text{ R\$/MW} = \text{R\$ } 7.095.600,00$ por ano

Os cálculos apresentados anteriormente justificaram, em parte, investimentos no desenvolvimento tecnológico apresentados neste projeto.

Portanto, o desenvolvimento de uma tecnologia de aplicação de surfactantes de origem microbiana e biodegradáveis na contenção de resíduos de derivados de petróleo apresentou-se como solução para evitar danos à unidade da TERMOPE e ao próprio meio ambiente marinho. A referida

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do Programa de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico do Setor de Energia Elétrica regulado pela ANEEL e consta dos Anais do VIII Congresso de Inovação Tecnológica em Energia Elétrica, (VIII CITENEL), realizado na Costa do Sauipe/BA, no período de 17 a 19 de agosto de 2015.

Este trabalho foi apoiado pela Termelétrica de Pernambuco (TERMOPE), pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

L. A. Sarubbo, V. A. Santos, A. E. Moura, J. M. Luna e R.D. Rufino são pesquisadores associados do Centro de Gestão de Tecnologia e Inovação (e-mails: leonie@unicap.br, valdemir.alxandre@hotmail.com, alexeltton@gmail.com, Julianamouraluna@gmail.com, raqueldrufino@yahoo.com.br).

estratégia, contudo, associou as capacidades de detergência, desemulsificação, solubilização e dispersão de fases, a mecanismos fluidodinâmicos que reduzissem ao mínimo o tempo de recuperação do elemento impactado e, sobretudo, não interferissem no estado estacionário que deve reger o funcionamento do sistema afetado. Para isso, foram necessárias realizações de testes em escala intermediária (Escala Piloto), uma vez que grande parte dos processos elaborados em escala de laboratório não garante a reprodutibilidade em escala comercial. Dessa forma, houve necessidade de se construir um protótipo piloto porque:

- os melhoramentos nos processos em escala de bancada necessitavam serem confirmados em escala intermediária;
- grande parte dos processos, ao aumentar de escala, aumenta sua complexidade, dificultando o escalonamento;
- a passagem por uma escala intermediária representa um passo a mais na direção da escala comercial e;
- as estimativas de custos de investimentos e insumos (matérias-primas, vapor, água, ar comprimido, eletricidade, etc.) são empreendidas com melhor precisão em escala piloto.

Basicamente, a estratégia para solução do problema tecnológico de derramamento de petróleo e derivados nas proximidades da captação de água do mar pela TERMOPE passou pelo desenvolvimento de biossurfactantes comerciais que auxiliassem na desestabilização de emulsões do tipo “fase aquosa-fase orgânica”, associados a uma técnica de separação física eficiente dessas emulsões para recuperação da fase orgânica e retorno da água ao ambiente marinho. No nosso caso, a tecnologia de separação empregada foi a Flotação por Ar Dissolvido (FAD).

O presente Projeto foi selecionado pela Termelétrica de Pernambuco dentro do Programa de Pesquisa e Desenvolvimento da Empresa, recebendo o código TPE50 e teve como Instituição Executora o Centro de Gestão de Tecnologia e Inovação. Na proposta inicial (TPE42), a obtenção de biossurfactantes (ou biodetergentes) foi a principal etapa de execução para definir o objetivo do projeto: “Desenvolver um sistema para coletar água do mar em áreas contaminadas por derramamento de petróleo e/ou derivados, dosar a água coletada com auxílio de um biossurfactante desemulsificante, e passar o referido fluxo de líquidos, parcialmente livres, por um eficiente processo de separação física”. Para a seleção do método de separação física líquido-líquido foram comparadas as técnicas de: decantação contínua associada a uma bateria de hidrociclones com a de flotação por ar dissolvido (FAD). A escolha final pelo uso da técnica de FAD veio em função de comparações e discussão por engenheiros da equipe do projeto, em congressos científicos (por exemplo, RIO OIL & GAS CONFERENCE). O Relatório Final do referido projeto obteve 100% de aprovação junto a ANEEL, conforme pode ser comprovado através da planilha de projetos da ANEEL no link: [http://www.aneel.gov.br/arquivos/PDF/Projetos_PED-ANEEL_\(Res_Norm_316-2008\)_Ver2014.06.20.xls](http://www.aneel.gov.br/arquivos/PDF/Projetos_PED-ANEEL_(Res_Norm_316-2008)_Ver2014.06.20.xls).

Numa segunda etapa, foi aprovada a continuidade do TPE42, ou seja, o TPE50, que teve como objetivo principal "Desenvolver um protótipo em escala piloto para recuperar a água do mar contaminada com petróleo e/ou derivados, com auxílio de uma associação de biossurfactantes desestabilizadores da emulsão fase aquosa-fase orgânica e separação física por meio de flotação por ar dissolvido (FAD)". Durante o

desenvolvimento do TPE50, ficou evidente a grande oportunidade da Termopernambuco em oferecer, para a própria empresa e à Comunidade de seu entorno, um sistema de proteção socioambiental. Para isso, deverá manter uma embarcação munida de aparelhagem que permita a recuperação *in situ* de águas oceânicas contaminadas por possíveis derramamentos de petróleo e derivados, com uma proteção efetiva do meio ambiente.

Espera-se, para uma terceira etapa, que seja aprovada a continuidade da proposta sob o título de “Construção de uma embarcação para tratamento *in situ* de água do mar contaminada por petróleo e derivados utilizando biossurfactantes”, a fim de se chegar à construção de uma embarcação munida com um sistema dinâmico de descontaminação. Essa ação evitará que águas coletadas pela TERMOPE, para o resfriamento de partes internas de suas turbinas, tragam prejuízos à geração de energia. Além disso, a TERMOPE poderá ainda prestar um serviço de utilidade pública à comunidade do Distrito Industrial e Portuário de Suape, mantendo a referida embarcação em regime de alerta (patrulhamento da área), quanto à ocorrência de iminentes acidentes pela presença de extenso parque de reservatórios de petróleo e derivados nas vizinhanças de suas instalações. Essa embarcação tonar-se-ia uma solução preventiva contra acidentes que possam vir a prejudicar o funcionamento do sistema de resfriamento da Usina, a qual utiliza a água do mar diretamente em suas tubulações.

Além do aspecto científico e tecnológico da proposta de continuidade deste projeto, que é extremamente inovadora e inédita, uma vez que os acidentes com derivados de petróleo ainda permanecem sem solução eficaz, deixa-se aqui registrado a empolgação de pesquisadores de carreira acadêmica consolidada e em formação, diante da possibilidade de aplicação real de seus estudos; meta raramente alcançada dentro da realidade acadêmica brasileira.

II. DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

A. Descrição Geral do Projeto

A metodologia seguida pelo presente projeto seguiu duas linhas de ação. Em uma, foram desenvolvidas ações no sentido de produzir e caracterizar biossurfactantes para favorecer a desestabilização da emulsão fase aquosa - fase orgânica. Numa segunda linha foram realizados testes para elaborar e dimensionar um protótipo piloto de FAD para a realização de testes de eficiência de separação da mistura entre água marinha e óleo lubrificante. Para as duas linhas desenvolvidas foram realizados dois pedidos de patentes, cujos títulos são: “Formulação e processo de obtenção de aditivos estáveis à base de biossurfactantes para dispersantes de petróleo e seus derivados (registro BR1020140179631)” e “Processo de produção de microbolhas de ar para tratamento de efluente por flotação (registro BR1020140179623)”.

B. Produção dos Biossurfactantes

A obtenção de onze diferentes biossurfactantes, sendo três produzidos por espécies da bactéria *Pseudomonas* (*Pseudomonas aeruginosa* UCP 0992 e *Pseudomonas cepacia*

CCT6659), sete por espécies da levedura *Candida* (*Candida bombicola* URM 3718, *Candida lipolytica* UCP 0998, *Candida tropicalis* UCP 0996, *Candida sphaerica* UCP 0995, *Candida guilliermondii* UCP 995) e um produzido por uma espécie da bactéria *Bacillus* (*Bacillus* sp.) foi realizada em meios de cultura específicos.

Resíduos industriais (de refinaria de óleo de soja, de fabricação de produtos à base de milho, milhocina, melão de cana, gordura animal, óleo de fritura) foram utilizados para a produção dos biossurfactantes.

Condições de cultivo: os meios de produção apresentaram composições e condições de cultivo específicas para cada biomolécula produzida, como aração agitação e concentração celular.

