



**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA ACADÊMICA**  
**COORDENAÇÃO GERAL DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**MESTRADO EM DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS AMBIENTAIS**

**FERNANDA CRISTINA PADILHA DA ROCHA E SILVA**

**ESTUDO TEÓRICO-EXPERIMENTAL DA  
SEPARAÇÃO GRAVITACIONAL DE EMULSÕES  
COMPOSTAS POR ÁGUA DO MAR, DERIVADOS DE  
PETRÓLEO E BIOSURFACTANTES**

**RECIFE  
2013**

**FERNANDA CRISTINA PADILHA DA ROCHA E SILVA**

**ESTUDO TEÓRICO-EXPERIMENTAL DA  
SEPARAÇÃO GRAVITACIONAL DE EMULSÕES  
COMPOSTAS POR ÁGUA DO MAR, DERIVADOS DE  
PETRÓLEO E BIOCOSURFACTANTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento em Processos Ambientais da Universidade Católica de Pernambuco sob orientação da Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em **Desenvolvimento de Processos Ambientais**.

**Área de Concentração:** Desenvolvimento em Processos Ambientais

**Linha de Pesquisa:** Biotecnologia e Meio Ambiente

**Orientadora:** Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo  
**Co-orientador:** Prof. Dr. Valdemir Alexandre dos Santos

RECIFE  
2013

**ROCHA E SILVA, FERNANDA CRISTINA PADILHA DA.**

ESTUDO TEÓRICO EXPERIMENTAL DA SEPARAÇÃO GRAVITACIONAL DE EMULSÕES COMPOSTAS POR ÁGUA DO MAR, DERIVADOS DE PETRÓLEO E BIODISSURFACTANTES / Fernanda Cristina Padilha da Rocha e Silva; Orientador Leonie Asfora Sarubbo, Recife, 2013. 105p.

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO** – Universidade Católica de Pernambuco. Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais, 2013.

**FAD; BIODISSURFACTANTE; ÁGUA OLEOSA; DCCR.**

8º Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais. Centro de Ciências e Tecnologia.

## COMISSÃO EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo (Orientadora)  
Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP

---

Prof. Dr. Elias Basile Tambourgi  
Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

---

Profa. Dra. Arminda Saconi Messias  
Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP

Defendida em: \_\_\_\_\_

**Coordenadora:** Profa. Dra. Clarissa Daisy Costa Albuquerque

Ao meu filho João Victor Padilha Gomes de Mattos, que é o meu maior objetivo de seguir em busca do sucesso. A ele dedico meu amor incondicional.

“Uma boa cabeça e um bom coração são sempre uma formidável combinação”.  
“Deixe a liberdade reinar”.  
“O sol nunca brilha tão glorioso como diante de uma conquista humana”

**Nelson Mandela**



## **AGRADECIMENTOS**

À Deus e Nossa Senhora do Perpétuo Socorro, por ter permitido concluir esta primeira etapa da minha carreira profissional.

À Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo, orientadora que com sua paciência e compreensão, me ajudou a completar com êxito essa difícil tarefa.

À Prof. Dr. Valdemir Alexandre dos Santos, pela grandiosa co-orientação e sugestões para o aprimoramento dessa dissertação.

À Coordenadora do Mestrado, Dra. Clarissa Daisy Costa Albuquerque, pelo incentivo transmitido durante o curso.

À Profa. Dra. Alexandra Amorim Salgueiro, pela dedicação dada a todos durante sua coordenação no ano de 2012 e início de 2013.

Ao Prof. Dr. Hilário Jorge Bezerra Filho, pelo conhecimento prestado durante a fase de montagem do protótipo.

À Dra. Juliana Moura de Luna, pelo carinho e atenção nesses dois anos de trabalho.

À Dra. Raquel Diniz Rufino, pelo apoio prestado nesses dois anos.

Ao técnico de laboratório Francisco das Chagas Souza dos Santos.

Ao amigo Alex Elton de Moura pelo conhecimento e ajuda durante todas as fases do meu projeto.

Ao amigo Rodrigo Almeida pela ajuda nos resultados do protótipo.

Aos colegas do laboratório de Bioengenharia, por transmitir seus conhecimentos em todas as oportunidades possíveis, Darne Germano de Almeida, Rita de Cássia Freire, Laís Alexandre do Nascimento, Pedro Brasileiro, Rosangela Henauth, Robson Vasconcelos e Italo Batista.



Ao meu marido pelo apoio dado nesse período tão difícil da minha carreira profissional.

À minha amada família, minha mãe, meu pai, meu filho, minha irmã e minha tia, pelo incentivo, apoio e participação ao longo de toda esta caminhada.

Ao CNPq, FACEPE e TERMOPE, pelo apoio financeiro no decorrer deste curso.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

|  |      |
|--|------|
| <b>AGRADECIMENTOS</b> .....  | vii  |
| <b>LISTA DE FIGURAS</b> .....                                      | xii  |
| <b>LISTA DE TABELAS</b> .....                                      | xiii |
| <b>LISTA DE SÍMBOLOS</b> .....                                     | xiv  |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....                                 | xv   |
| <b>RESUMO</b> .....  | xvi  |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | xvii |
| <br>   |      |
| <b>CAPÍTULO 1</b>  |      |
| 1. INTRODUÇÃO.....   | 19   |
| 2. OBJETIVOS.....  | 21   |
| 2.1 Objetivos Gerais.....  | 21   |
| 2.2 Objetivos Específicos.....                                     | 21   |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA.....                                      | 22   |
| 3.1 Fontes de poluição ambiental.....                              | 22   |
| 3.2 Derramamentos de óleo na água do mar.....                      | 23   |
| 3.3 Fontes da entrada de óleo em águas.....                        | 24   |
| 3.4 Destino do óleo derramado.....                                 | 25   |
| 3.4.1 Aclimatação (Weathering).....                                | 25   |
| 3.4.2 “Mousse de Chocolate”.....                                   | 25   |
| 3.5 Efeitos do derramamento de óleo.....                           | 26   |
| 3.5.1 Derramamentos de óleos no Brasil.....                        | 26   |
| 3.5.2 Impactos ambientais dos derramamentos de óleo nos mares..... | 29   |
| 3.5.3 Métodos de limpeza de derramamentos de óleos.....            | 33   |
| 3.6 Surfactantes.....  | 35   |
| 3.6.1 Biossurfactantes.....  | 37   |
| 3.6.1.1 Classificação.....   | 38   |
| 3.6.1.2 Microrganismos produtores.....                             | 39   |
| 3.6.1.3 Propriedades.....  | 42   |
| 3.6.1.4 Aplicações.....  | 43   |

|  |    |
|--|----|
| 3.6.1.4.1 Aplicações na indústria de petróleo.....   | 45 |
| 3.6.1.4.2 Mecanismo de dispersão de óleos por surfactante.....                                     | 47 |
| 3.6.1.4.3 Mecanismo de estabilização das emulsões por surfactantes.....                            | 49 |
| 3.6.1.5 Desemulsificação.....  | 50 |
| 3.6.1.6 Perspectivas de utilização.....  | 50 |
| 3.6.1.6.1 Resíduos industriais como substratos promissores para a produção de biosurfactantes..... | 52 |
| 3.7 Legislação Ambiental.....  | 53 |
| 3.8 Água Industrial.....   | 54 |
| 3.8.1 Águas residuárias.....   | 54 |
| 3.9 Separação por Flotação.....  | 54 |
| 3.10 Flotação por Ar Dissolvido.....   | 55 |
| 3.10.1 Distribuição do tamanho de bolhas.....  | 56 |
| 3.10.2 Taxa de recirculação.....   | 57 |
| 3.10.3 Dosagem de coletores.....   | 57 |
| 3.11 Sistema de Flotação em Escala Piloto.....   | 57 |
| 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....   | 59 |

## CAPITULO 2

|   |    |
|---|----|
| EFFECT OF BIOSURFACTANT ADDITION IN A PILOT SCALE DISSOLVED AIR FLOTATION SYSTEM..... | 69 |
| INTRODUCTION.....   | 70 |
| MATERIALS AND METHODS.....  | 72 |
| Materials.....  | 72 |
| Pilot Scale Dissolved Air Flotation System.....                                       | 72 |
| Biosurfactant Production.....   | 74 |
| Experimental factorial design and response surface methodology.....                   | 75 |
| Water-Oil synthetic effluent.....   | 76 |
| Biosurfactant dosage.....   | 77 |
| Flotation experiments.....  | 77 |
| RESULTS AND DISCUSSION.....   | 78 |

|   |     |
|---|-----|
| Water-Oil separation efficiency without the biosurfactant ..... | 79  |
| Water-Oil separation efficiency with the biosurfactant.....     | 80  |
| CONCLUSIONS.....  | 81  |
| ACKNOWLEDGEMENTS.....   | 82  |
| REFERENCES.....   | 82  |
| <br><b>CAPÍTULO 3</b>   |     |
| CONCLUSÕES GERAIS.....  | 100 |
| ANEXOS.....   | 101 |

**LISTA DE FIGURAS**

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Estrutura química representativa de um monômero surfactante.....   | 36 |
| Figura 2. Gráfico ilustrativo das regiões onde ocorre a formação de micelas (CMC).....                             | 37 |
| Figura 3. Mecanismos de dispersão de óleos por dispersantes.....   | 48 |
| Figura 4. Mecanismo de estabilização de uma emulsão por moléculas de surfactantes aniônicos.....                   | 49 |
| Figura 5. Mecanismo de estabilização de uma emulsão por dois surfactantes de diferentes solubilidades em água..... | 50 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1. Entrada de petróleo no ambiente marinho.....   | 24 |
| Tabela 2. Efeitos do derrame de petróleo em comunidades biológicas                                     | 32 |
| Tabela 3. Custos relacionados à limpeza de derramamento de óleos..                                     | 35 |
| Tabela 4. Exemplos de Concentração Micelar Crítica de<br>biossurfactantes e surfactantes químicos..... | 38 |
| Tabela 5. Principais classes de biossurfactantes e microrganismos<br>produtores.....                   | 41 |
| Tabela 6. Aplicações industriais dos biossurfactantes.....   | 44 |

**LISTA DE SÍMBOLOS**

|                         |    |
|-------------------------|----|
| % - Porcentagem.....    | 33 |
| \$ - Cifrão.....        | 34 |
| °C - Graus Celsius..... | 41 |

**LISTA DE ABREVIATURAS**

|  |    |
|--|----|
| SAO - Separador água/óleo.....   | 19 |
| FAD - Flotador Ar Dissolvido.....  | 20 |
| RSM - Metodologia de Superfície de Resposta.....                             | 21 |
| TERMOPE - Termelétrica de Pernambuco.....                                    | 22 |
| FRONAPE - Frota Nacional de Petroleiros.....                                 | 26 |
| IMO - International Maritime Organization.....                               | 27 |
| MARPOL - Convenção Internacional para Prevenção da Poluição por<br>Óleo..... | 27 |
| PEIs - Planos de Emergência Individuais.....                                 | 28 |
| ppb – partes por bilhão.....   | 28 |
| tpb – tonelagem de porte bruto.....  | 28 |
| CMC - Concentração Micelar Crítica.....                                      | 35 |
| HPAS – Hidrocarbonetos policíclicos Aromáticos Solúveis.....                 | 46 |
| MEOR - Microbial Oil Recovery Enhancement.....                               | 46 |
| HLB – Balanço hidrofílico e lipofílico.....                                  | 48 |



## RESUMO

As refinarias de petróleo, assim como outros processos industriais em grande escala, são fontes potenciais de poluição ambiental. Os acidentes ocorridos com derramamento de petróleo e seus derivados no Brasil, no período de 1975 a 2012, somam milhões de litros de poluentes que promoveram a contaminação de solos, rios e mar. Os processos físico-químicos tais como, a centrifugação, ultrafiltração e flotação por ar dissolvido (FAD), podem ser eficazes quando usados para separar óleos emulsionados. Nesse sentido, o processo de FAD continua sendo amplamente utilizado nas indústrias, tanto para águas de abastecimento como para águas residuárias. A FAD pode ser considerada como uma tecnologia limpa, uma vez que utiliza pequenas quantidades de coagulantes e ar para promover a separação. A utilização de coletores/coagulantes é essencial para melhorar a eficiência do processo, tendo em vista suas características específicas que facilitam a adesão das partículas e, conseqüentemente, a separação dos poluentes. Por outro lado, esses coletores químicos são tóxicos, fator que representa um agravante no sentido da geração de outros poluentes ambientais. Assim, os surfactantes microbianos ou biossurfactantes, biomoléculas anfipáticas produzidas por bactérias e leveduras, em detrimento dos coagulantes sintéticos, apresentam-se como uma tecnologia sustentável e promissora no aumento de eficiência da flotação. Essas biomoléculas, além de serem muito eficientes, são biodegradáveis e atóxicas, motivando as pesquisas no sentido de produzir e utilizar cada vez mais esses agentes tensoativos. Dessa forma, o presente trabalho foi desenvolvido na busca de uma estratégia para comparar as eficiências de separação água/derivado de petróleo por FAD, em escala piloto, com e sem a adição de um biossurfactante. De acordo com os resultados obtidos, o biossurfactante produzido por *Candida sphaerica* cultivada em resíduos industriais foi considerado adequado como coletor do processo de separação. A utilização da biomolécula elevou a eficiência do processo de FAD de 80,0% para 98,0%, proporcionando a determinação das melhores condições operacionais. Dessa forma, concluiu-se que o uso de biossurfactantes como auxiliares na flotação constitui uma alternativa promissora na mitigação da poluição provocada pelo derramamento de petróleo e derivados em ambientes marinhos.

