

SELEÇÃO E APLICAÇÃO DE UM BIOSSURFACTANTE NA DESESTABILIZAÇÃO DE EMULSÕES ÓLEO-ÁGUA VIA FLOTAÇÃO POR AR DISSOLVIDO

F. C. P. ROCHA E SILVA¹, N. M. P. ROCHA E SILVA², A. E. MOURA³, R. G. ALMEIDA⁴, J. M. LUNA⁴, V. A. SANTOS⁴, L. A. SARUBBO⁴

¹Departamento de Biotecnologia Industrial (Renorbio), Universidade Federal Rural de Pernambuco

²Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco

³Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco

⁴Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Católica de Pernambuco

E-mail para contato: padilha.nanda@gmail.com

RESUMO -A separação gravitacional de emulsões formada entre água do mar e derivados de petróleo é de grande interesse para solucionar casos de derramamentos. Nesse sentido, os processos físico-químicos dentre eles a flotação por ar dissolvido (FAD), são bastante eficazes na separação óleo/água. Os surfactantes têm se mostrado como uma alternativa eficaz na separação de líquidos imiscíveis, assim, quatrobiossurfactantes foram obtidos através de diferentes microrganismos visando promover a desestabilização de emulsões com óleo motor em água do mar e água destilada. A taxa de desestabilização foi determinada, sendo o melhor resultado obtido para o biossurfactante de *Candidasphaericacultivada* em meio de baixo custo. A utilização dessa biomolécula elevou a eficiência de separação do protótipo de FAD de 80,0% para 98,0%. Assim, pode-se concluir que o uso de biossurfactantes representa uma alternativa promissora na remediação de ambientes contaminados com derivados de petróleo.

1. INTRODUÇÃO

Desastres por derramamento de óleos são cada vez mais frequentes, sendo necessário apresentar soluções para minimizar os impactos causados no meio ambiente (Silva et al., 2009). Particularmente, a poluição causada pelo petróleo é bastante tóxica para os animais marinhos e para as aves migratórias, além de prejudicar a população que vive no litoral das áreas atingidas (Gonziniet al., 2010).

Surfactantes constituem uma classe de compostos químicos importantes e que são muito utilizados em diversos setores industriais, destacando-se pela utilização para remoção de poluentes oleosos (Santos et al., 2013). Entretanto, a preocupação ambiental com o uso de produtos com padrões ecologicamente corretos vem aumentando, dessa maneira, é necessária a procura por surfactantes de origem natural, sendo estes denominados de biossurfactantes (Rufino et al., 2014).

Os surfactantes tendem a se dispersar nas interfaces entre as fases fluídas com diferentes graus de polaridade óleo/água e água/óleo (Nitschke e Pastore, 2002).

Os biossurfactantes são compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes, isto é, diminuem a tensão superficial e aumentam a capacidade de emulsificação/desemulsificação (Lunaet al., 2013). Esses bioprodutos são considerados sustentáveis devido ao alto grau de degradabilidade e baixa toxicidade (Rocha e Silvaet al., 2013).

Em paralelo ao desenvolvimento biotecnológico através dos surfactantes microbianos, o processo de separação por flotação está sendo proposto e utilizado como uma técnica limpa e eficaz para remoção de óleos e graxas, sendo necessário apenas o uso de ar para produção de microbolhas, promovendo a separação óleo/água. O biossurfactante poderá auxiliar a remoção do óleo, deixando a água livre de poluição (Mulliganet al., 2001).

Este trabalho tem como objetivo analisar o comportamento de um biossurfactante na desestabilização de emulsões óleo-água via flotação por ar dissolvido.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Micro-organismo

Diferentes micro-organismos foram utilizados para a produção dos biossurfactantes, sendo eles: a bactéria *Pseudomonascepacia* (CCT 6659) e as leveduras *Candidalipolytica* (UCP 0988) e *Candidasphaerica* (UCP 0995). Todos os micro-organismos estão depositados no Banco de Culturas do Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pernambuco.

2.2. Meio de Cultivo e Condições de Produção do Biossurfactante

Biossurfactante de *Pseudomonascepacia*: meio mineral descrito por Dubey e Juwarkar (2001), acrescido de 2% óleo de fritura (residual) e 2% de milhocina, durante 144 horas de cultivo, sob agitação de 250 rpm e um inóculo de 10^7 U.F.C./mL.