As fermentações para produção dos biossurfactantes foram realizadas em biorreator de 50L à temperatura de 28°C. Após o cultivo nos diferentes meios, as amostras foram centrifugadas (5000 rpm por 30 min) para retirada das células dos micro-organismos e os biossurfactantes produzidos (líquido metabólico livre de células ou extrato bruto), foram testados quanto à capacidade de redução da tensão superficial. Os biossurfactantes contidos nas amostras também foram isolados e os rendimentos em produto calculados.

Isolamento dos biossurfactantes: os biossurfactantes foram testados na sua forma bruta, ou seja, contidos no líquido resultante da fermentação após a retirada das células por centrifugação, identificado como líquido metabólico livre de células e na forma semipurificada, obtida de acordo com as metodologias de extração utilizando solventes orgânicos. Os biossurfactante brutos também foram testados após formulação [1]-[3].

Determinação da tensão superficial: a tensão superficial dos biossurfactantes foi medida no líquido metabólico livre de células (biossurfactantes brutos) em tensiômetro KSV Sigma 700 (Finland). A concentração micelar crítica (CMC) dos biossurfactantes, ou seja a mínima concentração do biossurfactante isolado capaz de reduzir ao máximo a tensão superficial, foi usada como referência para os testes com as biomoléculas na forma semipura (ou isolada), conforme descrito na Tabela I.

Tabela I. Concentração Micelar Crítica dos biossurfactantes isolados.

Biossurfactantes produzidos por	Concentração Micelar Crítica (CMC) (g/L)
<i>Candida guilliermondii</i>	4,20
<i>Candida lipolytica</i> 1	0,30
<i>Candida lipolytica</i> 2	0,80
<i>Pseudomonas cepacia</i> 1	0,15
<i>Pseudomonas cepacia</i> 2	16,00
<i>Bacillus</i> sp.	5,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,00
<i>Candida bombicola</i>	4,00
<i>Candida tropicalis</i>	5,00
<i>Candida sphaerica</i> 1	0,25
<i>Candida sphaerica</i> 2	0,80

C. Formulação dos Produtos Comerciais

Os biossurfactantes brutos foram submetidos a diferentes procedimentos de conservação: a) aos líquidos metabólicos

foram adicionadas diferentes concentrações do sorbato de potássio como conservante (0,2%, 0,6% e 1%); b) os líquidos metabólicos foram aquecidos a 80°C (vapor fluente) durante 30 min e depois adicionados 0,2% de sorbato de potássio; c) os líquidos metabólicos foram esterilizados por tindalização fracionada (vapor fluente) durante 30 min por 3 dias consecutivos; d) Os líquidos metabólicos foram aquecidos a 80°C (vapor fluente) durante 30 min.

Após a exposição dos biossurfactantes às diferentes condições de formulação, os líquidos metabólicos foram estocados à temperatura ambiente ao longo de 90 dias para observação de suas estabilidades. Testes foram realizados para determinação do tempo de estocagem (0, 10, 20, 30, 60, 90 e 120 dias) à temperatura ambiente de 28-30 °C, verificando-se a tensão superficial e emulsificação frente a condições específicas como presença de sal (2, 4, 6 e 8%), aquecimento (28 e 40 °C) e variações de pH (2, 4, 6, 8, 10 e 12). Testes de dispersão/agregação também foram realizados.

D. Caracterização Toxicológica dos Biossurfactantes

Testes de toxicidade dos biossurfactantes frente a microcrustáceos foram realizados com *Artemia salina* (larva de camarão), comumente usada como bioindicador marinho. Os resultados foram obtidos através de confirmação visual de microcrustáceos sobreviventes após submissão ao meio contendo os biossurfactantes por 24 horas [4].

Testes de toxicidade aguda foram realizados utilizando o bivalve *Anomalocardia brasiliana*, popularmente conhecido como marisco-pedra ou berbigão, como indicador, para determinação das Concentrações Letais Médias (CL₅₀) dos biossurfactantes, durante 24 a 96 horas. O resultado do experimento baseou-se na determinação da concentração letal média para 50% dos indivíduos empregados (CL₅₀), expressa em função da mortalidade média das três réplicas para cada diluição testada com cada biossurfactante.

A toxicidade dos biossurfactantes frente ao peixe *Poecilia vivipara*, vulgarmente, conhecido como guaru ou barrigudinho foi realizada com esta espécie como indicador em função da mesma apresentar sensibilidade e capacidade de resposta a poluentes ambientais [5]-[6]. Após um período de aclimação de 1 semana, os peixes foram utilizados nos testes de exposição aos biossurfactantes brutos e com diferentes formulações.

Além dos testes toxicológicos com o bivalve e com os peixes, as toxicidades dos biossurfactantes formulados foram avaliadas também através de uma metodologia difundida internacionalmente que utiliza a cebola (*Allium cepa* L.) como indicador [7]. O ensaio teve como controle negativo cebolas expostas apenas a água mineral. Para a análise da fitotoxicidade, ao fim do teste, o número de raízes de cada cebola foi contado e o comprimento da maior raiz medido. Para obtenção do Peso úmido, as cebolas com as raízes que cresceram após a exposição ao material também foram pesadas.

E. Construção e Instalação do Protótipo Piloto Móvel

A dificuldade de se reproduzir um ambiente com as características hidrodinâmicas das ondas oceânicas fez com que a equipe do projeto reprogramasse uma sequência mais ade-

quada de ações. Em lugar da realização de experimentos em aquários, como se haviam previsto, os mesmos foram transferidos para o próprio oceano, quando da etapa de coleta de águas marinhas contaminadas. Dessa forma, a Figura 2 apresenta um fluxograma das ações que compuseram a metodologia desta etapa do Projeto.

De posse de dados experimentais, ou banco de dados obtidos com a conclusão do TPE42, foi elaborado e dimensionado um protótipo piloto de FAD (Figura 2), para a realização de testes de eficiência de separação da mistura entre água marinha e óleo lubrificante (derivado de petróleo escolhido para a realização desses testes). Foram realizados testes preliminares e verificada a necessidade de ajustes para uma operação adequada do protótipo. Em seguida foi elaborada a construção de um sistema dinâmico para realizar a coleta de águas marinhas artificialmente contaminadas com auxílio de um barco pesqueiro. Esses testes dinâmicos tiveram o objetivo de definir uma estratégia adequada para separação preliminar água óleo e níveis aceitáveis de afluente, para tratamento com auxílio da técnica de FAD. Em seguida foram realizados testes de eficiência de separação com águas contaminadas, utilizando-se dosagens de biossurfactantes produzidos em escala piloto.

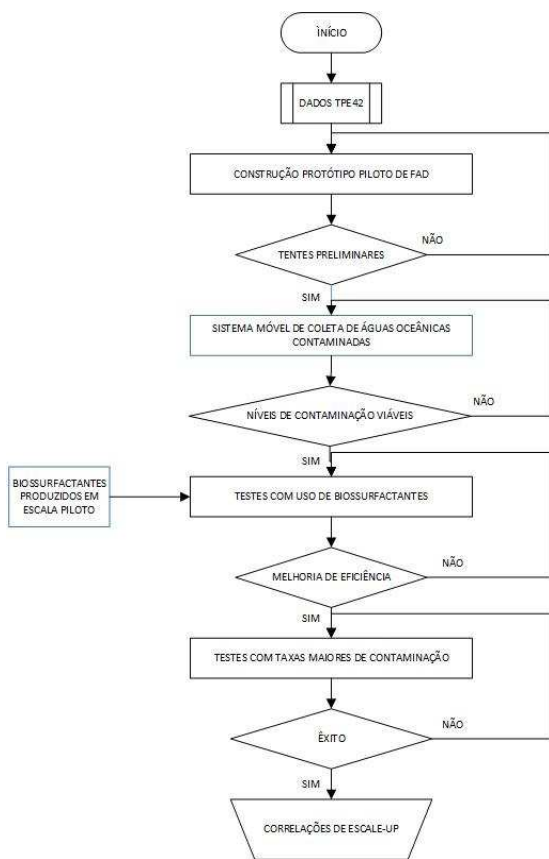


Figura 2. Fluxograma das ações que compuseram a metodologia de construção e instalação do protótipo piloto móvel.