**Palavras-chave:** FAD; biossurfactante; água oleosa; DCCR.

## ABSTRACT

Oil refineries, as well as other large-scale industrial processes, are potential sources of environmental pollution. Accidents involving spills of oil and oil products in Brazil, in the period 1975-2012, add infective million liters of soil, rivers and sea. In this sense, the process of dissolved air flotation (DAF) is still widely used in industry, both for water supply and for wastewater. The physico-chemical processes such as centrifugation, ultrafiltration and dissolved air flotation (DAF), can be effective when used to separate emulsified oils. The effluent from the oily water type cause many environmental problems, particularly in thermal power plants (TPP's). Thus the aim of the study was to propose the separation water/oil by FAD in pilot scale and to compare the efficiency of the pilot prototype of FAD with and without addition of biosurfactant separation of oily waste waters. According the results, the biosurfactant produced by *Candida sphaerica* was selected, this being cultivated in using low cost industrial waste. Use of this bioproduct increased the efficiency of the flotation 80.0% to 98.0 %, to provide better determination of the operating conditions. Thus, it is suggested that the use of biosurfactants as auxiliary flotation is a promising alternative for the mitigation of pollution caused by the accumulation of synthetic surfactants in the environment.

**Key words:** DAF; biosurfactant; oily water; CCRD

# **CAPÍTULO 1**

## 1. INTRODUÇÃO

Problemas ambientais têm se tornado cada vez mais rotineiros, ocasionando a poluição das águas superficiais e subterrâneas, devido a dois grandes fatores: o aumento populacional e o crescimento industrial (BERGER, 2005; PEREIRA; FREITAS, 2012).

Uma das principais técnicas de tratamento de águas oleosas é basicamente realizada por separadores que utilizam o princípio da separação gravitacional, tais como sedimentadores, centrífugas, hidrociclones, entre outros (ROCHA E SILVA, 2013a). A água tratada alcança níveis de remoção do óleo na faixa de 200 mg/L, devido, principalmente, à presença de óleos emulsionados, que dificilmente são removidos por simples flutuação, necessitando assim de técnicas auxiliares como a adição de coagulantes e surfactantes (ROSA, 2002).

Segundo Valença (2012), existem alguns métodos de tratamento das águas industriais que variam de acordo com alguns fatores, tais como, volumes envolvidos, constituição da água, limites da legislação ambiental vigente, entre outros. Esse tratamento tem como finalidade a redução da concentração de óleo disperso na água para que depois essa última possa ser descartada nos mananciais ou reutilizada no próprio processo. Nesse caso, o processo de flotação apresenta-se em destaque, pois este pode ser definido como um processo de separação de partículas via adesão de bolhas. A união partícula de óleo–bolha apresenta uma densidade menor que a do meio aquoso, flutuando até a superfície da célula de flotação de onde as partículas são removidas (FRANÇA, 2003).

A fim de melhorar a eficiência de flotação tem sido bastante comum a utilização de coletores/coagulantes. Normalmente esses compostos possuem características específicas que visam promover a adesão à fase dispersa e facilitar a separação dos poluentes (MENEZES et al., 2011).

Os surfactantes são substâncias dispersantes que agem diretamente como os responsáveis pela dispersão. Neste caso, em virtude de sua estrutura anfipática, solubilizam o óleo através da formação de pequenos agregados conhecidos como micelas, as quais se dispersam na água (ROCHA E SILVA, 2013b). A grande maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente é sintetizada a partir de

derivados de petróleo; entretanto, as novas legislações de controle ambiental têm levado à procura por surfactantes naturais como alternativa aos produtos existentes (RAHMAN; GAKPE, 2008; BANAT, 2010). Em virtude de sua biodegradabilidade e compatibilidade com o meio ambiente, além de inúmeras vantagens, têm-se estudado a substituição dos surfactantes químicos pelos metabólitos produzidos principalmente por bactérias e leveduras, ou seja, os biossurfactantes (CAMPOSTAKAKI et al., 2010).

Biossurfactantes são compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes e consistem em subprodutos metabólicos de bactérias, leveduras e fungos filamentosos (SILVA et al., 2010; MUKHERJEE et al., 2006). Como alternativa frente à utilização de coletores sintéticos, o uso de microrganismos adaptados aos resíduos oleosos pode possibilitar a obtenção de compostos surfactantes biodegradáveis, não tóxicos e estáveis frente a condições ambientais adversas, proporcionando a difusão de uma tecnologia sustentável (DECESARO, 2013). Observa-se ainda entre os biossurfactantes características de promoverem a desestabilização ou estabilização de emulsões do tipo água-óleo, sendo o primeiro o motivo pelo qual algumas espécies podem ser utilizadas como auxiliares do processo de flotação.

Na dinâmica ambiental, a flotação é dependente das características superficiais/interfaciais do sistema partículas e bolhas (RUBIO et al., 2002). Assim, a flotação aplicada ao tratamento de efluentes se diferencia das demais, pelo pequeno diâmetro de partículas (coloidal), onde microbolhas são necessárias (FREIRE et al., 2000). Tendo em vista a importância desse processo aplicado em conjunto entre o setor industrial e ambiental, Tansel e Pascual (2011) investigaram a remoção de óleos combustíveis emulsificados através da Flotação por Ar Dissolvido (FAD), onde emulsões óleo/água foram preparadas e submetidas ao processo em batelada por 10 minutos. Os resultados foram promissores na remoção de hidrocarbonetos em água salobra utilizando o processo de FAD. Dessa forma, esta pesquisa se mostra pertinente quanto ao estudo experimental da eficiência do processo de FAD, visando determinar condições adequadas de separação de emulsões do tipo óleo/água.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Realizar um estudo teórico-experimental para separação gravitacional de emulsões compostas por água do mar e derivado de petróleo, utilizando-se o processo de flotação por ar dissolvido (FAD), sem e com a adição de um biossurfactante.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Selecionar um biossurfactante com características de desemulsificante, obtido a partir de resíduos industriais.
- Aplicar a Metodologia de Superfície de Respostas (RSM), com auxílio de um planejamento experimental, juntamente com uma estratégia que permita a comparação das eficiências de separação gravitacional, utilizando um processo de FAD, sem a e com a adição de um biossurfactante.
- Utilizar as condições operacionais ótimas, definidas na etapa anterior, para determinação das referidas eficiências de separação.

### **3. REVISÃO DA LITERATURA**

#### **3.1 Fontes de poluição ambiental**

As refinarias de petróleo são fontes potenciais de poluição. O derramamento de hidrocarbonetos provoca a contaminação ambiental podendo afetar o mesmo em todos os níveis: ar, água e solo, gerando consequências desastrosas para os organismos vivos (CALVO et al., 2009; GONZINI et al., 2010). No Brasil, acidentes envolvendo hidrocarbonetos derivados de petróleo tais como gasolina e óleo combustível, têm causado sérios problemas ambientais. Em 1998, 1200 m<sup>3</sup> de óleo combustível foram derramados devido à corrosão de um oleoduto na cidade de Cubatão, no Estado de São Paulo. A corrosão de oleodutos também foi responsável pelo derramamento de 1300 m<sup>3</sup> de óleo combustível na Baía de Guanabara, que já havia sido contaminada anteriormente por outros derramamentos de petróleo (BENINCASA, 2007).

Acidentes como os citados têm intensificado o desenvolvimento de procedimentos e técnicas de combate à poluição ambiental por derivados de petróleo. Entretanto, as novas diretrizes de recuperação de solos e águas têm restringido o uso de produtos químicos. Nesse contexto, a utilização de surfactantes surge como a tecnologia mais investigada para a resolução deste problema, permitindo a dessorção e consequente solubilização dos hidrocarbonetos, facilitando, assim, a assimilação desses compostos pelas células microbianas (CORTIS; GHEZZEHEI, 2007).

A grande maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente é sintetizada a partir de derivados de petróleo; entretanto, as novas legislações de controle ambiental têm levado à procura por surfactantes naturais como alternativa aos produtos existentes (RAHMAN; GAKPE, 2008; BANAT, 2010). Em virtude de sua biodegradabilidade e compatibilidade com o ambiente, além de inúmeras vantagens, têm-se estudado a substituição dos surfactantes químicos pelos metabólitos produzidos principalmente por bactérias e leveduras, ou seja, os biosurfactantes (CAMPOS-TAKAKI et al., 2010).

Os acidentes ocorridos com derramamentos de petróleo e seus derivados no Brasil, no período de 1975 a 2005, atingiram milhões de litros que contaminaram

solos, rios e mares. Diante dessa realidade, a possibilidade de contaminação ambiental torna-se real e iminente, havendo necessidade urgente de desenvolvimento de novas tecnologias que possam conter possíveis contaminações.

No caso específico de Termelétrica de Pernambuco (TERMOPE), com sua localização em termos de captação de água para refrigeração de seu sistema gerador, à jusante de grandes tanques de armazenagem de derivados de petróleo, encontra-se sujeita a perigo iminente de derramamento ou vazamento desses produtos. Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de estratégia tecnológica para prevenir problemas indesejáveis causados por possíveis acidentes ambientais. Neste caso, o desenvolvimento de uma tecnologia de aplicação de biossurfactante na contenção e degradação de resíduos de derivados de petróleo apresenta-se como solução para evitar danos à unidade da TERMOPE e ao próprio ambiente marinho. Entretanto, essa quantidade de biossurfactante precisa ser regulada em relação à quantidade de contaminantes para que o processo restaurador tenha potencial para aplicação imediata.

### **3.2 Derramamentos de óleo na água do mar**

O risco do derramamento de óleos nunca irá diminuir e os derramamentos continuam a ser um evento recorrente. A alternativa aos derramamentos tem como objetivo reduzir os danos causados ao meio ambiente. Os dispersantes são uma das práticas disponíveis para o tratamento de manchas oleosas. Uma vez estabelecida como técnica de recuperação, é fundamental que haja um plano (local ou nacional) que forneça uma política clara de usos, de procedimentos e práticas que deve ser aprovada com priorização (HOLAKOO, 2001)..

Os derramamentos são provocados por inúmeros incidentes, desde eventos pequenos como rachaduras em tanques de estocagem, transporte entre tanques até os provocados por derramamentos de barcos e tanques com elevado grau de severidade (HOLAKOO, 2001).