Biossurfactante de *Candidalipolytica* 1: meio mineral suplementado com 6% de borra de óleo de soja e 1% ácido glutâmico, durante 72 horas de cultivo, sob agitação de 200 rpm e um inóculo de 10^8 U.F.C./mL.

Biossurfactante de *Candidalipolytica* 2: meio mineral contendo gordura animal 5% e milhocina 2,5%, durante 144 horas de cultivo, sob agitação de 200 rpm e um inóculo de 10^4 U.F.C./mL.

Biossurfactante de *Candidasphaerica*: água destilada acrescida de 9% de borra de óleo de soja e 9% de milhocina, durante 144 horas de cultivo, sob agitação de 200 rpm e um inóculo de 10^4 U.F.C./mL.

Todas as fermentações foram realizadas em frascos de Erlenmeyer e submetidas à agitação em shaker orbital.

2.3. Determinação da Tensão Superficial

A tensão superficial foi medida a partir do líquido metabólico livre de células em tensiômetro KSV Sigma 70 (Finland) utilizando-se o anel de NUOY.

2.4. Preparação de Emulsões com Óleo Motor

Para o teste de desemulsificação, 2mL do líquido metabólico livre de células contendo cada biossurfactante foi adicionado a tubos graduados contendo 18mL da emulsão de óleo de motor com água destilada e água do mar na proporção de 1:1 (v/v). O branco contendo 2mL do meio de produção estéril foi usado, bem como um tubo contendo apenas a emulsão óleo de motor/água. Os tubos foram, então, deixados em repouso à temperatura ambiente. A alteração do volume da fase aquosa foi registrada após 24 horas. O desempenho da desemulsificação também foi avaliado, calculando-se a taxa de desemulsificação.

2.5. Descrição Sucinta do Protótipo Piloto de FAD

O protótipo de FAD (Figura 1), em escala piloto, foi confeccionado em acrílico a fim de permitir a visualização de boa parte dos fenômenos fluidodinâmicos.

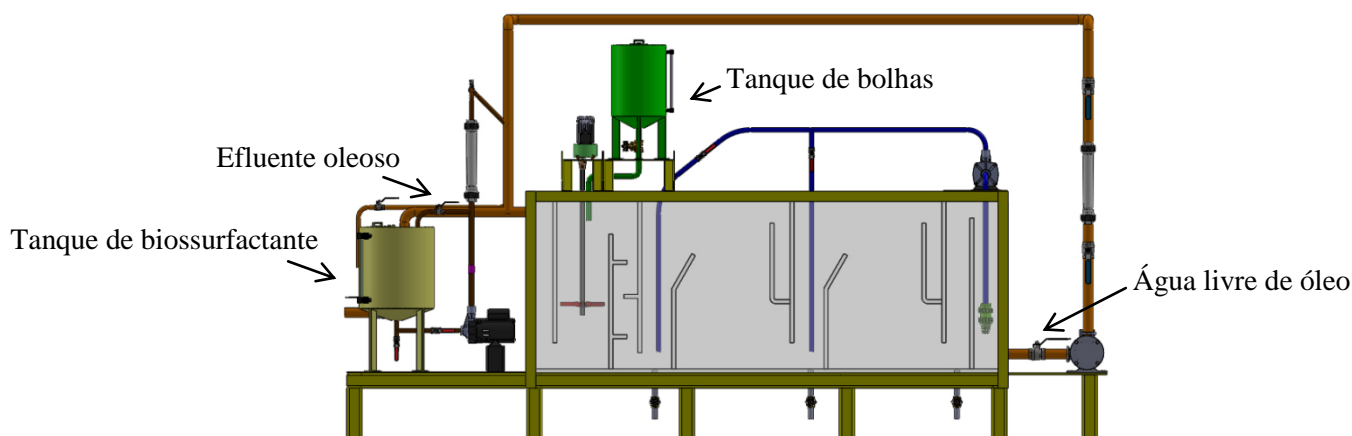


Figura 1 – Esquema tridimensional do sistema FAD em escala piloto

Duas câmaras, dispostas em série, sequenciam as antecâmaras e processam o afluente. Em ambas as câmaras as gotículas de óleo que formam uma emulsão com a água entram em contato com microbolhas de ar, formando partículas dispersas com densidade média menor que a da água e são flotadas, e desta maneira a espuma oleosa formada pode ser retirada, deixando a água livre de óleo ao final do processo.