Com o êxito dos testes realizados com auxílio de biossurfactantes, via planejamento experimental do tipo DCCR (Delineamento Composto Central Rotacional) e análise dos resultados empregando a Metodologia de Análise de Superfícies de Respostas (MSR), passou-se à elaboração e implantação de estratégias de automação e controle do protótipo de

FAD. A estratégia envolvendo o controle de nível nas câmaras de flotação foi eleita como a mais adequada em função da instabilidade que se esperava de uma embarcação em ambiente marinho e foi realizada com auxílio do software LabVIEW. Os componentes do sistema de controle foram implantados e testados com êxito. Os níveis de poluição do afluente sintético chegaram a cerca de 124 ppm de óleo lubrificante. Contudo, um grande aumento da produção de espuma oleosa e a manutenção de uma eficiência de separação de 97 % sinalizaram a manutenção da alta eficiência do sistema de separação água-óleo. Finalizando a metodologia empregada no desenvolvimento deste projeto, um estudo sobre a fluidodinâmica nas câmaras de flotação indicou predominâncias de grandezas inerciais e gravitacionais, permitindo a aplicação das leis de semelhança hidráulica e definição das correlações de *scale-up*, necessárias a continuidade do projeto.

F. Aplicações dos Biossurfactantes

Os biossurfactantes formulados foram avaliados quanto às propriedades dispersantes e agregadoras, bem como quanto às capacidades de emulsificação e desemulsificação, a fim de garantir a eficiência das biomoléculas após seus respectivos tratamentos de conservação. A capacidade de dispersão ou agregação de manchas de derivados de petróleo foi simulada em laboratório contaminando-se amostras de água do mar coletadas nas proximidades do sistema de captação do sistema gerador de energia da TERMOPE com 5% de óleo diesel ou óleo pesado de navio. Testes foram conduzidos pela adição dos biossurfactantes brutos e formulados. Os resultados foram observados visualmente e a relação entre os volumes necessários dos biossurfactantes e as dimensões das “gotas” calculados [8]. As capacidades de emulsificação de diferentes compostos hidrofóbicos foram determinadas [9] onde 2 ml de compostos oleosos foram adicionados a 2 ml dos biossurfactantes brutos e formulados, em tubos graduados e agitados durante 2 minutos. As estabilidades das emulsões foram determinadas após 24 horas, e os percentuais de emulsificação (E) foram calculados.

Testes para determinação das capacidades desemulsificantes das biomoléculas também foram realizados preparando-se emulsões pela mistura de óleo de motor e água destilada e óleo de motor e água do mar com um mixer mecânico digital a 900 rpm por 15 min. A emulsão preparada foi deixada em repouso durante 24 h a 28°C. Para o teste de desemulsificação, os biossurfactantes brutos (líquidos metabólicos obtidos após a fermentação sem as células) ou da solução dos biossurfactantes isolados (semi-purificados) em diferentes concentrações (1/2CMC, CMC e 2xCMC) foram adicionados a um tubo contendo a emulsão de óleo de motor em água destilada previamente preparada. Um controle contendo apenas a emulsão óleo de motor/água foi preparado. O tubo foi agitado a fim de atingir uma mistura total das fases. Em seguida, o tubo foi deixado em repouso a 28°C. A alteração do volume da fase aquosa foi registrada após um dia (24 horas) e após sete dias [10]-[11].

III. RESULTADOS DA PESQUISA

A. Dimensionamento do Flotador por Ar Dissolvido

O desempenho de uma flotação por ar dissolvido depende primariamente da relação entre o volume de ar e massa de material a ser flotado (A/S) necessária para atingir um dado grau de clarificação. Esta razão vai variar com cada tipo de suspensão e pode ser determinada experimentalmente usando uma célula de flotação em escala de laboratório. Razões A/S típicas encontradas no abrandamento de lodo em plantas de tratamento de efluentes variam de 0,005 a 0,060.

As equações que permitem dimensionar os sistemas de flotação por ar dissolvido sem e com reciclo são [12]:

Sem Reciclo

$$\frac{A}{S} = \frac{1,3 \cdot S_a \cdot (f \cdot P - 1)}{X_0} \quad (1)$$

Em que S_a - solubilidade do ar em água, em cm^3/L de água residuária à pressão atmosférica; f - fração de ar dissolvido, considerando-se a saturação incompleta (valores entre 0,5 e 0,8); P - pressão de funcionamento em atmosfera (atm); X_0 - concentração de sólidos na água residuária.

Com Reciclo

$$\frac{A}{S} = \frac{R \cdot 1,3 \cdot S_a \cdot (f \cdot P - 1)}{Q \cdot X_0} \quad (2)$$

Em que R é a razão de recirculação; Q é a vazão afluente. Valores de S_a disponíveis na literatura conforme a temperatura de trabalho são: 29,2(0°C); 22,8(10°C); 18,7(20°C); 15,7(30°C).

B. Dimensionamento dos Tanques de Dosagens de Óleo e Biossurfactante

As preocupações iniciais com o funcionamento do protótipo de FAD, após a eliminação do problema de espaço com o novo método de produção de microbolhas, passaram a ser a grande quantidade de água contaminada necessárias para testes de separação e seu descarte e a quantidades de derivados de petróleo, e de como essa última seria dosada para se obter uma concentração constante de poluente. Essa preocupação se prendeu ao fato de que o tipo de água ideal para os testes teria de ser a água do mar e, contudo, não existe um local adequado para descarte desse tipo de efluente. Dessa forma, a solução para o referido problema foi a elaboração de um sistema que permitisse a recirculação da água do mar separada do óleo, desde que a mesma fosse alimentada no sistema com a mesma quantidade de óleo do afluente original, ou seja, do afluente que lhe deu origem. Para manter a mesma quantidade de água do mar no sistema, durante os testes do processo de separação por FAD, foi elaborado um sistema de recirculação dessa água.

Ao sair do reservatório de água tratada na extremidade de saída do protótipo de FAD, dois fluxos são originados. Um dos fluxos de água tratada é recirculado por uma bomba para produzir microbolhas, enquanto que o outro fluxo é enviado para um tanque de mistura por uma bomba de recirculação de água tratada.

Água oleosa é um termo genérico usado para descrever todas as águas que apresentam quantidades variáveis de óleos, graxas, lubrificantes e outros derivados de petróleo, além de outras substâncias coloidais e dissolvidas, tais como

detergentes, sais, metais pesados, etc. Quando a água oleosa contém substância orgânica emulsionada, essa se encontra tão intimamente misturada e estabilizada na água que a sua presença não pode ser distinguida a olho nu. Visualmente, tem-se um sistema "monofásico" água e derivado de petróleo, que é conhecido como emulsão. Em condições de equilíbrio, o óleo puro é imiscível na água, e não ocorre a formação de emulsões, ficando apenas óleo livre em suspensão na água. Para que exista uma emulsão são necessárias duas condições: i) deve haver uma dispersão mecânica da fase orgânica na água ou vice versa, com a dispersão de gotículas de uma fase em outra e; ii) o meio deve conter algum agente químico capaz de estabilizar essa mistura. Em lugar de se dimensionar um tanque para adicionar óleo, elaborou-se um tanque de mistura contínua entre água e óleo, com capacidade máxima de 300 L. Ao retornar do tratamento de separação, parte a água tratada por FAD é espalhada na superfície do líquido em agitação no tanque de mistura. Nessa superfície é mantida uma camada de fase orgânica livre, para que sirva de contaminante da água que retorna ao tanque. Simultaneamente, a bomba que envia água contaminada para o protótipo de FAD tem parte de sua descarga retornando para o tanque de mistura.

A vazão máxima de alimentação do protótipo FAD foi de 2,5 m^3/h (1,5 m^3/h de recirculação para produção de microbolhas e 1,0 m^3/h de alimentação com efluente sintético). Estimando-se uma dosagem máxima de biossurfactante de 200 mg/L , e admitindo-se uma massa específica para esse produto, semelhante à da água, chegou-se a:

$$\tau = \frac{V_{PFAD}}{Q_{PF}} = \frac{1,53 \text{ m}^3}{2,5 \text{ m}^3/\text{h}} = 0,612 \text{ h} = 36,7 \text{ min} \quad (3)$$

Em que τ - tempo espacial, ou de retenção do líquido, no protótipo de FAD, h; V_{PFAD} - volume de líquido no protótipo de FAD, m^3 ; Q_{PF} - vazão de líquido recirculando no protótipo de FAD, m^3/h .

Contudo,

$$V_{BS} = 2,5 \frac{\text{m}^3}{\text{h}} \cdot 200 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \frac{1000\text{L}}{\text{m}^3} \frac{\text{kg}}{1000000 \text{ mg}} \cdot 0,612 \text{ h} \cdot \frac{1}{1000} \frac{\text{m}^3}{\text{kg}} = 0,0005 \text{ m}^5 \quad (4)$$

Ou seja, meio litro.