Cada cenário de derramamento terá características diferentes, tais como tipo de óleo, tamanho do derramamento, local do derramamento e taxa de liberação do óleo. Esses fatores irão influenciar a seleção do método mais apropriado, incluindo o



uso de dispersantes. Com todos os dispersantes, o tempo de aplicação irá garantir o maior sucesso da operação. Para o tratamento efetivo com dispersantes, os mesmos devem ser aplicados em quantidades corretas para minimizar não só a perda de dispersante como também para garantir a formação de gotas de tamanho apropriado para o máximo contato óleo-dispersante (BRITISH PETROLEUM, 2010).

### 3.3 Fontes da entrada de óleo em águas

O derramamento acidental de óleo é apenas um dos vários caminhos da entrada de óleo na água do mar. Os derramamentos normalmente ocorrem devido ao mal tempo (furacões, tempestades, maremotos), atos de violência intencional (guerras, vandalismos ou despejo) e falha humana. De fato, os maiores derramamentos estão associados com o transporte e a estocagem de óleo. Cerca de 90% dos derramamentos de óleos envolvendo tanques acontecem em terminais durante a carga e descarga de óleo (Government Publication of Canada, 1994). Diferentes fontes da entrada de óleo nos oceanos e praias são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Entrada de petróleo no ambiente marinho

| <i>Parâmetros</i>                     | %  |
|---------------------------------------|----|
| Transporte urbano e industrial        | 37 |
| Operações em embarcações              | 33 |
| Acidentes em tanques de armazenamento | 12 |
| Atmosfera                             | 9  |
| Natural                               | 7  |
| Exploração e produção                 | 2  |

Fonte: AIP (2001)

Derramamentos acidentais não é apenas o resultado de erros humanos. Temperaturas altas ou baixas podem romper tubos, o acúmulo de gelo pode desativar um barco e explosões na costa podem ocorrer em locais de perfuração. Nos oceanos abertos, a maioria das superfícies aquáticas contêm petróleo em níveis de 1 à 10 ppb. Águas costeiras próximas a portos e áreas industriais podem conter até 100 ppb (Government Publication of Canada, 1994).

### **3.4 Destino do óleo derramado**

As características do óleo e o ambiente determinam o comportamento e o destino do óleo derramado (HOLAKOO, 2001).

#### **3.4.1 Aclimação (Weathering)**

Quando o óleo é derramado na praia, ele ficará exposto a alguns processos naturais físicos, biológicos e químicos conhecidos com *weathering* que alteram a composição química e físico-química do óleo. Os processos de *weathering* incluem evaporação e dissolução de componentes de massa molar reduzida, dispersão das gotas do óleo na água, coalescência e retorno à superfície das gotas com aprisionamento da água do mar, foto-microbiana e auto-oxidação e emulsificação e formação de tarball (PAYNE; PHILLIPS, 1985). Ondas e correntes locais, temperatura do ar e da água, velocidade do vento, bem como o tipo e a quantidade do óleo derramado irão afetar o grau de *weathering* e o dano ambiental. Compostos leves (<C10) são os primeiros a serem atacados pelos microrganismos, seguidos de C12-C24 (MULLER-HERTIG et al., 1993). Os compostos mais pesados e complexos são resistentes ao ataque microbiano.

Os processos *weathering* aumentam a densidade, viscosidade, *pour point* e o volume do óleo (devido ao aprisionamento da água) complicam as medidas de limpeza: espumação, bombeamento, solventes, operações de recuperação e função dispersante. Quando dispersantes são aplicados, eles também sofrem o processo de *weathering*.

#### **3.4.2 “Mousse de Chocolate”**

Os processos de aclimatização resultam finalmente na formação de emulsões estáveis do tipo óleo em água conhecidas como “mousse de chocolate”. Essa emulsão tem até 70-80 % de água e tal conteúdo de água aumenta a viscosidade do mousse e complica as medidas de limpeza (PAYNE; PHILLIPS, 1985). Resinas, asfaltenos, ceras, organometálicos e compostos aromáticos contendo oxigênio, enxofre e nitrogênio agem como emulsificantes naturais estimulando a formação de e a estabilização do mousse de chocolate. Esses compostos se aproximam das

gotas de água no mousse e previne a coalescência das mesmas. Esses produtos da foto-oxidação possuem grupos polares que são em óleo e agem como surfactantes facilitando a incorporação da água dentro da fase oleosa, formando o mousse.

A alta viscosidade do mousse dificulta a penetração dos dispersantes nessas emulsões. A alta estabilidade da emulsão impede a coalescência da gota de água que poderia ajudar na quebra do mousse. Emulsões mais velhas são mais difíceis de dispersar devido ao elevado conteúdo de água e o efeito dos surfactantes naturais tende a estabilizar a emulsão. Quanto mais estável for o mousse, mais difícil sua degradação por ação bacteriana (HOLAKOO, 2001).

Com o avanço dos processos climáticos o óleo vai perdendo seus hidrocarbonetos mais leves e aumentando sua densidade (tornando-se mais denso que a água), tornando-se semi-sólido e formando um “tarball” que pode decantar nos sedimentos onde são anaerobiamente degradados a metano e CO<sub>2</sub> por micro-organismos.

### **3.5 Efeitos do derramamento de óleo**

#### **3.5.1 Derramamentos de óleos no Brasil**

O transporte marítimo de hidrocarbonetos no Brasil é realizado pelos navios petroleiros, que atuam tanto na navegação de longo curso como na navegação de cabotagem ao longo de toda a costa brasileira. A interligação com a terra é feita através dos terminais marítimos, distribuídos ao longo de toda a costa, que representam peças-chave nesta cadeia logística (SOUZA, 2009).

Uma vez que o petróleo e seus derivados respondem pela maior parte dos granéis líquidos transportados pela costa brasileira e pelos mares do mundo, os impactos advindos da navegação tornam-se relevantes. Em números, os petroleiros transportam cerca de 1.800 milhões de toneladas de óleo cru pelo mundo ao ano. (IMO, 2004). Em termos percentuais o petróleo e seus derivados respondem por cerca de 40 % do comércio marítimo mundial (INTERTANKO, 2003).

A atividade de transporte de petróleo e derivados tem grande potencial poluidor, principalmente devido ao grande volume em operação. O transporte de petróleo e derivados pode causar descargas de portes variáveis, desde as maiores

proporcionadas por acidentes com petroleiros, até as relativamente pequenas, mas frequentes, por descargas operacionais. Mundialmente, esse transporte lança no ambiente centenas de toneladas de hidrocarbonetos por ano. Comparadas às outras fontes de hidrocarbonetos, apenas as fontes antropogênicas são responsáveis por cinquenta por cento do total de hidrocarbonetos lançados anualmente no ambiente (WALKER et al., 2003).

A Frota Nacional de Petroleiros (FRONAPE), integrante do sistema PETROBRAS, é a maior transportadora de petróleo e derivados do Brasil (TRANSPETRO, 2004). Frotas e empresas como estas contribuem bastante para o risco de impacto ambiental resultante do derramamento de cargas de petróleo e derivados para o mar, seja proveniente de um acidente ou durante operações rotineiras como carga e descarga (SOUZA, 2009).

Ultimamente, vários acidentes com derramamento de petróleo e derivados têm resultado na contaminação de ambientes terrestres e aquáticos.

Os pequenos vazamentos provenientes do transporte marítimo correspondem a 98 % das perdas totais de petróleo e derivados. As perdas acidentais correspondem aos 2 % restantes, que contribuem com o lançamento de aproximadamente 400 mil ton/ano de óleo no ambiente. São esses grandes vazamentos que mais chamam atenção. O primeiro caso conhecido foi em 1967, envolvendo o encalhe do navio Torrey Canyon derramando 123 mil toneladas de petróleo na zona costeira da Inglaterra e França, causando mortandade de aves e prejuízos à pesca e ao turismo. Em 1978 ocorreu o encalhe do navio Amoco Cadiz, também na costa da Inglaterra, liberando 230 mil toneladas de petróleo ao mar, que provocaram um grande desastre ambiental. Em 1983, ocorreu o vazamento de 260 mil toneladas de petróleo do navio Castillo de Berver, na África do Sul, e em 1989, 40 mil toneladas de óleo vazaram do navio Exxon Valdez, no Alasca (CETESB, 2005).

No Brasil, o primeiro grande episódio conhecido ocorreu em 1974, quando o petroleiro Takimiyia Maru colidiu-se com uma rocha no Canal de São Sebastião, causando o vazamento aproximado de 6 mil toneladas de petróleo. No ano seguinte, ocorreu o acidente com o navio Tarik Ibn Zviad, e essa mesma quantidade de óleo foi derramada na Baía de Guanabara–RJ. Até os dias atuais, muitos outros acidentes aconteceram causando maiores vazamentos de petróleo, tais como 3

milhões de litros em Bertioga–SP em 1983, 2,8 milhões de litros nos manguezais da Baía de Guanabara em 1997, 1,3 milhões de litros novamente na Baía de Guanabara em 2000, 4 milhões de litros nos rio Barigui e Iguaçu, no Paraná em 2000 (CETESB, 2005).

Em 1954, a IMO (International Maritime Organization - agência especializada da ONU para assuntos marítimos) já aprovava sua primeira Convenção Internacional para a Prevenção da Poluição por Óleo – OILPOL, posteriormente MARPOL. Desde então, outras convenções foram aprovadas (ARAÚJO, 2004). Mediante a gravidade da situação, a IMO com o intuito de prevenir a poluição acidental e operacional, preconizou ações que culminaram em acordos internacionais, destacando-se a Convenção Internacional para a Prevenção da Poluição por Navios – MARPOL 1973, que ficou posteriormente conhecida como MARPOL 73/78 após inclusão em 1978 de alterações no texto original (IMO, 2004). Por volta de 1992, a MARPOL introduziu a exigência do casco duplo para navios de 5.000 tpb ou maior, ordenados a partir de 1993, e um cronograma para conversão ou desativação de navios de casco simples a partir de 1995 (SILVA, 2004).

De acordo com Barrow e Rothschild (2002), a legislação ambiental em diversas partes do mundo surge em resposta a um desastre ambiental, sendo caracterizada como “legislação emergencial”. E no Brasil não é diferente, podendo ser citada como exemplo a criação da Lei nº 9.966 do ano de 2000 (lei do óleo), após o acidente ocorrido na baía de Guanabara no mesmo ano, e em seguida a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 237, do ano de 2001 (diretrizes para elaboração dos Planos de Emergência Individuais – PEIs). Mas apesar de tantos cuidados e leis estabelecidas ao longo de décadas, enquanto se falar da existência do petróleo e de desenvolvimento sustentável, os transportes marítimos com cargas petrolíferas continuarão existindo e junto com eles o risco potencial de acidentes envolvendo derramamentos de petróleo e derivados. E é justamente por esta questão, que técnicas de limpeza são estudadas com tanta ênfase por pesquisadores, principalmente os envolvidos com a pesquisa ambiental.

Diante dos acidentes envolvendo o derramamento de petróleo e das legislações de caráter ambiental que, cada vez mais, exigem a substituição e adequação de

tecnologias com vistas à preservação ambiental, surgem caminhos onde a biotecnologia assume um papel fundamental (SOUZA, 2009).

### **3.5.2 Impactos ambientais dos derramamentos de óleos nos mares**

Os efeitos no meio ambiente decorrentes de derrames de petróleo e de derivados podem ser classificados como agudos ou crônicos. Impactos agudos são aqueles que causam efeitos letais aos organismos, geralmente decorrentes de um evento acidental que os expõe ao agente contaminante por um curto período de tempo, sendo as frações tóxicas solúveis em água rapidamente diluídas, procedendo à recuperação da área atingida a partir do recrutamento de organismos oriundos de regiões não atingidas. Caracteriza-se poluição crônica como a exposição prolongada ao agente contaminante; fazendo com que as frações tóxicas persistam no ambiente, dificultando ou mesmo inviabilizando a recuperação do mesmo. Os impactos crônicos geram efeitos sub-letais que podem afetar algum estágio do ciclo de vida do organismo como o crescimento, a reprodução e o desenvolvimento larval. Esses impactos decorrem de atividades desenvolvidas ao longo dos anos, sendo esse tipo de poluição considerada ecologicamente mais grave do que a aguda (SILVA, 2004).