2.6. Planejamentos experimentais

Inicialmente, foi aplicado um DCCR (Delineamento Composto Central Rotacional) do tipo 2² para definir as condições operacionais do protótipo FAD. As variáveis independentes foram codificadas em 5 níveis (-2, -1, 0, +1, +2) proporcionando a execução de 12 experimentos. Os valores de variáveis independentes utilizadas para construir um gráfico de superfície de resposta (RSM) estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores experimentais e níveis das variáveis independentes para eficiência de separação do sistema piloto FAD com adição de biossurfactante

Fatores	-1,41	-1,00	0,00	+1,00	+1,41
Razão entre vazões de água e ar de microbolhas $\cdot 10^3$, (X'_1)	0,30	0,50	1,00	1,5	1,71
Razão entre vazões de biossurfactante e de água na alimentação $\cdot 10^4$, (X'_2)	0,56	0,70	1,05	1,40	1,54

2.7. Efluente Sintético Oleoso e Dosagem de Biossurfactante

O efluente sintético utilizado nos experimentos foi produzido combinando-se as vazões de alimentação de água e de óleo no protótipo piloto. A quantidade de óleo adicionada foi constante na concentração de 50 ppm. A dosagem de biossurfactante foi proporcional à quantidade de óleo, sendo adicionado 20 ppm do líquido metabólico livre de células.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Determinação das tensões superficiais

A tensão superficial é utilizada como critério primário para identificar microrganismos produtores de biossurfactantes (Youssef *et al.*, 2004). Neste sentido, foram produzidos quatro biossurfactantes, a fim de analisar a redução da tensão superficial do meio de cultivo (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores de tensão superficial obtidos ao término da fermentação para os diferentes micro-organismos testados

Microrganismo produtor de biossurfactante	Tensão Superficial (mN/m)
<i>Candidalipolytica</i> (1)	25,0
<i>Candidalipolytica</i> (2)	27,75
<i>Candidasphaerica</i>	25,0
<i>Pseudomonascepacia</i>	27,57

De acordo com a literatura, a maioria dos biossurfactantes produzidos por bactérias tem demonstrado capacidade de reduzir a tensão superficial da água de 72 mN/m para valores que variam em torno de 32-27 mN/m (Silva *et al.*, 2010). Resultados semelhantes e igualmente satisfatórios foram obtidos pelas espécies de leveduras *C. sphaericae* *C. lipolytica* (Luna *et al.*, 2013; Rufino *et al.*, 2011).

Esta capacidade de reduzir a tensão superficial é uma das propriedades mais importante dos surfactantes em geral, tendo em vista que esta característica permite que haja interação nas interfaces líquido-ar e líquido-líquido, facilitando o processo de desemulsificação.

3.2. Testes de Desemulsificação

Os experimentos de desemulsificação foram conduzidos de acordo com Liuet *al.* (2009). Sendo estes realizados para os quatro biossurfactantes, onde os resultados estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 – Taxa de desemulsificação (%) para as emulsões com óleo motor após 24 horas

Microrganismo produtor de biossurfactante	Tipo de emulsão	
	Água destilada (%)	Água do mar (%)
<i>Candidalipolytica</i> (1)	37,0	21,9
<i>Candidalipolytica</i> (2)	27,3	26,9
<i>Candidasphaerica</i>	38,8	40,6
<i>Pseudomonascepacia</i>	0	0

Na literatura, é comum encontrar estudos sobre o efeito da variação de pH nas emulsões estudadas, visando promover o aumento da eficiência de desemulsificação (Longet *al.*, 2013; Coutinho *et al.*, 2013). Para a faixa de pH analisada, entre 6,0 e 6,8, os resultados obtidos estão coerentes com os apresentados na literatura, tendo em vista que os biossurfactantes obtidos por *Candida* apresentaram resultados superiores a 20% de taxa de desemulsificação para os ensaios com água destilada e água do mar.