C. Produção de Biossurfactantes em Biorreator Piloto

Os biossurfactantes foram produzidos em larga escala, sendo determinados os rendimentos de produção e a tensão superficial. As propriedades gerais dos biossurfactante produzidos nesse projeto estão compiladas na Tabela II.

A tensão superficial é um parâmetro de grande importância para verificar não só a presença, como também a eficiência de um surfactante [13]-[14]. A tensão superficial ar/água para a água destilada é de aproximadamente 72 mN/m . Tipicamente, surfactantes podem diminuir esses valores para cerca de 30-40 mN/m [15]. Os biossurfactante obtidos nessa pesquisa apresentaram tensão superficial entre 27 e 40 mN/m , demonstrando eficiência como tnsosativos e rendimento favorável, entre 10 e 20 g/L .

D. Formulação dos Biossurfactantes Comerciais

Com a finalidade de oferecer biossurfactantes comerciais, foi necessário submeter os biossurfactantes produzidos a alguns métodos de conservação e avaliar suas propriedades (tensão superficial e dispersão, que permitem a quebra a mancha de óleo e emulsificação, que permite a mistura na forma de pequenas gotas, facilitando a biodegradação pelos micro-organismos presentes na água do mar) ao longo de 120 dias, estimando-se, assim, o prazo de validade do produto a ser oferecido. Dessa forma, foram usados métodos de aquecimento isoladamente e associados a adição de sorbato de potássio, um conservante que inibe o crescimento de mofo muito utilizado na produção e conservação de alimentos, que foi testado na mesma concentração usada nos alimentos. Os biossurfactantes apresentaram pouca variação na sua tensão superficial quando submetidos às metodologias nos 120 dias de análise, especialmente frente ao sorbato e ao vapor fluente com sorbato. Os biossurfactantes também não sofreram alterações significativas de suas propriedades sob condições ambientais extremas de pH, temperatura e na presença de sal.

Tabela II. Produção, formulação e toxicidade dos biossurfactantes utilizados no processo de separação água-óleo.

Biossurf.	Tensão e Rendimento	Formulação	Toxicidade para micro- crustáceo bivalve	Toxicidade para peixes
<i>Candida bombicola</i>	TS= 27,40 mN/m R=20,4 g/L	Sorbato a 0,2%	Atóxico	Atóxico
<i>Candida lipolytica</i> 1	TS= 27,5 mN/m R=21,00 g/L	Sorbato a 0,2%	Atóxico	Atóxico
<i>Candida tropicalis</i>	TS= 28,00 mN/m R=19,00 g/L	Sorbato a 0,2%	Atóxico	Atóxico
<i>Bacillus</i> sp.	TS= 27,00 mN/m R=6,5 g/L	Sorbato a 0,2%	Tóxico	Tóxico
<i>Candida sphaerica</i> 1	TS= 27,00 mN/m R=21,49 g/L	Sorbato a 0,2%	Atóxico	Atóxico
<i>Candida lipolytica</i> 2	TS= 28,00 mN/m R=20,83 g/L	Sorbato a 0,2%	Atóxico	Atóxico
<i>Pseudo- monas cepacia</i> 1	TS= 40 mN/m R= 10,57 g/L	Sorbato a 0,2%	Atóxico	Atóxico
<i>Candida guillier- mondii</i>	TS= 30,53 mN/m R= 28,5 g/L	Sorbato a 0,2%	Atóxico	Atóxico
<i>Pseudo- monas aeruginosa</i>	TS= 32,00 mN/m R=10,00 g/L	Sorbato a 0,2%	Atóxico	Atóxico
<i>Pseudo- monas cepacia</i> 2	TS= 29,00 mN/m R=12,91 g/L	Sorbato a 0,2%	Atóxico	Atóxico
<i>Candida sphaerica</i> 2	TS= 27,60 mN/m R=22,49 g/L	Sorbato a 0,2%	Atóxico	Atóxico

Os testes para determinação do índice de emulsificação utilizando óleo motor como substrato hidrofóbico mostraram que os biossurfactantes brutos emulsificaram 100% do óleo

quando submetidos à tinalização; no entanto, ao se tratar da importância da manutenção das propriedades no decorrer do tempo de armazenagem, a adição de sorbato de potássio e a esterilização a vapor fluente foram as metodologias mais apropriadas para a manutenção da capacidade de emulsificação, que variou entre 40-60% durante os 120 dias.

A capacidade dispersante de um biossurfactante é de extrema importância quando se pretende utilizá-lo no tratamento de ambientes marinhos contaminados com hidrocarbonetos, pois esta propriedade será responsável pela aceleração da dispersão natural e da degradação da mancha de óleo pelo rompimento da mancha em pequenas gotas, promovendo, conseqüentemente, uma maior área superficial para outros processos de degradação ou foto-oxidação [16]. Dentre as metodologias de conservação testadas, a adição de sorbato de potássio permitiu dispersões/agregações entre 30-90% durante o período de armazenamento dos biossurfactantes na temperatura ambiente, conforme ilustrado nas Figuras 3 e 4.

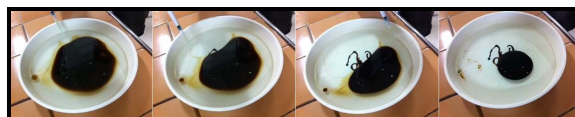


Figura 3. Ilustração da sequência da capacidade de agregação do óleo de motor por um biossurfactante formulado.

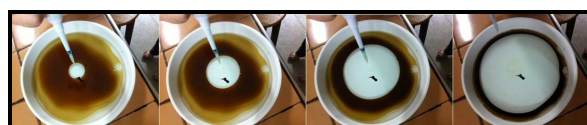


Figura 4. Ilustração da sequência da capacidade de dispersão do óleo de motor por um biossurfactante formulado.

A partir dos resultados obtidos, a metodologia de conservação com adição de sorbato de potássio foi selecionada para a formulação dos biossurfactantes comerciais estáveis para aplicação em derrames de óleo em temperatura tropical (28-30°C) (Tabela II).

O sorbato além de um baixo custo, permitiu uma maior manutenção das propriedades de cada biossurfactante. Com a finalidade de determinar a possibilidade real de aplicação dos biossurfactantes formulados com sorbato de potássio em nível industrial, precedeu-se com uma pesquisa de preço dos dispersantes e biossurfactantes já comercializados a partir da literatura, sendo possível realizar uma análise preliminar dos custos.

Assim, sabendo que o preço do Corexit está em torno de US \$ 13/L [17], os biossurfactantes, sendo um preparo bruto, ou seja, não purificado, produzido a partir de resíduos industriais, biodegradável e atóxico nas condições avaliadas nessa pesquisa, podem ser uma alternativa promissora no tratamento de petroderivados derramados, considerando que o preço final de venda dos biossurfactantes formulados com sorbato de potássio possa ser estimado em US \$ 0,1-0,22/L. Para obtenção desse preço, considerou-se: (1) uma redução nos custos da ordem de 70% no processo global de produção (custos com consumo de energia, mão de obra, substratos, purificação e manutenção de equipamentos), uma vez que não será necessário incluir etapas de purificação nem substratos de altos custo, como a glicose empregada na produção

dos sofrolipídeos e (2) a adição do conservante sorbato de potássio a 0,2% (US \$ 14,76/Kg).

Por fim, pode-se afirmar que o biossurfactantes formulados com o conservante sorbato de potássio mantiveram suas propriedades tensoativas ao longo do período de armazenamento em nível suficiente para garantir aplicação como dispersantes atóxicos de manchas de petróleo e derivados, além de demonstrarem perspectivas de comercialização a um custo compatível com a área ambiental, podendo ser considerados promissores para utilização no controle da poluição ambiental marinha.

E. Caracterização Toxicológica dos Diferentes Tipos de Biossurfactantes

Testes de toxicidade aguda são experimentos de curta duração que proporcionam rápidas respostas na estimativa dos efeitos tóxicos letais de produtos químicos sobre organismos aquáticos. Seu principal objetivo é determinar as Concentrações Letais Médias (CL₅₀) em tempo reduzido de exposição, que geralmente varia entre 24 a 96 horas.

Dessa forma, inicialmente, os biossurfactantes formulados foram submetidos a testes preliminares com o microcrustáceo *Artemia salina* como bioindicador inicial da toxicidade das biomoléculas. Os resultados obtidos demonstraram, para todos os biossurfactantes, índices de sobrevivência maiores que 80%, indicando a inocuidade desses agentes no ambiente marinho.