Relacionando as atividades petrolíferas com a poluição marinha por hidrocarbonetos de petróleo, a contaminação ocorre de forma crônica, como resultado de uma ação rotineira de manutenção dos navios e constantes descargas nos portos e terminais, e de forma aguda como resultado de eventuais derrames no ambiente em função de acidentes com petroleiros (SILVA, 2004).

Um derrame pode provocar uma série de impactos, dentre eles alterações físicas e químicas dos *habitats* naturais, resultante, por exemplo, da incorporação do óleo ao sedimento, recobrimento físico da fauna e flora, efeitos letais ou sub-letais nos organismos e mudanças nas comunidades biológicas resultantes dos efeitos do óleo sobre organismos chave (SEN, 2008; HARITASH; KAUSHIK, 2009).

Esses efeitos podem ser divididos em visíveis e não visíveis. Os efeitos visíveis podem ser caracterizados pela morte de organismos (aves, mamíferos marinhos,

peixes, etc.), o gosto de óleo nos recursos pesqueiros e sujeira nas praias, redes de pesca e embarcações, enquanto que os efeitos não visíveis representam interferências nos diversos níveis de organização de um sistema, desde as funções celulares e fisiológicas até a estrutura ecológica das comunidades aquáticas (KHANNA; BARUA, 2001)

Outras consequências em se tratando de efeitos em curto prazo podem ser causadas por recobrimento e asfixia, tais como redução da luminosidade, diminuição do oxigênio dissolvido, danos às aves aquáticas e pela toxicidade do produto derramado. Já os efeitos em longo prazo não são tão aparentes, além do que alguns compostos podem ser bioacumulados ao longo da cadeia trófica podendo trazer efeitos nocivos ao homem. Efeitos sub-letais relacionados com a toxicidade dos hidrocarbonetos repercutem na capacidade de reprodução, crescimento e alimentação, tendo estes sido observados experimentalmente (HARITASH; KAUSHIK, 2009).

A extensão dos impactos causados pelo derramamento de petróleo no ambiente está diretamente relacionada à quantidade e tipo de óleo derramado, às características do ambiente atingido e sua sensibilidade, às condições meteorológicas e ao tempo de permanência do petróleo no ambiente (POFFO, 2002). Mesmo que em pequeno porte, um derrame pode levar a danos irreversíveis, e quando ocorrido nas proximidades costeiras, esses danos são ainda maiores.

O sedimento que se torna uma fonte de hidrocarbonetos para a coluna d'água gerando consequências, tais como a redução da disponibilidade de oxigênio restringindo a degradação bacteriana e a consequente recuperação ambiental, também se mostra um bom indicador da magnitude da contaminação no ambiente marinho, uma vez que as partículas de sedimento adsorvem os poluentes da coluna d'água e os acumula, elevando-os a níveis detectáveis (KINGSTON et al., 2003).

As espécies sensíveis morrem ou abandonam o local e são substituídas por espécies oportunistas tolerantes ao óleo. O número total de espécies diminui e, geralmente, a biomassa também diminui (SEN, 2008; HARITASH; KAUSHIK, 2009).

Os efeitos biológicos dos hidrocarbonetos de petróleo sobre os organismos marinhos dependem de sua persistência e biodisponibilidade, da capacidade dos organismos de acumular e metabolizar diversos hidrocarbonetos, do destino dos

produtos metabolizados e da interferência dos hidrocarbonetos sobre os processos metabólicos normais que podem alterar as chances de sobrevivência e reprodução de um organismo no ambiente (CRAPEZ et al., 2001).

Considerando os efeitos de longo prazo, é importante citar as mudanças ecológicas na estrutura e função da comunidade e os impactos nos recursos pesqueiros (CRAPEZ et al., 2001).

Os impactos sobre os organismos podem ser físicos quando os mesmos são recobertos pelo produto derramado, podendo levar à morte dos mesmos por asfixia, e/ou tóxicos quando acumulam hidrocarbonetos depositados no sedimento (CRAPEZ et al., 2001).

Outros organismos que sofrem consequências em decorrência de derramamentos são os filtradores, pois acumulam hidrocarbonetos em níveis superiores ao do ambiente. No entanto, tão logo sejam expostos a uma água limpa, os contaminantes são rapidamente depurados (CRAPEZ et al., 2001).

As aves, embora vivam num outro habitat, também são organismos afetados direta ou indiretamente pelos derramamentos. Os efeitos diretos sub-letais da contaminação prejudicam o desempenho (reprodutivo, alimentar) dos indivíduos e os efeitos indiretos às aves são decorrentes das alterações nos ecossistemas, como por exemplo, a redução da oferta de alimento (CRAPEZ et al., 2001).

A Tabela 2 faz uma síntese e elucida bem os efeitos dos derramamentos sobre comunidades biológicas.



Tabela 2 - Efeitos do derrame de petróleo em comunidades biológicas

| Comunidade                   |   | Efeito   |
|------------------------------|---|--|
| <b>Bactérias</b>             |   | Positivos para os grupos que degradam o óleo, com expressivo aumento das populações, e negativos para os grupos que não têm afinidade com o mesmo. |
| <b>Plâncton</b>              | Biomassa e produtividade do fitoplâncton<br>Zooplâncton | Aumento devido à diminuição da pastagem; depressão da clorofila a.<br>Redução da população; contaminação.  |
| <b>Bentos</b>                | Anfípodas, isópodas, ostracodas                         | Mortalidade inicial, população decresce.   |
|                              | Moluscos, especialmente bivalves                        | Mortalidade inicial, contaminação; histopatologia.   |
|                              | Piquetas oportunistas                                   | População aumenta.   |
|                              | Comunidades dos macrobentos                             | Decréscimo de diversidade.   |
| <b>Entre marés e litoral</b> | Crustáceos  | Mortalidade inicial, população decresce.   |
|                              | Moluscos  | Mortalidade inicial, contaminação; histopatologia  |
|                              | Piquetas oportunistas                                   | População aumenta.   |
|                              | Maioria das comunidades                                 | Decréscimo de diversidade.   |
| <b>Algas</b>                 |   | Decréscimo de biomassa; espécies são substituídas.   |
| <b>Peixes</b>                | Ovos e larvas   | Diminuição de eclosão e sobrevivência.   |
|                              | Adultos   | Mortalidade inicial; contaminação, normalmente afastam-se do local atingido; histopatologia.   |
| <b>Aves</b>                  | Adultos   | Mortalidade por esgotamento físico (recobrimento), intoxicação; decréscimo populacional.   |

Fonte: CRAPEZ et al. (2001).

A região costeira apresenta grande riqueza biológica, abrigando boa parte da biodiversidade marinha. A costa brasileira, com 7.491 km de extensão, abriga inúmeros ecossistemas típicos: manguezais, costões rochosos, praias, recifes de coral, marismas e águas abertas. Muitos desses ecossistemas costeiros tornam-se mais vulneráveis quando têm em suas proximidades terminais marítimos, onde ocorrem as atividades de carga e descarga dos navios (CETESB, 2004).

Nos ecossistemas de manguezais os derrames de óleo podem gerar um efeito tóxico sobre as raízes e sobre os organismos deste habitat. Pode também ocorrer, uma redução à decomposição microbiana, além de recobrimento da fauna e da zona de trocas gasosas dos vegetais. Nos marismas, ocorre absorção da fração tóxica do óleo através de folhas ou raízes podendo causar envenenamento pela ruptura das membranas e organelas celulares.

Nas praias e costões rochosos, o impacto varia em função do hidrodinamismo, ocasionando recobrimento, intoxicação dos organismos, e provocando assim interferência nos processos de locomoção, alimentação e reprodução (CRAPEZ et al., 2001).

Em se tratando dos recifes de coral, óleos leves representam mais perigo por conterem maior quantidade de frações tóxicas solúveis, além do que óleos pesados dificilmente entram em contato com os recifes. Em águas abertas os efeitos advindos podem ser sub-letais ou ainda letais. Além do mais, todos estes ecossistemas podem sofrer impactos bioacumulativos provenientes de um derrame, podendo ainda levar à morte dos organismos que habitam a localidade acidentada (SILVA, 2004).

### **3.5.3 Métodos de limpeza de derramamentos de óleos**

Os critérios de seleção das técnicas mais eficientes de limpeza variam de derramamento para derramamento e dependem do tipo e da quantidade do óleo derramado, das condições climáticas e do ambiente ao redor. Em qualquer derramamento, a primeira prioridade é para a fonte de dispersão. A segunda prioridade é conter o derramamento com boias para prevenir maiores expansões, para então coletar o óleo da superfície da água através de escumadeiras. Existem

sempre limitações para o uso de booms e escumadeiras uma vez que os mesmos não podem ser usados em locais com ondas altas, correntes e ventos de alta velocidade. Esses equipamentos requerem extensiva mão-de-obra humana e tempo de operação e só são capazes de recuperar apenas 10 % do volume do óleo (SCHRAMM; KLÜPPEL, 2000). O percentual de recuperação pode até mesmo cair para 1,5-2 % do volume derramado em condições marinhas desfavoráveis (NETCEN, 1997).

Os dispersantes constituem uma das respostas práticas aos derramamentos de óleo em mar através da quebra da mancha em finas gotas. O desenvolvimento de dispersantes modernos teve início após o derramamento TORREY CANYON EM 1967 na costa da Inglaterra (FICCO; LEWIS, 1999). Infelizmente, os dispersantes à base de compostos aromáticos apenas produzidos na época destruíram a vida aquática por milhas de distância (SHANLEY, 1999).

Os dispersantes basicamente aceleram a dispersão natural e a degradação da mancha de óleo. Eles quebram a mancha em pequenas gotas, promovendo, conseqüentemente, uma maior área superficial para outros rompimentos através de processos de biodegradação ou foto-oxidação. Os dispersantes também solubilizam os compostos oleosos para facilitar suas biodegradações (SHANLEY, 1999). A quebra da mancha evitaria sua chegada em terra firme e reduziria as chances de contaminação das aves marinhas. Os dispersantes são aplicados via embarcações ou aviões na área afetada pelo derramamento.

Os dispersantes podem tratar até 90 % de um derramamento e, por um custo muito inferior ao da recuperação mecânica (SHANLEY, 1999) (Tabela 3). Mesmo após uma coleta mecânica imediata, os dispersantes podem ser usados para minimizar a contaminação de pássaros e animais marinhos (LANG; WAGNER, 1993).

Tabela 3 – Custos relacionados à limpeza de derramamento de óleos

| <i>Estratégia</i>         | <i>Custo/t/(\$)</i> |
|---------------------------|---------------------|
| Mecânica                  | 12.527              |
| Mecânica com dispersantes | 13.927              |
| Dispersantes              | 2.137               |

Fonte: Dagmar Ektin. Cutter Information Corp. (2000)

Os dois maiores princípios associados ao uso de dispersantes são efetividade e toxicidade do dispersante e do óleo disperso no ambiente marinho. Contudo, os dispersantes químicos atuais provocam menos danos ecológicos do que se a mancha de óleo permanecer sem tratamento (SCHRAMM; KLÜPPEL, 2000).

Um dispersante de óleo consiste na mistura de vários produtos químicos. Contudo, os surfactantes agem diretamente como os responsáveis pela dispersão. Neste caso, em virtude de sua estrutura anfipática, solubilizam o óleo através da formação de pequenos agregados conhecidos como micelas, as quais se dispersam na água. Para reduzir a toxicidade de dispersantes no ambiente marinho e aumentar a biodegradação, os biossurfactantes podem ser usados em substituição aos surfactantes químicos em formulações. Os biossurfactantes são metabólitos microbianos que podem ser produzidos a partir de substratos de baixo custo como óleos vegetais e resíduos industriais. Eles exibem vantagens especiais frente aos surfactantes sintéticos como biodegradabilidade, baixa toxicidade e estabilidade frente a condições ambientais extremas de salinidade, temperatura e pH (MULLIGAN et al., 1993).