Neste caso, também é possível observar que o biossurfactante de *Pseudomonas* não apresentou características desemulsificantes, sendo descartado o seu uso no protótipo piloto FAD.

Os diferentes resultados obtidos em relação à utilização de água destilada e água do mar podem ser atribuídos, principalmente, às forças iônicas presentes. Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, os surfactantes tendem a se distribuir nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade, o que torna o comportamento de cada biossurfactante único.

3.3. Eficiência de Separação Água-Óleo com a Adição de Biossurfactante

A análise de variância dos dados experimentais gerados pelo protótipo piloto de FAD operando com a adição de biossurfactante deu origem à Tabela 4. Todos os termos lineares e quadráticos apresentaram-se significância estatística dentro do intervalo de confiança de 95%. Assim, é recomendada a adoção do modelo de previsão proposto pela Equação 1.

$$Y_1 = -202,0 + 163,2 \cdot X_1 - 78,8 \cdot X_1^2 + 369,0 \cdot X_2 - 144,3 \cdot X_2^2 - 12,8 \cdot X_1 \cdot X_2 \quad (1)$$

Dessa maneira, o gráfico de superfície de resposta (Figura 2) foi obtido, onde nele está representado a eficiência de separação do processo de flotação da ordem de 98%.

Tabela 4 –Análise de variância (ANOVA) para o rendimento de separação do sistema piloto FAD com adição de biossurfactante

Fonte de variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	F	P
X ₁ (L)	120,448	1	120,448	131,398	0,001425
X ₁ (Q)	2480,625	1	2480,625	2706,136	0,000016
X ₂ (L)	2748,980	1	2748,980	2998,887	0,000013
X ₂ (Q)	2002,225	1	2002,225	2184,245	0,000022
X ₁ x X ₂	20,250	1	20,250	22,091	0,018220
Falta de Ajuste	201,197	3	67,066	73,163	0,002647
Erro Experimental	2,750	3	0,917		
Total SS	6834,667	11			

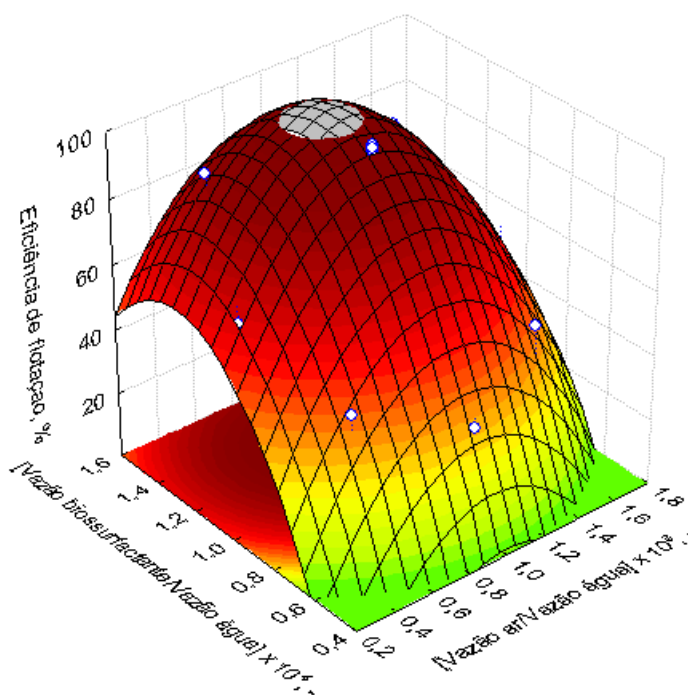


Figura 2 – Gráfico de superfície de resposta do efeito combinado de fatores observados quanto a eficiência de separação do sistema piloto FAD com adição de biossurfactante

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que o processo de flotação por ar dissolvido (FAD) com a adição de biosurfactante é bastante efetivo para o tratamento de águas oleosas, principalmente se houver contaminação por óleo motor, como no caso de Usinas Termelétricas.