Dando continuidade, novos testes foram realizados com peixes e bivalves, com a finalidade de obter resultados mais confiáveis do ponto de vista científico, através da utilização de organismos representativos e do cálculo do CL₅₀.

A CL₅₀ é definida e padronizada como a concentração do agente tóxico que causa 50% de mortalidade na população de organismos submetidos ao teste. Os testes desta natureza disponibilizam informações básicas para outros estudos mais criteriosos como os testes de toxicidade crônica e avaliação de risco ecotoxicológico. Testes de toxicidade crônica são experimentos de longa duração, que visam ao estudo dos efeitos não letais nos organismos aquáticos, a partir da sua exposição prolongada a concentrações sub-letais. Estes efeitos são geralmente avaliados através de análises específicas (histológicas, hematológicas, comportamentais, etc.), utilizadas para a detecção de alterações crônicas, tais como: distúrbios fisiológicos, deformidades em tecidos somáticos e/ou gaméticos, alterações no crescimento e reprodução do organismo, dentre outras.

A tabela III apresenta os testes de análise toxicológica dos biossurfactantes formulados para a sobrevivência do bivalve *Anomalocardia brasiliana*. Os resultados obtidos, mais uma vez, demonstraram a inocuidade dos biossurfactantes, os quais são inócuos a partir da diluição de 0,05. Apenas o biossurfactante de *Bacillus* sp. apresentou limitações no que se refere a aplicação direta na água do mar, já que só apresenta segurança a partir de uma diluição de 0,025.

Testes também foram realizados para determinação da sobrevivência e da concentração letal média (CL₅₀) do peixe *Poecilia vivipara* submetido a diferentes diluições dos biossurfactantes formulados por um período de 96 horas sob experimento estático (sem troca de solução) (Tabelas IV e V).

Tabela III. Valores de sobrevivência do bivalve *Anomalocardia brasiliana* submetido a diferentes diluições dos biossurfactantes formulados testados

Diluição	Sobrevivência do bivalve <i>Anomalocardia brasiliana</i> frente às soluções dos biossurfactantes (%)			
	<i>C. lipolytica</i> 1	<i>C. sphaerica</i> 1	<i>P. cepacia</i>	<i>C. lipolytica</i> 2
0,1	76,2%	22,2%	86,7%	100,0%
0,05	76,2%	55,6%	93,3%	100,0%
0,025	95,2%	57,1%	100,0%	100,0%
0,0125	95,8%	100,0%	100,0%	100,0%
0,00625	100,0%	94,4%	100,0%	100,0%

Diluição	<i>Bacillus</i> sp.	<i>C. tropicallis</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. sphaerica</i> 2
	0,1	6,7%	26,7%	53,33%
0,05	13,3%	20,0%	73,33%	40,0%
0,025	53,3%	80,0%	100,0%	73,33%
0,0125	53,3%	100,0%	100,0%	80,0%
0,00625	66,7%	93,3%	100,0%	100,0%

Tabela IV. Valores de sobrevivência do peixe *Poecilia vivipara* submetido a diferentes diluições dos biossurfactantes formulados testados.

Diluição	Sobrevivência do peixe <i>Poecilia vivipara</i> frente às soluções dos biossurfactantes (%)		
	<i>C. lipolytica</i> 1	<i>C. sphaerica</i> 1	<i>P. cepacia</i> 1
0,1	66,67%	90,00%	76,67%
0,05	86,67%	60,00%	63,33%
0,025	80,00%	00,00%	93,33%
0,0125	46,67%	00,00%	90,00%
0,00625	70,00%	37,50	80,83%

Diluição	<i>C. lipolytica</i> 2	<i>P. cepacia</i> 2
	0,1	53,33%
0,05	40,00%	100,00%
0,025	93,33%	100,00%
0,0125	23,33%	100,00%
0,00625	52,50%	98,75%

Tabela V. Valores de sobrevivência do peixe *Poecilia vivipara* submetido a diferentes diluições dos biossurfactantes formulados testados.

Diluição	Sobrevivência do peixe <i>Poecilia vivipara</i> frente às soluções dos biossurfactantes (%)		
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. bombicola</i>	<i>Bacillus</i> sp.
0,1	90,00%	88,00%	100,00%
0,05	00,00%	67,00%	93,33%
0,025	00,00%	00,00%	63,33%
0,0125	00,00%	00,00%	0,00%
0,00625	22,50	47,50	64,17%

Diluição	<i>C. tropicallis</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. Sphaerica</i> 2
	0,1	73,33%	78,00%
0,05	53,33%	65,33%	63,00%
0,025	66,67%	70,67%	00,00%
0,0125	6,67%	8,87%	15,00%
0,00625	50,00%	60,00%	40,50

Os biossurfactantes testados foram classificados em 3 categorias: alta sobrevivência, com valores acima de 75%,

média sobrevivência, com valores entre 50 e 75% e baixa sobrevivência, com valores abaixo de 50%. Os níveis de sobrevivência média dos exemplares variaram entre 80,83% (biossurfactante *P. cepacia* 1) e 37,50% (biossurfactante *C. sphaerica* 1).

Para finalizar as avaliações toxicológicas, um teste simples, realizado com a cebola (*Allium cepa* L.) e reconhecido mundialmente como indicador de toxicidade ambiental, foi realizado. A tabela VI ilustra os resultados obtidos para os testes de fitotoxicidade frente aos biossurfactantes formulados utilizando como controles a perda de peso (0,355g) e o crescimento da maior raiz (5 cm). Os biossurfactantes formulados foram usados na proporção de 1:2, 1:8 e 1:20 (vol/vol) de biossurfactante:água considerando que essas razões são comercialmente utilizadas para dispersantes químicos (biossurfactante: óleo) usados em derramamentos de petroderivados [18].

Os resultados também indicaram que os biossurfactantes formulados não apresentaram efeitos tóxicos significantes ao vegetal, sendo considerados atóxicos do ponto de vista ambiental.

Tabela VI. Toxicidade dos biossurfactantes formulados frente ao ganho/perda de peso e crescimento da maior raiz das cebolas expostas a razões biossurfactante:água de 1:2, 1:8 e 1:20 (vol/vol).

Micro-organismos	Razão biossurf./ água (v/v)	Ganho /perda peso (%)	Cresc. maior raiz (%)	Toxicidade
<i>Pseudomonas cepacia</i> 1	1:2	<1	6	Atóxico
	1:8	<1	10	
	1:20	<1	20	
<i>Candida tropicalis</i>	1:2	<1	18	Atóxico
	1:8	0,03	26	
	1:20	<1	30	
<i>Candida lipolytica</i> 1	1:2	<1	18	Atóxico
	1:8	<1	22	
	1:20	0,21	18	
<i>Pseudomonas cepacia</i> 2	1:2	0,16	6	Atóxico
	1:8	0,87	18	
	1:20	<1	18	
<i>Candida guilliermondii</i>	1:2	0,16	16	Atóxico
	1:8	<1	20	
	1:20	<1	18	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1:2	<1	20	Atóxico
	1:8	<1	20	
	1:20	<1	20	
<i>Candida sphaerica</i> 1	1:2	<1	10	Atóxico
	1:8	0,04	14	
	1:20	-2,29	10	
<i>Bacillus</i> sp.	1:2	0,89	12	Atóxico
	1:8	<1	14	
	1:20	<1	18	
<i>Candida sphaerica</i> 2	1:2	<1	8	Atóxico
	1:8	<1	4	
	1:20	<1	6	
<i>Candida bombicola</i>	1:2	-5,27	5	Atóxico
	1:8	0,90	10	
	1:20	0,96	20	

F. Aplicação dos Biossurfactantes na Remoção de Poluentes Hidrofóbicos

Como um tipo de biossurfactante, um biodesemulsificante é altamente eficiente na quebra de emulsão de petróleo, assim como de outras emulsões industriais devido aos seus grupos funcionais únicos, que não podem ser quimicamente sintetizados. Comparados com os desemulsificantes químicos convencionais, os biodesemulsificantes apresentam menor toxicidade, compatibilidade ambiental e alta eficiência sob condições extremas [19]-[20].

Nesse sentido, os biossurfactantes foram testados como desemulsificantes de emulsões de óleo de motor em água destilada e água do mar, tendo em vista aplicações desses agentes na dispersão de emulsões produzidas em acidentes marítimos com derramamentos de petróleo e derivados.