### **3.6 Surfactantes**

Os surfactantes são compostos anfipáticos contendo porções hidrofílicas e hidrofóbicas que se particionam, preferencialmente, na interface entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade e pontes de hidrogênio, como interfaces óleo/água ou ar/água. A porção apolar é frequentemente uma cadeia hidrocarbonada enquanto a porção polar pode ser iônica (catiônica ou aniônica), não-iônica ou anfotérica (SINGH et al., 2007; MUKHERJEE et al., 2006), como ilustrado na Figura 1. Essas características permitem aos surfactantes reduzir a tensão

superficial e interfacial e formar micro-emulsões onde os hidrocarbonetos possam se solubilizar em água ou onde a água possa se solubilizar em hidrocarbonetos (RON; ROSENBERG, 2002). Tais propriedades possibilitam uma ampla gama de aplicações industriais envolvendo detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante, capacidade molhante, solubilização e dispersão de fases (AL-ARAJI et al., 2012).

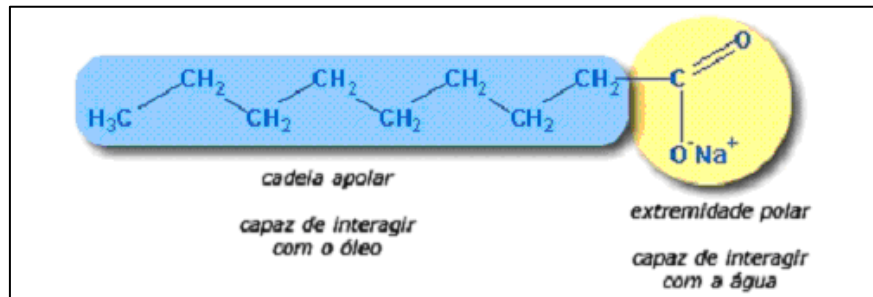
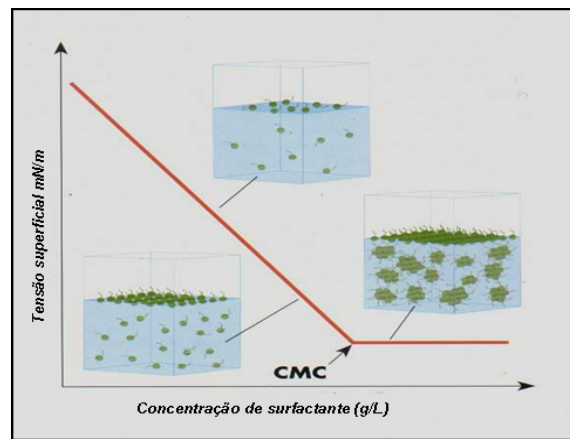


Figura 1 – Estrutura química representativa de um monômero surfactante

Fonte: <http://www.virtuallaboratory.ne> (2010)

A tensão superficial é a força de atração existente entre as moléculas dos líquidos. A tensão superficial diminui quando a concentração de surfactante no meio aquoso aumenta, ocorrendo a formação de micelas, que são moléculas anfipáticas agregadas com as porções hidrofílicas posicionadas para a parte externa da molécula e as porções hidrofóbicas para a parte interna. A concentração dessas micelas forma a Concentração Micelar Crítica (CMC). Esta concentração corresponde à mínima concentração de surfactante necessária para que a tensão superficial seja reduzida ao máximo. Quando a CMC é atingida, várias micelas são formadas (Figura 2) (CORTIS; GHEZZEHEI, 2007; VAN-HAMME et al., 2006).

A eficiência e a efetividade são características básicas essenciais que determinam um bom surfactante. A eficiência é medida através da CMC, enquanto que a efetividade está relacionada com as tensões superficiais e interfaciais (BARROS et al., 2007).



Fonte: <http://www.virtuallaboratory.ne> (2010)

Figura 2 – Gráfico ilustrativo das regiões onde ocorre a formação de micelas (CMC)

### 3.6.1 Biossurfactantes

A grande maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente é sintetizada a partir de derivados de petróleo. Entretanto, a preocupação ambiental entre os consumidores, combinada a novas legislações de controle do ambiente têm levado à procura por surfactantes naturais como alternativa aos produtos existentes (NITSCHKE; PASTORE, 2002).

Vários compostos com propriedades tensoativas são sintetizados por organismos vivos, desde plantas (saponinas) até microrganismos (glicolípídios) e também no organismo humano (sais biliares), sendo considerados surfactantes naturais (MANEERAT, 2005).

Os compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes, isto é, diminuem a tensão superficial e possuem alta capacidade emulsificante, são denominados biossurfactantes e consistem em subprodutos metabólicos de bactérias, leveduras e fungos filamentosos (SINGH et al., 2007).

A maioria dos biossurfactantes conhecida é produzida em substratos insolúveis em água como hidrocarbonetos sólidos e líquidos, óleos e gorduras, embora muitos tenham sido obtidos a partir de substratos solúveis, ou pela combinação destes (VAN-HAMME et al., 2006).

A possibilidade de produção dos biossurfactantes a partir de substratos renováveis e de diferentes espécies microbianas, além da possibilidade de variação de inúmeros parâmetros culturais como tempo de cultivo, velocidade de agitação, pH

do meio e nutrientes adicionados, permite a obtenção de compostos com características estruturais e propriedades físicas distintas, o que os tornam comparáveis ou superiores aos surfactantes sintéticos em termos de eficiência, embora os custos de produção ainda não permitam uma maior competitividade com seus similares petroquímicos (CANET et al., 2002). A CMC dos biossurfactantes (medida de sua eficiência) varia entre 1-2000 mg/L, enquanto que a tensão interfacial (óleo/água) e superficial ficam em torno de 1 e 30 mN/m respectivamente (BOGNOLO, 1999).

Dados sobre a CMC são escassos e, mais uma vez, difíceis de interpretar ou correlacionar. A comparação entre os valores de CMC de biossurfactantes e de seus equivalentes químicos está apresentada na Tabela 4 e mostra CMCs muito mais baixas no caso dos biossurfactantes. Em princípio, quanto menor a CMC, mais eficaz o surfactante e mais favorável, do ponto de vista econômico, a sua utilização em processos industriais (BOGNOLO, 1999).

Tabela 4 – Exemplos de Concentração Micelar Crítica de biossurfactantes e surfactantes químicos

| <b>Agente surfactante</b> | <b>CMC (mg/L)</b> |
|---------------------------|-------------------|
| Fosfatidil etanolaminas   | 30                |
| Ácidos fosfatídicos       | 70                |
| Raminolípídeo             | 20                |
| Surfactina                | 11                |
| Alquil benzeno sulfonato  | 590               |
| Lauril sulfato de sódio   | 2 000 – 2 900     |

Fonte: Bognolo (1999).

### **3.6.1.1 Classificação**

Os surfactantes sintéticos são classificados de acordo com a carga iônica que reside na parte polar da molécula. Em função da presença ou ausência de cargas elétricas, podem ser aniônicos, catiônicos, não-iônicos ou anfotéricos (MANEERAT, 2005; RON; ROSENBERG, 2002).

A maioria dos biossurfactantes é aniônica ou neutra. Apenas alguns são catiônicos, como os que contêm grupamentos amina. A parte hidrofóbica é caracterizada por ácidos graxos de cadeia longa, enquanto que a porção hidrofílica pode ser um carboidrato, um aminoácido, um peptídeo cíclico, fosfato, um ácido carboxílico ou um álcool (BOGNOLO, 1999).

Os biossurfactantes são comumente classificados de acordo com a natureza bioquímica ou com a espécie microbiana produtora. Quanto à estrutura, podem ser classificados em cinco grandes grupos, segundo Rahman & Gakpe (2008):

- Glicolipídeos, cujo grau de polaridade depende dos hidrocarbonetos utilizados como substratos. São exemplos os raminolipídeos produzidos por *Pseudomonas aeruginosa*, e os soforolipídeos produzidos por espécies de *Candida*.
- Lipossacarídeos, os quais normalmente possuem massa molar elevada e são solúveis em água, como o conhecido Emulsão, emulsificante extracelular produzido por hidrocarbonetos a partir da bactéria *Acinotobacter calcoaceticus*.
- Lipopeptídeos, como a surfactina, produzida por *Bacillus subtilis*, um dos biossurfactantes mais poderosos já relatados na literatura.
- Fosfolipídeos, estruturas comuns a muitos microrganismos, como o biossurfactante de *Corynebacterium lepus*.
- Ácidos graxos e lipídeos neutros (alguns classificados como glicolipídeos) e proteínas hidrofóbicas.

### 3.6.1.2 Microrganismos produtores

Uma grande variedade de microrganismos, incluindo bactérias, leveduras e fungos filamentosos é capaz de produzir biossurfactantes com diferentes estruturas moleculares (DELEU; PAQUOT, 2004).

As bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus* são descritas na literatura como grandes produtoras de biossurfactantes. Os raminolipídeos produzidos por *Pseudomonas aeruginosa* (GUERRA-SANTOS et al., 1984) têm sido extensivamente estudados (ROBERT et al., 1989). A composição e os rendimentos



dependem do tipo do fermentador, do pH, da composição dos nutrientes, dos substratos e das temperaturas utilizadas (MULLIGAN, 2005).

Os *Bacillus subtilis* são produtores de lipopeptídeos, como a chamada surfactina, a qual contém sete aminoácidos ligados aos grupos carboxila e hidroxila do ácido C14 (KAKINUMA et al., 1969). Concentrações de surfactina menores que 0,005 % reduzem a tensão superficial para 27 mN/m, tornando o surfactina um dos mais poderosos biossurfactantes. A solubilidade e a capacidade surfactante da surfactina, por outro lado, depende do tipo de resíduo utilizado como substrato (HUE et al., 2001).

Entre as leveduras, espécies de *Candida* têm sido largamente empregadas com sucesso na fermentação de hidrocarbonetos e, conseqüentemente, para produção de biossurfactantes. Em 1979, Pareilleux observou a presença de um polímero extracelular por *C. lipolytica* com propriedades emulsificantes, quando esta foi cultivada em n-tetradecano ou na mistura de hidrocarbonetos lineares. Os polímeros recuperados do líquido metabólico demonstraram serem moléculas complexas, constituídas por uma fração lipídica, uma protéica e outra por carboidratos, sendo esta última, em maior quantidade. Cirigliano e Carman (1985) isolaram, inicialmente, um bioemulsificante produzido por *C. lipolytica* cultivada em meio contendo n-hexadecano, demonstrando perspectivas e potencial para uso em sistemas alimentares, enquanto que Marçal (1991) demonstrou a produção de biopolímeros por *C. lipolytica* com alta atividade de emulsificação utilizando substratos regionais. Sarubbo et al. (1999; 2001) também utilizaram a *C. lipolytica* na produção de agentes surfactantes em meios contendo óleo vegetal de babaçu e glicose como substratos. Sarubbo et al. (2006; 2007) demonstraram a possibilidade de combinação entre duas fontes, uma solúvel e outra insolúvel, para a produção de biossurfactantes por espécies de *Candida* enquanto que Rufino et al. (2007; 2008) e Coimbra et al. (2009) aplicaram com sucesso um resíduo industrial de óleo de soja na produção de um biossurfactante por *Candida lipolytica*.

A Tabela 5 resume as principais classes de biossurfactantes e os respectivos microrganismos produtores descritos na literatura.