Analogamente, a adoção de um surfactante de origem microbiana se mostra em vantagem frente aos surfactantes sintéticos, tendo em vista o seu caráter atóxico, estável, sustentável e de baixo custo, tendo em vista que utilizam-se resíduos industriais no processo fermentativo.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Centro de Gestão de Tecnologia e Inovação (CGTI), ao Programa de Recursos Humanos em Petróleo e Gás Natural da Petrobrás (PRH-28) e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COUTINHO, J. O. P. A.; SILVA, M. P. S.; MORAES, P. M.; MONTEIRO, A. S.; BARCELOS, J. C. C.; SIQUEIRA, E. P.; SANTOS, L. L. Demulsifying properties of extracellular products and cells of *Pseudomonas aeruginosa* MSJ isolated from petroleum-contaminated soil. *Biores. Technol.* v.128, p.646-654. 2013.
- DUBEY, K.; JUWARKAR, A. Distillery and curd whey wastes as viable alternative sources for biosurfactant production. *W. J. Microb. Biotechnol.*, v. 17, p.61-69, 2001.
- GONZINI, O.; PLAZA, A.; PALMA, D. I. L.; LOBO, M. C. Electrokinetic remediation of gasoil contaminated soil enhanced by rhamnolipids. *J. of Appl. Electrochem.* v. 40, p.1239-1248, 2010.
- LIU, J.; HUANG, X. F.; LU, L. J.; XU, J. C.; WEN, Y.; YANG, D. H. Comparison between waste frying oils and paraffin as carbon source in the production of biodemulsifier by *dictydia* sp. S-JS-1. *Biores. Technol.* v.24, n. 100, p. 6481-9487, 2009.
- LONG, X.; ZHANG, G.; SHEN, C.; SUN, G.; WANG, R.; YIN, L.; MENG, Q. Application of rhamnolipid as a novel biodemulsifier for destabilizing waste crude oil. *Biores. Technol.* v.131, p.1-5. 2013.
- LUNA, J.M.; RUFINO, R.D.; SARUBBO, L.A.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Characterization, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial

- waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry. *Collo.and Surf. B: Biointerfaces*, V. 102, p. 202-209, 2013.
- MULLIGAN, C. N.; YONG, R. N.; GIBBS, B. F. Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. *Engineering Geology*. n. 60, p. 371-380, 2001.
- NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biosurfactantes: propriedades e aplicações. *Quím. Nov.* v. 25, p. 772-776, 2002.
- ROCHA E SILVA, N. M. P.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; SANTOS, V. A.; SARUBBO, L. A. Screening of *Pseudomonas* species for biosurfactant production using low-cost substrates. *Biocatal.andAgricul. Biotechnol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.005>, 2013.
- RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; SARUBBO, L. A. Characterization and properties of the biosurfactant produced by *Candida lipolytica* UCP 0988. *Eletro. J. of Biotechnol.* v. 17, p.34-38, 2014.
- RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; FARIAS, C. B. B.; SANTOS, V. A.; SARUBBO, L. A. Biosurfactante de baixo custo utilizado na remoção de contaminantes ambientais derivados de petróleo. *Simp.Nacion.de Bioproc.*, 2011.
- SANTOS, D. K. F.; RUFINO, R. D.; SANTOS, V. A.; SALGUEIRO, A. A.; SARUBBO, L. A. Synthesis and evaluation of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using animal fat and corn steep liquor. *J. of Petrol.Sci.en. and Eng.* v. 12, p.1-32, 2013.
- SILVA, S. N. R. L.; FARIAS, C. B. B.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; SARUBBO, L. A. Glycerol as substrate for the production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* UCP0992. *Collo.and Surf. B: Biointerfaces*, v. 79, p.174-183, 2010.
- SILVA, S. N. R. L.; SANTOS, D. K. F.; SILVA, A. F.; FARIAS, C. B. B.; LUNA, J. M.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; SARUBBO, L. A. Glicerina como substrato alternativo para produção de biosurfactantes In: IV Simposio de Microbiologia Aplicada, 2009, Rio Claro, SP. *Holos Environm.* 2009.
- YOUSSEF, N. H.; DUNCAN, K. E.; NAGLE, D. P.; SAVAGE, K. N.; KNAPP, R. M.; MC INERNEY, M. J. Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganism. *J. of Microb Meth.* v.56, p. 399-347, 2004.