A Tabela VII apresenta o desempenho desemulsificante dos biossurfactantes testados. Os valores das taxas de desemulsificação indicam o valor de desestabilização das emulsões, ou seja, o percentual de água recuperada. Dessa forma, observa-se que, independentemente do tipo de água utilizada, em todos os cinco tipos de biossurfactantes produzidos e em todas e as concentrações utilizadas, houve um aumento das taxas de desemulsificação do primeiro ao sétimo dia, demonstrando que os biossurfactantes apresentaram uma atividade desemulsificante contínua.

Tabela VII. Percentual de desemulsificação para emulsões de óleo de motor em água destilada e de óleo de motor em água do mar, utilizando os biossurfactantes brutos e semipurificados em diferentes concentrações.

Biossurf.	Conc.	Percentual de desemulsificação (%)			
		1 dia		7 dias	
		Água destil.	Água mar	Água destil.	Água mar
<i>Candida lipolytica</i> 1	½ CMC	27,59	28,70	37,93	37,39
	CMC	26,72	33,05	37,07	42,37
	2xCMC	28,07	32,48	35,65	42,86
	Bruto	29,20	30,09	29,73	35,78
<i>Candida guilliermondii</i>	½ CMC	27,59	29,82	40,17	40,68
	CMC	26,09	35,14	42,61	44,64
	2xCMC	28,07	31,90	42,11	41,03
	Bruto	31,53	31,53	31,82	44,95
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	½ CMC	19,05	22,00	21,15	29,13
	CMC	44,44	45,00	47,68	49,65
	2xCMC	61,19	63,33	62,00	65,71
	Bruto	31,90	39,82	44,07	50,00
<i>Bacillus</i> sp.	½ CMC	33,62	33,04	46,55	40,00
	CMC	45,77	49,01	47,48	54,36
	2xCMC	59,53	63,64	60,19	66,34
	Bruto	29,66	29,91	42,37	37,50
<i>Pseudomonas cepacia</i> 1	½ CMC	27,83	35,71	34,21	45,13
	CMC	31,93	29,73	43,48	37,50
	2xCMC	42,19	63,21	43,75	65,64
	Bruto	29,20	33,94	30,63	39,25

Na maioria dos testes realizados em água do mar, os percentuais foram superiores do que os observados em água destilada, permitindo recuperações acima de 30% da água salgada. Os melhores resultados foram observados para o biossurfactante produzido pela *Pseudomonas aeruginosa*, no primeiro e no sétimo dia para os experimentos realizados em água destilada. Os testes realizados em água do mar apresentaram resultados semelhantes no mesmo período dos experimentos, para o biossurfactante produzido por *Bacillus* sp., demonstrando percentuais de 63,64% e 66,34% para o primeiro e o sétimo dia, respectivamente. Dessa forma, pode-se observar que os biossurfactantes produzidos pela *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus* sp., além de apresentarem valores de desemulsificação muito próximos, demonstraram maior efetividade do que os demais para as atividades de desemulsificação.

G. Ajustes para a Instalação em uma Embarcação

O protótipo piloto de FAD foi confeccionado em acrílico, suportado por uma estrutura em aço carbono. A Figura 5, ilustra o modelo virtual do sistema, confeccionado em *SolidWorks*. No plano superior da referida figura observa-se um tanque utilizado para a dosagem de biossurfactante. A capacidade mínima desse tanque foi estimada utilizando-se os valores da vazão máxima de alimentação do protótipo.

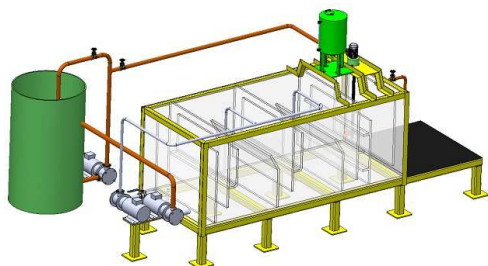


Figura 5. Modelo virtual do sistema de recirculação da água tratada e contaminação da mesma com derivados de petróleo para o protótipo de FAD.

Duas estratégias foram elaboradas para adaptações do uso do referido sistema de separação em uma embarcação. Primeiramente houve a substituição da metodologia convencional de produção de microbolhas, que utiliza um compressor e um tanque de saturação de parte da água tratada com ar comprimido. Com essa nova metodologia desenvolvida, as instalações de FAD ficam adaptadas para serem instaladas em locais que demandem menor espaço, motivada pelas retiradas do compressor e do tanque de saturação.

A nova técnica desenvolvida tem como base a indução de um fluxo de ar atmosférico na linha de aspiração da bomba centrífuga, responsável pela recirculação de parte da água tratada, para produção de microbolhas. A homogeneização dos fluxos de água e ar aumenta com auxílio do contato desses fluidos com as pás do rotor da bomba e do atrito gás-líquido com as paredes da tubulação da linha de descarga da referida bomba. Uma válvula estrategicamente instalada na linha de descarga da bomba controla a pressão e libera o fluxo de água com considerável teor de ar em forma de uma névoa, constituído essencialmente de microbolhas.

Uma bomba centrífuga ou uma associação, em série, de duas ou mais bombas desse tipo, deve ser instalada ficando o eixo central da bomba acima da superfície livre do líquido

na câmara de água tratada do flutuador. Com essa configuração obtém-se uma pressão manométrica negativa na entrada da bomba, permitindo a indução de um fluxo de ar na linha de aspiração da bomba. Também deve ter uma altura manométrica resultante, na linha de descarga da bomba, igual ou acima de 3,5 atm. A Figura 6 ilustra os componentes básicos da estratégia utilizada para produção de microbolhas.

Para proporcionar um efeito com característica de substituir o tanque de saturação de água tratada, a linha de descarga da bomba de produção de microbolhas deve ter diâmetro nominal acima de 0,05 m e ter comprimento mínimo de 1,5 m. Antes da extremidade da linha de recalque da bomba deve ser instalada uma válvula para controle da pressão entre 3,0 e 5,0 atm. Esse efeito é essencial para a saturação do líquido e produção das microbolhas para a câmara de flotação.

Uma segunda estratégia compreendeu a elaboração de um sistema de coleta de água contaminadas por uma embarcação, que permitisse a separação preliminar do óleo livre e o envio simultâneo do óleo residual para tratamento. Dessa forma, o referido sistema foi cuidadosamente planejado, uma vez que tiveram que ser realizados acertos preliminares com o responsável por um barco pesqueiro (modelo adequado para a tarefa), muito importante para a dinâmica dos experimentos, devido a: (i) adaptação do mecanismo de coleta de água às condições físicas existentes na embarcação (Figura 7); (ii) estabelecimento de um bom entrosamento entre a equipe de execução da tarefa (do projeto) com o responsável pela embarcação, ou seja, compreensão dos objetivos do trabalho por um membro externo à equipe do projeto e; (iii) existência de disponibilidades simultâneas da equipe de trabalho e da embarcação.

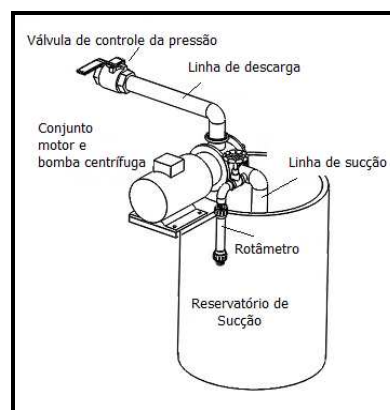


Figura 6. Arranjo experimental produtor de microbolhas com patente requerida ao INPI.

Foram realizados ajustes do coletor de águas contaminadas para instalação do mesmo na embarcação pesqueira contratada para a realização desse tipo de teste experimental. Isto em virtude do ajuste do coletor ao barco ter sido considerado um dos itens mais importantes da tarefa.

Como o sistema de coleta deverá substituir parte do casco da embarcação definitiva (armazenagem do óleo coletado), foram necessários ajustes desse arranjo adicionado à embarcação. Tais ajustes constaram em nivelar a entrada de águas contaminadas no tanque de coleta, com a embarcação navegando. Dessa forma verificou-se a necessidade de um cuidado especial para que o sistema de coleta, fixado na parte

frontal da embarcação (arco de proa), não colidisse com o cais, provocando um possível encalhe durante as operações de ancoragem e partida. A Figura 8 ilustra o coletor afixado à embarcação após os ajustes necessários.