Tabela 5 - Principais classes de biossurfactantes e microrganismos produtores

| <b>Classe / Tipo de Biossurfactante</b>                | <b>Microrganismo</b>                               |
|--|--|
| <b>Glicolipídeos</b>                                   |  |
| -ramnolipídeos   | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                      |
| -soforolipídeos  | <i>Torulopsis bombicola, T. apicola</i>            |
| -trealolipídeos  | <i>Rhodococcus erythropolis, Mycobacterium sp.</i> |
| <b>Lipopeptídeos e lipoproteínas</b>                   |  |
| -Peptídeo-lipídeo                                      | <i>Bacillus licheniformis</i>                      |
| -Viscosina   | <i>Pseudomonas fluorescens</i>                     |
| -Serrawetina   | <i>Serratia marcescens</i>                         |
| -Surfactina  | <i>Bacillus subtilis</i>                           |
| -Subtilisina   | <i>Bacillus subtilis</i>                           |
| -Gramicidina   | <i>Bacillus brevis</i>                             |
| -Polimixina  | <i>Bacillus polymyxa</i>                           |
| <b>Ácidos graxos, lipídeos neutros e fosfolipídeos</b> |  |
| -Ácidos graxos   | <i>Corynebacterium lepus</i>                       |
| -Lipídeos neutros                                      | <i>Nocardia erythropolis</i>                       |
| -Fosfolipídeos   | <i>Thiobacillus thiooxidans</i>                    |
| <b>Surfactantes poliméricos</b>                        |  |
| -emulsan   | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>                 |
| -biodispersan  | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>                 |
| -liposan   | <i>Candida lipolytica</i>                          |
| -carboidrato-lipídeo-proteína                          | <i>Pseudomonas fluorescens</i>                     |
| -manana-lipídeo-proteína                               | <i>Candida tropicalis</i>                          |
| <b>Surfactantes particulados</b>                       |  |
| -vesículas   | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>                 |
| -células   | Várias bactérias                                   |

Fonte: Muthusamy et al. (2008).

### 3.6.1.3 Propriedades

As propriedades físicas e químicas dos biossurfactantes, como redução da tensão superficial, capacidade espumante, capacidade emulsificante e estabilizante, concentrações micelares críticas baixas, solubilidade e poder detergente são muito importantes na avaliação de seu desempenho e na seleção de microrganismos com potencial de produção destes agentes (DELEU; PAQUOT, 2004).

Apesar da diversidade de composição química e de propriedades, algumas características são comuns à maioria dos biossurfactantes. Muitas dessas características representam vantagens sobre os surfactantes convencionais (NITSCHKE, 2007):

- Atividade superficial e interfacial: os biossurfactantes são mais eficientes e mais efetivos do que os surfactantes convencionais, pois produzem menor tensão superficial a menores concentrações. A CMC dos biossurfactantes (medida de sua eficiência) varia entre 1-2000 mg/L, enquanto que a tensão interfacial (óleo/água) e superficial fica em torno de 1 e 30 mN/m respectivamente;
- Tolerância à temperatura, pH e força iônica: muitos biossurfactantes podem ser utilizados sob condições extremas. O lipopeptídeo de *Bacillus licheniformis* JF-2, por exemplo, é estável a temperaturas em torno de 75 °C, por até 140 horas e pH entre 5 e 12. Os biossurfactantes suportam concentrações de 10 % de sal, enquanto que 2 % de NaCl são suficientes para inativar surfactantes convencionais;
- Biodegradabilidade: os biossurfactantes são facilmente degradados por bactérias e outros microrganismos microscópicos na água e no solo, o que os torna adequados para aplicações na biorremediação e tratamento de resíduos;
- Baixa toxicidade: os biossurfactantes têm recebido maior atenção devido à crescente preocupação da população com os efeitos alérgicos dos produtos artificiais; além disso, sua baixa toxicidade permite o uso em alimentos, em cosméticos e em produtos farmacêuticos;
- Disponibilidade: biossurfactantes podem ser produzidos a partir de matérias-primas largamente disponíveis, além da possibilidade de serem produzidos a partir de resíduos industriais;

- Especificidade: biossurfactantes, sendo moléculas orgânicas complexas com grupos funcionais específicos também serão específicos em suas ações. Essa propriedade pode ser de grande interesse da detoxificação de poluentes específicos ou em determinadas aplicações nas indústrias farmacêutica, cosmética ou alimentícia; e
- Biocompatibilidade e digestibilidade, o que garante a aplicação dessas biomoléculas nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia.

A despeito das vantagens, alguns pontos desfavoráveis devem ser citados, como (RAHMAN; GAKPE, 2008):

- A produção em grande escala de biossurfactantes pode ser dispendiosa. Esse problema, entretanto, pode ser resolvido pela combinação de substratos de baixo custo;
- A obtenção de produtos com elevado grau de pureza, que se torna difícil em virtude da necessidade de etapas consecutivas de purificação do líquido metabólico;
- A existência de espécies superprodutoras são raras e as conhecidas não são capazes de produzir altos rendimentos em surfactantes, além de necessitarem meios de cultivo complexos;
- A regulação da síntese de biossurfactantes não está totalmente compreendida, uma vez que essas biomoléculas podem ser produzidas como metabólitos secundários ou em associação ao crescimento microbiano;
- O aumento da produtividade é muitas vezes prejudicado pela formação de espuma, o que requer a utilização de meios diluídos.

#### **3.6.1.4 Aplicações**

A produção mundial de surfactantes somou 17 milhões de toneladas em 2000, esperando-se um aumento da ordem de 3 a 4 % ao ano. As aplicações industriais são classificadas de acordo com seus usos: 54 % como detergentes, 13 % nas indústrias têxteis, de couro e de papel, 10 % em processos químicos, outros 10 % nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos, 3 % na indústria de alimentos, 2 % na agricultura e os 2 % restantes em outras aplicações (MUTHUSAMY et al., 2008).

A Tabela 6 descreve os campos de aplicação para os biossurfactantes.

Tabela 6 – Aplicações industriais dos biossurfactantes

| <b>Indústria</b> | <b>Aplicação</b>                 | <b>Papel dos biossurfactantes</b>  |
|------------------|----------------------------------|--|
| Petróleo         | Recuperação avançada de óleos    | Aumento da drenagem de óleo em poços perfurados; estimulação da liberação de óleo entranhado por forças capilares; redução da viscosidade; molhabilidade de superfícies sólidas; redução da viscosidade de óleos; redução da tensão interfacial; solubilização de óleos; |
|                  | Desemulsificação                 | Desemulsificação de emulsões oleosas, sequestro de metais pesados; redução da tensão interfacial; agente de molhabilidade  |
| Ambiental        | Biorremediação                   | Emulsificação de hidrocarbonetos; redução da tensão interfacial; sequestro de metais;  |
|                  | Remediação de solos              | Emulsificação através da aderência a hidrocarbonetos; dispersantes; agentes espumantes; detergentes;   |
| Alimentos        | Emulsificação e desemulsificação | Emulsificantes; estabilizantes; desemulsificantes; suspensão; solubilizantes; espumantes; inibidores de espumas; amaciantes; lubrificantes   |
|                  | Ingrediente funcional            | Interação com lipídeos, proteínas e carboidratos;  |
| Biológica        | Microbiológica                   | Função fisiológica como mobilidade celular, acesso a nutrientes, competição célula-célula, patogênese em plantas e animais;  |
|                  | Farmacêutica e terapêutica       | Antibacterianos; antifúngicos; agentes antivírus; vacinas; mecanismos de adesão;   |
| Agricultura      | Biocontrole                      | Facilitadores de mecanismos de biocontrole de micróbios como parasitismo e competição;   |
| Bioprocessamento | “Downstream”                     | Biocatálise em sistemas bifásicos aquosos e em emulsões; biotransformações; recuperação de compostos intracelulares; aumento da produção de metabólitos fermentativos e enzimas extracelulares;  |
| Cosmética        | Produtos de beleza e saúde       | Emulsificantes; solubilizantes; espumantes; agentes microbianos, mediadores de ação enzimática.  |

Fonte: Muthusamy et al. (2008)

Devido às diversas estruturas e propriedades, os biossurfactantes apresentam aplicação em vários processos industriais, além da possibilidade de novas aplicações para estas biomoléculas. Acredita-se que os biossurfactantes ficarão conhecidos como os “materiais multifuncionais” do novo século (RAHMAN; GAKPE, 2008).

O derramamento de óleos ocorridos durante o seu transporte ou na construção de oleodutos afeta drasticamente as regiões costeiras e praias, sendo hoje uma das maiores causas de catástrofes ecológicas e sociais no mundo (MUTHUSAMY et al., 2008).

Até o presente momento, os biossurfactantes têm sido usados principalmente nas indústrias de óleos, incluindo a limpeza de derramamento de óleos, a remoção de óleos de tanques de estocagem, a recuperação avançada de petróleo e a biorremediação de solos (GAUTAM; TYAGI, 2006; SINGH et al., 2007).

#### **3.6.1.4.1 Aplicação na indústria de petróleo**

Biorremediação é a habilidade de organismos vivos em transformar ou mineralizar contaminantes orgânicos gerando substâncias menos nocivas, que possam ser integradas ao ciclo biogeoquímico natural. Contudo, a biodegradabilidade desses contaminantes é influenciada por fatores como oxigênio, pH, presença de macro e micro-nutrientes, características físico-químicas do histórico da poluição do contaminante ambiental e das partículas de solo ou outras às quais os organismos e contaminantes possam estar adsorvidos (MULLIGAN, 2009; MARGESIN; SCHINNER, 2002).

As substâncias contaminantes apresentam diferentes grupos funcionais tais como OH, Cl, NH<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> e SO<sub>3</sub>. Esses, por sua vez, comportam-se como doadores de elétrons sendo oxidados ou, em alguns casos, mineralizados por diferentes espécies microbianas. Alguns dos metabólitos intermediários produzidos nessas reações são assimilados como fonte de carbono para o crescimento microbiano (MARGESIN; SCHINNER, 2002).

A biorremediação utilizando microrganismos ou processos microbianos em ambientes contaminados tem inúmeras aplicações incluindo a limpeza de águas

subterrâneas, solos, lagos e processos de tratamento de esgotos. Essa é uma tecnologia bem aceita pela opinião pública na recuperação de ambientes poluídos não afetando o equilíbrio ecológico, já que as bactérias, os fungos filamentosos e as leveduras são agentes transformadores eficazes, face as suas habilidades em degradar uma ampla diversidade de substâncias orgânicas (CALVO et al., 2009; DESAI; BANAT, 1997).

Como os biossurfactantes aumentam a interação água/óleo, aceleram a degradação de vários óleos por microrganismos e promovem a biorremediação de águas e solos contaminados (MULLIGAN, 2005). A capacidade dos surfactantes em emulsificar e dispersar hidrocarbonetos em água aumenta a degradação desses compostos no ambiente. Os biossurfactantes também são úteis na biorremediação de locais contaminados com metais pesados tóxicos como urânio, cádmio e chumbo e na remoção de piche após a introdução de *Pseudomonas*, *Arhtrobacter*, e *Bacillus subtilis*, demonstrando resultados promissores (NITSCHKE; PASTORE, 2002).

Pesquisas com consórcios microbianos e raminolipídeos demonstraram o potencial de biorremediação de hidrocarbonetos de petróleo (RAHMAN et al., 2006). A aplicação do raminolipídeo de *Pseudomonas aeruginosa* DS10-129 aumentou a biorremediação de gasolina adsorvida em solo (RAHAMN et al., 2002).

Alguns estudos demonstraram o aumento da biodisponibilidade de compostos aromáticos pouco solúveis como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAS) pelo uso de biossurfactantes (MULLIGAN, 2005; SINGH et al., 2007).

A utilização de biossurfactantes na biodegradação de pesticidas vem sendo objeto de investigação. A degradação de hexaclorociclohexano por surfactantes produzidos por *Pseudomonas* foi primeiramente relatada, bem como a dos organoclorados como DDT e ciclodienos (KARANTH et al., 1999).

A aplicação de biossurfactantes no tratamento de resíduos oleosos torna-se um dos pré-requisitos importantes para que ocorram interações entre os resíduos e a célula microbiana, devido à redução da tensão superficial mediada entre o óleo e a fase aquosa (HUA et al., 2003; CALVO et al., 2009).