Uma descrição resumida do que se esperava desses experimentos de coleta de água contaminadas pode ser realizada como segue. Com a embarcação em movimento, um tanque de coleta de água contaminadas, com capacidade de armazenamento de 100 litros e disposto horizontalmente, foi afixado à coroa de proa. Uma abertura horizontal no tanque, nivelada à superfície do oceano, com auxílio de boias de isopor, mantinha uma possível entrada constante de águas contaminadas no tanque. Essas águas eram retidas no interior do tanque por uma portinhola do tipo abre e fecha, a qual não permitia a saída da água oleosa coletada. No interior do tanque, mais especificamente na parte inferior, uma bomba de porão (submersa na água oleosa) recalrava a fase aquosa para a parte superior da embarcação, enquanto que o óleo era retido no tanque, o qual simulava o tanque de armazenagem de óleo recuperado na embarcação final. Na parte superior da embarcação, as águas contaminadas com o óleo residual receberiam tratamento de separação com auxílio da adição de biossurfactante, complementada por meio de flotação por ar dissolvido de uma unidade de FAD instalada na embarcação.

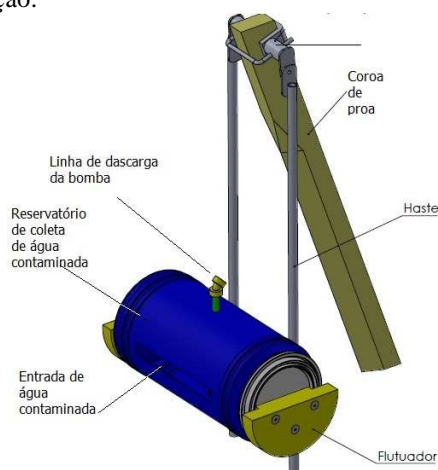


Figura 7. Esquema com componentes básicos do coletor de águas marinhas contaminadas.

Após os devidos ajustes foram realizados testes de coleta de águas contaminadas por derivados de petróleo (STP Série 500, API SJ - SAE 20W-50) em mar aberto. O sistema teve sua eficiência aprovada, uma vez que a mistura composta de óleo lubrificante e água, comportou-se como se esperava. A maior parte do óleo ficou no tanque de coleta, enquanto que a água aspirada pela bomba, instalada dentro do referido tanque, continha apenas traços do derivado de petróleo. Dessa forma, o sistema de FAD na embarcação teria apenas a incumbência de separar a água do mar do óleo residual. A Figura 9 ilustra um momento do teste de coleta de águas contaminadas na embarcação em mar aberto. Pode-se observar na referida figura uma mangueira azul que conduz a água a ser tratada, recalçada pela bomba, deixando o óleo coletado num tanque (Figura 10), o qual simula a entrada de um protótipo de FAD. O óleo lubrificante responsável pela contaminação local das águas marinhas era adicionado no exato

momento em que a embarcação realizava a coleta, para evitar danos ao meio ambiente marinho com uma contaminação produzida para a realização desses experimentos.



Figura 8. Arranjo para coleta de água contaminadas por óleo após ajustes preliminares na embarcação.



Figura 9. Fotografia da vista parcial do tanque de coleta de águas contaminadas a partir da proa da embarcação em operação em mar aberto.

Uma inspeção visual após a os experimentos de coleta de água contaminadas revelou, como mostra a Figura 10, um finíssimo filme composto pelo óleo que contaminava as águas marinhas coletadas pela embarcação. Observou-se uma fina camada de óleo na superfície livre do tanque que simulava a entrada da câmara de flotação do protótipo FAD. O teor de óleo residual contido na água coletada foi cerca de 24 ppm, valor que serviu de base para produção de afluente sintéticos para testes do protótipo de FAD.



Figura 10. Fotografia registrando a finíssima camada de óleo lubrificante formada na superfície livre da água no tanque de coleta na proa da embarcação

H. Realização de Testes de Comparação

Para a realização de testes comparativos entre as performances do sistema de separação, sem a com a adição de biossurfactantes, foram aplicados planejamentos experimentais do tipo DCCR. Inicialmente, foram utilizados os seguintes fatores: razão entre as vazões de ar e de água para produção de microbolhas (X_1), e a razão entre as vazões de efluente a ser tratado e de água tratada para produção de microbolhas (X_2). Um total de 12 experimentos foi necessário e a Tabela VIII apresenta os resultados obtidos, sendo a variável dependente Y a eficiência percentual de separação água-derivado de petróleo.

Tabela VIII. Matriz de planejamento e variável resposta obtidas pela aplicação do DCCR aos dados experimentais.

Corrida	$X_1 \cdot 10^3$	X_2	Y (%)
1	0,50(-1)	0,7(-1)	23
2	0,50(-1)	1,4(+1)	70
3	1,50(+1)	0,7(-1)	26
4	1,50(+1)	1,4(+1)	59
5	0,30(-1,41)	1,05(0,0)	44
6	1,71(+1,41)	1,05(0,0)	25
7	1,00(0,0)	0,56(-1,41)	15
8	1,00(0,0)	1,54(+1,41)	62
9	1,00(0,0)	1,05(0,0)	75
10	1,00(0,0)	1,05(0,0)	77
11	1,00(0,0)	1,05(0,0)	78
12	1,00(0,0)	1,05(0,0)	74

Um segundo DCCR foi aplicado com auxílio dos seguintes fatores: razão entre as vazões de água e de ar para produção de microbolhas (X_1) e a razão entre a concentração de biossurfactante e a vazão de efluente a ser tratado (X_2). Novamente um total de 12 experimentos foi necessário e a Tabela IX apresenta as variáveis independentes envolvidas. Em ambos os DCCR's, sem e com o uso de biossurfactantes, as variáveis independentes ou fatores envolvendo a razão entre as vazões, visam o uso de variáveis adimensionais que poderão facilitar futuras correlações de *scale-up*. O teor de óleo no afluente dos testes realizados com o uso de biossurfactantes foi, de acordo com os resultados da água contaminada coletada pela embarcação, de cerca de 24 ppm. Uma rápida análise desses valores demonstrou um aumento no valor máximo da eficiência de separação de 74 % para 98 %.

Os dados da Tabela IX foram analisados e reproduziram o comportamento da eficiência de separação da água do mar de petróleo e derivados, em função das condições operacionais do protótipo de FAD, operando com auxílio da adição de biossurfactantes. Observa-se na Figura 11 a ocorrência de condições operacionais otimizadas, em função de um ponto de máximo bem definido.

Tabela IX. Matriz de planejamento e variável resposta obtidas pela aplicação do DCCR aos dados experimentais.

Corrida	$X_1 \cdot 10^3$	X_2	Y (%)
1	0,50(-1)	0,7(-1)	44,00
2	0,50(-1)	1,4(+1)	88,00
3	1,50(+1)	0,7(-1)	45,00
4	1,50(+1)	1,4(+1)	80,00
5	0,30(1,41)	1,05(0,0)	62,00
6	1,71(+1,41)	1,05(0,0)	45,00
7	1,00(0,0)	0,56(-1,41)	33,00
8	1,00(0,0)	1,54(+1,41)	82,00
9	1,00(0,0)	1,05(0,0)	96,00
10	1,00(0,0)	1,05(0,0)	98,00
11	1,00(0,0)	1,05(0,0)	98,00
12	1,00(0,0)	1,05(0,0)	97,00

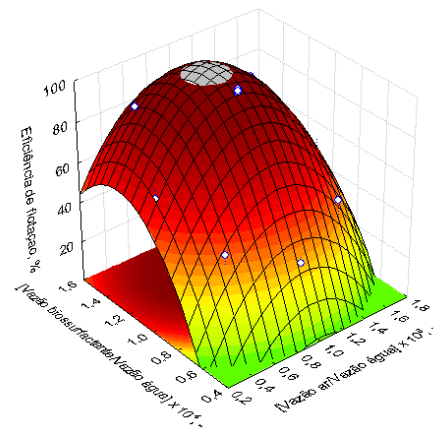


Figura 11. Superfície de resposta 3D da eficiência de separação no protótipo de flotação com o uso de biossurfactante.