A utilização de biossurfactantes para a limpeza de tanques, em substituição aos surfactantes convencionais, promoveu a limpeza e recuperação de 90 % dos

hidrocarbonetos presentes no resíduo (MULLIGAN, 2004). A remoção de resíduos e frações de óleos pesados requer lavagens com solventes ou mesmo manuais, ambas perigosas, demoradas e caras já que os resíduos e as frações de óleos pesados que sedimentem no fundo dos tanques são altamente viscosos e podem não serem removidos através de bombeamento convencional. Um processo alternativo a esta limpeza é o uso de biossurfactantes que promovem a diminuição na viscosidade e a formação de emulsões óleo/água, facilitando o bombeamento dos resíduos e a recuperação do óleo cru, após quebra da emulsão (SINGH et al., 2007; MULLIGAN 2004).

Segundo Desai e Banat (1997) a recuperação de óleos utilizando biossurfactantes constitui atualmente uma importante estratégia para a indústria do petróleo, uma vez que microorganismos e produtos de seu metabolismo são utilizados para aumentar a recuperação do petróleo. Este processo conhecido como “MEOR” (Microbial Oil Recovery Enhancement), recuperação avançada de óleo, apresenta vantagens importantes em relação aos métodos convencionais. Os surfactantes alteram algumas características físico-químicas do petróleo, facilitando ou aumentando sua remoção nos poços (SINGH et al., 2007).

#### **3.6.1.4.2 Mecanismo de dispersão de óleos por surfactantes**

Os surfactantes são aplicados diretamente dentro da mancha de óleo. Solventes facilitam a mistura dos surfactantes com o óleo para atingir a interface óleo-água onde eles podem iniciar a dispersão. Moléculas surfactantes se concentram na interface óleo-água com a porção hidrofóbica na fase oleosa e a porção polar em água (HASHIM et al., 2011).

Os surfactantes reduzem a tensão interfacial dispersando o óleo na água concentrando-se na interface (Figura 3).



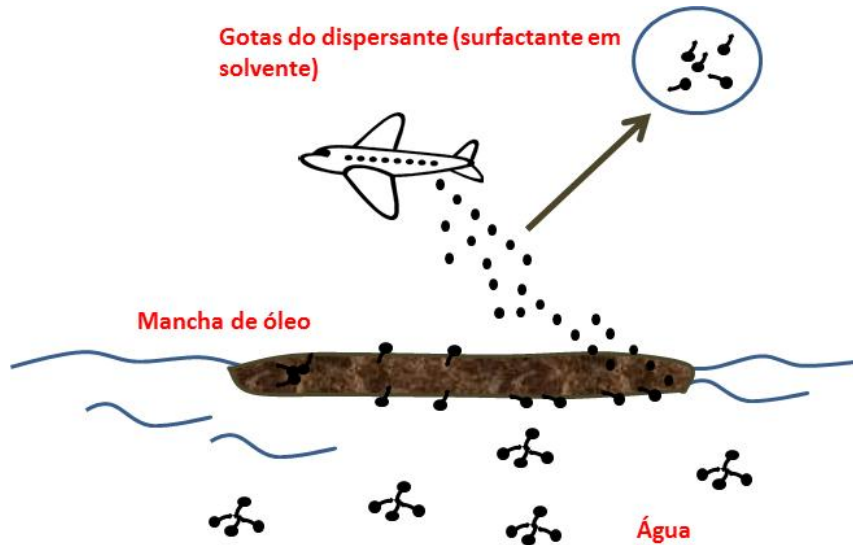


Figura 3 - Mecanismos de dispersão de óleos por dispersantes

Fonte: [www.rcambiental.com.br](http://www.rcambiental.com.br) (2011)

Os surfactantes solubilizam o óleo acomodando o óleo em suas micelas. Micelas formam monocamadas nas interfaces óleo-água com suas porções hidrofílicas em direção à água. Os surfactantes na verdade pseudosolubilizam o óleo (SILVA et al., 2010).

Os dispersantes também previnem a formação da emulsão água em óleo (mousse de chocolate). O conteúdo em água no mousse o torna mais viscoso e mais difícil de quebrar. Um mousse de chocolate é uma emulsão estável a qual precisa ser desemulsificada antes da dispersão do óleo. Resinas, asfaltenos, ceras e parafinas agem como emulsificantes naturais que formam e estabilizam emulsões água em óleo. Os surfactantes agem como desemulsificantes e neutralizam seus efeitos. Os surfactantes fazem um filme ao redor da gota de óleo menos viscosa facilitando sua ruptura e resultando na coalescência da gota em água. Emulsões mais velhas são mais difíceis de serem rompidas porque elas se tornam mais e mais estáveis, menos fáceis de quebrar. Consequentemente, quanto mais cedo o dispersante for aplicado, mais fácil será sua atuação (HASHIM et al., 2011).

### 3.6.1.4.3 Mecanismo de estabilização das emulsões por surfactantes

As moléculas de surfactantes fazem um filme projetivo ao redor da gota que aumentam a viscosidade da gota. A viscosidade da superfície reduz a taxa de ruptura da superfície e prevenir a união das gotas óleo-óleo.

As moléculas de surfactantes iônicos nas micelas ficam orientadas com suas cabeças iônicas voltadas para a água. Quando duas superfícies carregadas se aproximam, suas camadas eletrônicas se sobrepõem e aumentam suas forças eletrostáticas repulsivas. As forças repulsivas criadas estabilizam então as gotas dispersas (Figura 4).

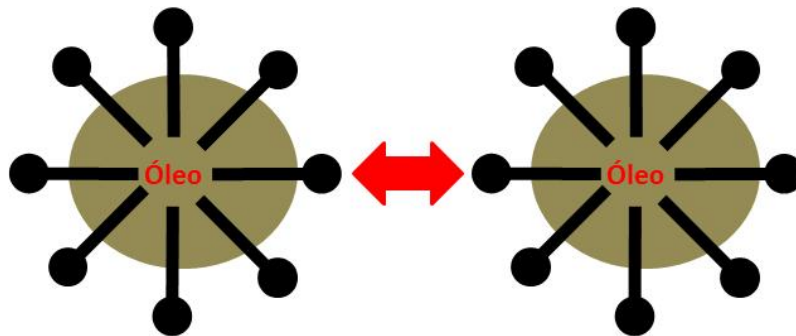


Figura 4 – Mecanismo de estabilização de uma emulsão por moléculas de surfactantes aniônicos

Fonte: Myers (1999).

Em misturas de surfactantes com diferentes HLB, a estabilidade da emulsão é aumentada acentuadamente. A presença de duas espécies surfactantes produzem tensões interfaciais muito baixas e aumentam a adsorção efetiva dessa combinação. A adsorção da mistura de surfactantes na interface óleo-água forma um complexo na interface e produz um filme interfacial muito forte, o qual não será facilmente rompido e isso estabiliza a emulsão mais do que ambos materiais sozinhos (Figura 5).

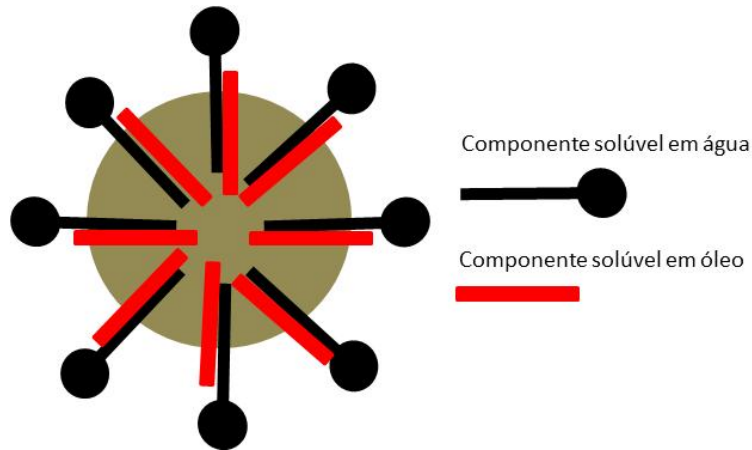


Figura 5 – Mecanismo de estabilização de uma emulsão por dois surfactantes de diferentes solubilidades em água

Fonte: Myers (1999).

### 3.6.1.5 Desemulsificação

Quando se mistura mecanicamente a água o óleo é possível produzir uma suspensão de gotículas de óleo em água, ou uma emulsão (CASTELLAN, 1986). O que ocasiona a formação de uma emulsão é a grande tensão interfacial entre água e óleo, acompanhada pela existência de grandes áreas interfaciais, além do fornecimento de energia de Gibbs através da agitação (DEL COLLE, 2005).

A partir da formação de uma emulsão, esta pode ser estável ou instável; neste último caso, haverá a desemulsificação. Esta desestabilização pode ser ocasionada devido à adição de reagente químico natural (biossurfactantes) ou agentes sintéticos, onde se torna necessária a aplicação de técnicas como decantação, centrifugação e flotação antes da separação completa do óleo (NABI et al., 2000).

### 3.6.1.6 Perspectivas de utilização

Muitas das potenciais aplicações dos biossurfactantes, bem como uma expansão dos poucos já firmados no mercado dependem da possibilidade de um processo de produção econômico. Muito trabalho ainda será necessário para a otimização de processos a nível biológico e de engenharia (BANAT, 2010).

Os custos típicos dos biossurfactantes variam de cerca de 10 \$/mg para surfactina pura (98 % de pureza), utilizada em pesquisas médicas, a U.S. 24 \$/kg para fórmulas de emulsão propostas no início da década de 1980 para limpeza de tanques e/ou recuperação avançada de petróleo. Estimativas realizadas na década passada situaram os custos dos biossurfactantes em U.S. 3-20 \$/kg, enquanto o custo de produção de surfactantes sintéticos como etoxilatos e alquil-poliglicosídeos pelas indústrias químicas estão na faixa de U.S. \$ 1-3/kg (BOGNOLO, 1999).

Embora se admita que o aperfeiçoamento da tecnologia de produção dos biossurfactantes já tenha possibilitado um aumento de 10 a 20 vezes da sua produtividade, é provável que novos e significativos progressos (ainda que de uma ordem de magnitude inferior) sejam necessários para tornar essa tecnologia comercialmente viável (GAUTAM; TYAGI, 2006).

Os parâmetros que podem ser variados na tentativa de otimizar a produção de biossurfactantes incluem:

- a) Seleção de matérias-primas de baixo custo, possibilitando o equilíbrio adequado de C, N, P e outros oligoelementos para maximização do rendimento e o desenvolvimento de cepas de microrganismos capazes de metabolizar qualquer subproduto residual.
- b) Bioprocessamento, que pode ser otimizado por meio das condições operacionais do reator e da reciclagem do meio utilizado.
- c) Isolamento/recuperação do produto: a maioria das tecnologias inicialmente propostas envolvia formas mais elaboradas de purificação e isolamento. A possibilidade de desenvolvimento *in-situ* ou a utilização de líquidos metabólicos, ou seja, do biossurfactante bruto, pode, sem dúvida, conduzir a uma redução substancial de custos (BOGNOLO, 1999).

#### **3.6.1.6.1 Resíduos industriais como substratos promissores para a produção de biossurfactantes**

Uma variedade de subprodutos, incluindo derivados de óleo vegetais, resíduos de amido, resíduos de destilaria de óleos e substâncias lácteas têm sido utilizados na produção de metabólicos microbianos. A disponibilidade e o tipo de matéria-prima

podem contribuir consideravelmente para o custo de produção (BANAT, 2010). Estima-se que a utilização de matéria-prima está diretamente relacionada com o custo de obtenção de um produto biotecnológico sendo responsável por cerca de 10 a 30 % no valor agregado final do produto (MUKHERJEE et al., 2006). Por outro lado, a cada ano, uma grande quantidade de resíduos poluentes é desperdiçada com o descarte inadequado em diferentes lugares do mundo. A remoção e o tratamento destes resíduos também representam um alto custo nos diferentes setores industriais (PANDEY et al., 2000).