IV. CONCLUSÕES

Onze diferentes biossurfactantes foram produzidos em biorreator piloto empregando métodos eficientes de planejamento experimental e de análises de superfícies de respostas (trabalhos publicados) para validar cientificamente essas condições de produção. Os biossurfactantes produzidos foram formulados com adição de um conservante químico e testados quanto à eficiência tensoativa, tendo-se obtido resultados satisfatórios. Alguns dos biossurfactantes desenvolvidos apresentaram características desejadas como desemulsificantes de emulsões formadas entre água do mar e petróleo, ou derivados desse último. Concluiu-se dos testes de toxicidade dos biossurfactantes frente a bivalves e peixes que os mesmos, além de serem inócuos à fauna marinha, podem ser utilizados como agentes de remediação, estimulando o crescimento microbiano e consequentemente a degradação dos compostos hidrofóbicos poluentes, uma vez que reduzem a tensão superficial água-composto oleoso, permitindo a formação de pequenas gotas e facilitando o acesso das células ao óleo.

A etapa de separação física também foi validada cientificamente, com o dimensionamento de seus componentes dentro de critérios de otimização e suas eficiências testadas e

comparadas com auxílio de métodos computacionais de última geração, culminando com publicações em anais de eventos e em periódicos. Portanto, numa etapa inicial atingiu-se os objetivos básicos do projeto. Em paralelo, foi desenvolvida a técnica de produção de microbolhas sem o concurso de um compressor e de um tanque de saturador de água tratada. A referida técnica serviu de ferramenta essencial ao desempenho de um protótipo de FAD, responsável pela separação eficiente da mistura formada entre água do mar e de óleo lubrificante (derivado de petróleo adotado nos testes experimentais).

Outro resultado importante, mas que não foi publicado neste trabalho, foi o desenvolvimento de correlações de scale-up, a partir dos resultados experimentais, para que se possa dar prosseguimento a este projeto em escala comercial. Com a presença de biossurfactantes, identificou-se grandezas fluidodinâmicas predominantes no escoamento do protótipo de FAD, permitindo que se gerasse correlações para se promover um aumento de escala.

Como sugestão à continuidade deste projeto, apresenta-se na figura a seguir (Figura 12), um esboço do que se acostumou a denominar de *Termoboat*, ou seja, uma embarcação elaborada, construída e liberada pela Termopernambuco, para patrulhamento e descontaminação *in situ* de águas oceânicas, atingidas por possível derramamento de petróleo e derivados, nas proximidades de suas instalações.

Contudo, semelhante metodologia de tratamento de águas oceânicas contaminadas poderá ser adaptada pela TERMOPE, para ser implantada em condições de operação *onshore*, aumentando permitindo uma considerável ampliação de sua capacidade de operação

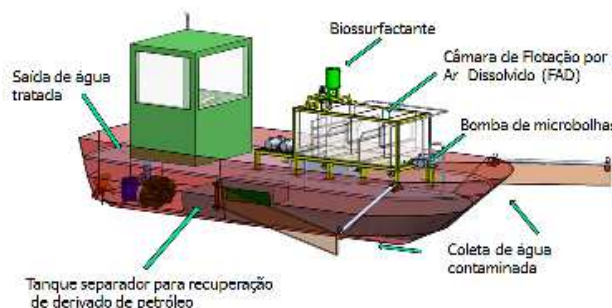


Figura 12. Esquema contendo componentes básicos de uma embarcação "Termoboat" a ser utilizada em descontaminação *in situ* de águas marinhas

V. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte técnico do Centro de gestão de Tecnologia e Inovação (CGTI).

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] R. D. Rufino, J. M. Luna, P. H. C. Marinho, C. B. B. Farias, S. R. M. Ferreira and L. A. Sarubbo, "Removal of petroleum derivative adsorbed to soil by biosurfactant Rufisan produced by *Candida lipolytica*", *J. Petrol. Sci. Eng.*, vol. 109, pp. 117–122, 2013.
- [2] H. B. S. Sobrinho, R. D. Rufino, J. M. Luna, A. A. Salgueiro, G. M. Campos-Takaki, L. F. C. Leite and L. A. Sarubbo, "Utilization of two agroindustrial by-products for the production of a surfactant by *Candida sphaerica* UCP0995", *Process Biochem.*, vol. 43, pp. 912–917, 2008.
- [3] S. G. V. A. O. Costa, M. Nitschke, R. Haddad, M. N. Eberlin and J. Contiero, "Production of *Pseudomonas aeruginosa* LBI rhamnolipids following growth on Brazilian native oils", *Process Biochem.*, vol. 21, pp. 1593–1600, 2005.
- [4] R. L. Silva, C. B. B. Farias, R. D. Rufino, J. M. Luna, and L. A. Sarubbo, "Glycerol as substrate for the production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* UCP0992", *Colloids Surf. B, Biointerf.*, vol. 79, pp. 174–183, 2010.
- [5] L. Breseghelo, "Efeitos do fluoreto de sódio no epitélio da brânquia do peixe Guaru (*Poecilia vivipara*)", *Brazilian J. Vet. Res. Animal Sci.*, vol. 41, pp. 274–280, 2004.
- [6] D. K. F. Santos, R. D. Rufino, J. M. Luna, V. A. Santos, A. A. Salgueiro and L. A. Sarubbo, "Synthesis and evaluation of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using animal fat and corn steep liquor", *J. Pet. Sci. Eng.*, vol. 12, pp. 1–32, 2013.
- [7] J. C. Benassi, "O uso de bioindicadores e biomarcadores na avaliação do processo de remediação de efluente de lixiviação de carvão mineral utilizando microesferas de quitosana", Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- [8] H. Saeki, Km. Sasaki, O. Komatsu, A. Miura and H. Matsuda, "Oil spill remediation by using the remediation agent JE1058BS that contains a biosurfactant produced by *Gordonia* sp. strain JE-1058", *Biores. Technol.*, vol. 100, pp. 572–577, 2009.
- [9] D. G. Cooper and B. G. Goldenberg, "Surface active agents from two *Bacillus* species", *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 53, pp. 224–229, 1987.
- [10] X. Huang, J. Liu, L. Lu, Y. Wen, J. Xu, D. Yang and Q. Zhou, "Evaluation of screening methods for demulsifying bacteria and characterization of lipopeptide bio-demulsifier produced by *Alcaligenes* sp.", *Biores. Technol.*, vol. 100, pp. 1358–1365, 2009.
- [11] J. Liu, X.-F. Huang, L.-J. Lu, M.-X. Li, J.-C. Xu and H.-P. Deng, "Turbscan Lab® Expert analysis of the biological demulsification of a water-in-oil emulsion by two biodemulsifiers", *J. Haz. Mat.*, vol. 190, pp. 214–221, 2011.
- [12] R. A. Corbitt, "Standard Handbook of Environmental Engineering, 2nd Edition, New York: MacGraw Hill, 1999.
- [13] R. C. F. S. Silva, D.G. Almeida, J. M. Luna, R. D. Rufino, V. A. Santos and L. A. Sarubbo, "Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills", *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 15, pp. 12523–12542, 2014.
- [14] I. M. Banat, "Microbial biosurfactants production, applications", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 87, pp. 427–444, 2010.
- [15] R. Marchant, I. M. Banat, "Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants?", *Biotechnol. Lett.*, vol. 34, pp. 1597–1605, 2012.
- [16] C. Hazra, D. Kundu and A. Chaudhari, "Biosurfactant-Assisted bioaugmentation in bioremediation", in *Microorganisms in Environmental Management: Microbes and Environment*, 1st ed., T. Satyanarayana, B. N. Johri and A. Prakash, Ed. New York: Springer, 2012, pp. 631–664.
- [17] T. Mcmillan. (2014, Setembro). Nalco Holding set to report first earnings impacted by oil spill. 2010. [online]. Disponível: <http://medillmoneymavens.com/2010/07/26/nalco-holding-set-to-report-first-earnings-impacted-by-oil-spill/>
- [18] L. Holakoo, "On the Capability of Rhamnolipids for Oil Spill Control of Surface Water", Dissertação de Mestrado, Concordia University, Montreal, Canada, 2001.
- [19] X. F. Huang, M. X. Li, L. J. Lu, S. Yang and J. Liu, "Relationship of cell-wall bound fatty acids and the demulsification efficiency of demulsifying bacteria *Alcaligenes* sp. S-XJ-1 cultured with vegetable oils", *Biores. Technol.*, vol. 104, pp. 530–536, 2012.
- [20] J. Liu, L. J. Lu, X. F. Huang, J. J. Shang, M. X. Li, J. C. Xu and H. P. Deng, "Relationship between surface physicochemical properties and its demulsifying ability of an alkaliphilic strain of *Alcaligenes* sp. S-XJ-1", *Process Biochem.*, vol. 46, pp. 1456–1461, 2010.