Barros e colaboradores (2007) descreveram a importância da variedade de resíduos industriais como matéria-prima para diversos bioprocessos. Eles descreveram a utilização de resíduos agroindustriais para produção de biossurfactantes como um dos passos para viabilização e implantação desses processos em escala industrial, sendo necessário o estudo de diferentes condicionantes para o desenvolvimento de condições adequadas para sua aplicação.

Muitos biossurfactantes têm sido produzidos a partir de substratos agroindustriais, renováveis e de baixo custo. Pode-se citar alguns substratos utilizados e descritos na literatura, entre eles os óleos vegetais, os efluentes oleosos como o efluente de amido (BARNETT et al., 1999; CHRISTEN et al., 2000; FOX; BALA, 2000; THOMPSON et al., 2000); Efluente de Óleo de Oliva Verde (OOME) (MERCADÉ et al., 1993; HAMMAN et al., 1999; MARQUES, 2001); gordura animal (DESHPANDE; DANIELS, 1995; MANEERAT, 2005); resíduos de fritura de óleos vegetais (HABA et al., 2000; ALCANTARA et al., 2000; MANEERAT, 2005); borra de sabão (SHABTAI, 1990; BENINCASA et al., 2002; MANEERAT, 2005); melão de cana (MAKKAR; CAMEOTRA, 1997; LAZARIDOU et al., 2002; KALOGIANNIS et al., 2003; GHURYE; VIPULANANDAN, 1994); resíduos da indústria de laticínios (soro de leite); resíduos de destilaria de óleos e glicerina (MAKKAR; CAMEOTRA, 2002).

A seleção do substrato depende da escolha de um resíduo com um adequado balanço de nutrientes necessário ao crescimento do microrganismo e à produção do biossurfactante. Os resíduos industriais com elevado valor de carboidratos ou lipídios encontrados são elementos necessários para o uso como substratos para

produção de biossurfactantes (BARROS et al., 2007; MAKKAR, CAMEOTRA, 1998; MERCADÉ et al., 1994).

Nesse sentido, os resíduos industriais têm despertado grande interesse dos pesquisadores, como alternativa energética de baixo custo, para a produção de biossurfactantes.

### **3.7 Legislação Ambiental**

A preocupação em relação ao uso dos recursos hídricos tem levado os órgãos de controle ambiental a estipular limites ainda mais rígidos para o descarte de efluentes industriais a partir da legislação já existente.

Diversos órgãos ambientais foram criados com o intuito de estabelecer e fiscalizar o descarte de efluentes no Brasil, podendo ser exaltada a criação do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), um órgão consultivo e deliberativo que integra o Sistema Nacional do Meio Ambiente (SISNAMA), segundo Albuquerque (2010).

A resolução CONAMA nº 357 de 17 de abril de 2005 classifica os corpos de água e estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes (BRASIL, 2005), a qual no caso de efluente oleoso é de, no máximo, 20 ppm. Têm sido, portanto, realizadas pesquisas por novas tecnologias de tratamento de efluentes visando atender à legislação e à necessidade de reúso das águas residuárias, sejam industriais ou domésticas.

### **3.8 Água Industrial**

O elemento água é uma substância única que ocorre naturalmente nos três estados físicos. É um componente importantíssimo, responsável por vários processos e acima de tudo, pela vida na terra (IMHOFF; IMHOFF, 1996).

A água por ser muito utilizada na indústria, acaba tendo vários destinos, sendo alguns desses para resfriamento de equipamentos, geração de energia, transportes, lavagens de pisos/máquinas e outras aplicações (RITCHER; NETTO, 2003).

### **3.8.1 Águas Residuárias**

Águas residuais ou residuárias são todas as águas descartadas que resultam de processos, sendo eles, industrial, doméstico, infiltração, etc. Transportam uma quantidade apreciável de materiais poluentes que se não forem retirados podem prejudicar a qualidade das águas dos rios, comprometendo todo o ecossistema e as suas posteriores utilizações (MONTE; ALBUQUERQUE, 2010).

As águas residuárias oleosas podem ocorrer nos estágios de produção, transporte, manutenção das instalações, bem como derramamento durante a utilização de derivados de petróleo e seus derivados. O descarte ou até mesmo a reinjeção da água oleosa só é permitido após a remoção do óleo e sólidos em suspensão em níveis aceitáveis (RAMALHO, 1992).

A reutilização destes efluentes provenientes dos processos industriais se torna cada vez mais comum, tendo em vista o apelo ambiental e econômico dessa prática, uma vez que há incentivos financeiros para quem a aplica, além de reduzir os custos de produção e agregar valor de sustentabilidade à empresa (MIRRE, 2012).

## **3.9 Separação por Flotação**

A flotação visa à retirada de materiais particulados que estão flutuando ou em suspensão no meio líquido. É um processo físico muito usado na limpeza ou clarificação de efluentes. A flotação deve ser utilizada na remoção principalmente de óleos graxos e ou detergentes vindos das petroquímicas, lavanderias, termelétricas, entre outras, que durante o seu processo misturem óleo e água (EDZWALD, 2010). A flotação não deve ser aplicada aos efluentes com óleos emulsionados, a não ser que os efluentes tenham sido coagulados previamente. Normalmente o processo de flotação é usado para a remoção de partículas finas, partículas que não conseguiram ser retiradas durante as primeiras etapas do processo e precisam de um nível de separação mais rigorosa, onde o material flotado será retirado através de uma raspagem superficial.

No início do século XX, a técnica de flotação como processo de separação obteve aplicação na área de processamento de minérios, sendo depois expandida

para a área de papel e celulose (REALI, 1991). Com o desenvolvimento do setor industrial, a aplicação do processo de flotação começou a ser difundido em refinarias, indústrias de curtumes, mecânicas, petroquímicas, no tratamento de águas para abastecimento, entre outros (VALENTINE; CARAWAN, 1996). Neste contexto, se fez necessário o aperfeiçoamento da técnica inicial ocasionando a criação do processo de flotação por ar dissolvido (FAD). Atualmente, no setor industrial o processo FAD vem sendo bastante usado como pré-tratamento de efluentes industriais com grande concentração de substâncias insolúveis como gorduras, óleos e graxas (METCALF; EDDY, 2003).

### **3.10 Flotação por Ar Dissolvido**

A flotação ou flutuação de partículas por ar dissolvido FAD ocorre por conta da saturação que surgirá em forma de microbolhas que podem variar de 50 a 100  $\mu\text{m}$  (RUBIO et al., 2002). Essas partículas em suspensão irão se aderir às bolhas e flutuarão até a superfície para serem removidas por escoamento superficial ou raspagem superficial.

Segundo Fonseca (2010), a flotação surgiu como um eficiente processo de tratamento de efluentes oleosos, pois é uma operação unitária utilizada para a separação de uma fase sólida ou líquido emulsionada em uma fase líquida, através da introdução de pequenas bolhas de gás, as quais aderindo à superfície das partículas aumentam seu empuxo, provocando assim, a ascensão das mesmas, em direção à superfície da fase líquida, podendo então ser devidamente coletadas. Essa combinação de técnicas deverá reduzir ao máximo o tempo de recuperação do elemento impactado e, sobretudo, não interferir no estado estacionário que deve reger o funcionamento do sistema afetado (BENCKE, 1987). Para isso, fazem-se 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 (ZLOKARNIK, 1991). Dessa forma, existe a necessidade de analisar o processo e suas variáveis levando em consideração a escala de trabalho adotada.



A tecnologia de FAD é emergente, quando proposta para auxiliar o processo de dessalinização de água do mar antes da utilização da osmose reversa. O sucesso do FAD depende de um número de processos físicos relativos ao movimento das microbolhas e partículas através da água, além da dissolução e precipitação de ar. Estes processos têm sido estudados com mais detalhes em relação à clarificação de água doce e o desenvolvimento de um equipamento com design robusto (EDZWALD; HAARHOFF, 2012).

Os princípios básicos de funcionamento do FAD são bastante simples, pois se resumem ao contato das partículas sólidas com as bolhas de ar dissolvidas no líquido e no seu conseqüente arraste para a superfície do líquido; contudo é necessário observar alguns parâmetros essenciais para o êxito do processo.

### **3.10.1 Distribuição do tamanho das bolhas**

A distribuição das bolhas em uma unidade de FAD depende fundamentalmente da taxa de aglutinação das microbolhas formadas devido à liberação dos gases dissolvidos no líquido da recirculação. Diversos fatores influem nesse processo, com destaque para a pressão no interior da câmara de pressurização que pode variar entre 2 a 5 kgf/m<sup>2</sup> (CUNHA, 2007). Normalmente, a distribuição de tamanho das gotas variam em função da pressão.

A literatura reporta que a faixa usual de tamanho de microbolhas para o FAD é de 10 a 120 µm sendo o tamanho médio na faixa de 40 a 60 µm (MORUZZI; REALI, 2007). Da mesma maneira, Aisse et al. (2001) recomendam o tamanho das bolhas na faixa de 10 a 100 µm, sendo desejável que a maior parte esteja em torno de 50 µm.

### **3.10.2 Taxa de recirculação**

A taxa de aplicação superficial também pode ser considerada um parâmetro fundamental para o bom desempenho do processo de flotação, pois está diretamente relacionada com a velocidade ascensional das bolhas de ar. Experiências realizadas na Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de

São Paulo, para aplicação do FAD no tratamento de efluentes de reatores anaeróbios, citadas por Aisse et al. (2001) e Reali et al. (2000), foram realizadas com taxas de aplicação superficial variando de 70 a 375 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.dia, apresentando velocidades de flotação entre 5 e 25 cm/min.

### **3.10.3 Dosagem de coletores**

O grau de clarificação do efluente final depende da quantidade utilizada de coletores, normalmente com características coagulantes, e do cuidado com que o processo é operado. As dosagens de coagulantes necessárias a uma boa floculação variam de acordo com o pH e com as concentrações de sólidos na água a ser tratada, sendo possível obter efluentes bastante clarificados, livres da matéria orgânica em suspensão ou em estado coloidal (RUBIO et al., 2002).

## **3.11 Sistema de flotação em escala piloto**

No processo de FAD, a flotação ocorre devido o auxílio proporcionado pela injeção de microbolhas de ar no fundo da câmara de flotação. Estas microbolhas se aderem às partículas sólidas (flocos), formando compostos de “partícula-gás” com densidade menor que a do líquido, possibilitando, assim, que haja a adsorção do poluente e a posterior flotação, através da formação de uma espuma oleosa (ROCHA E SILVA, 2013a).

Sendo um processo simples, onde o afluente (água industrial ou água do mar) passa por uma bomba de recirculação em que o óleo lubrificante é misturado com mesmo fluido de entrada, e através de agitadores mecânicos é simulada a formação de emulsão no processo. Após a mistura da emulsão, a água oleosa passa por um misturador estático para só então seguir para a primeira câmara de flotação, onde as microbolhas de ar são injetadas (formando uma nevoa) visando promover a aderência ar/óleo, e conseqüentemente, a flotação até a superfície. A espuma oleosa formada é removida por raspadores e a água livre de óleo segue para a segunda câmara para garantir que o teor de óleo do efluente encontra-se dentro nas

normas estabelecidas pelo CONAMA, e assim possibilitar o descarte adequado e/ou o reuso da água tratada.

Parâmetros como a medição da bomba de microbolhas, medição e controle da bomba dosadora de óleo tem que ser controlados por rotâmetros, visando manter o nível de água no processo além de manter a pressão a níveis estabelecidos, garantindo uma boa separação água/óleo (CRESPILHO; RESENDE, 2004).

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIP - **Australian Institute of Petroleum**. Canberra, 2001. Disponível em: <<http://www.aip.com.au/>>. Acesso em: 13 jun. 2012.
- AL-ARAJI, L.; RAHMAN, R. N. Z. R. A.; BASRI, M.; SALLEH, A. B. Microbial Surfactants. **Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology**, v. 15, p. 99-105, 2012.
- ALBUQUERQUE, C. F. **Avaliação do potencial de tratamento de efluente ácido de mina por flotação frente à ação de coletores naturais e sintéticos**. Recife, 2010.p.58.Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Eng. Química), universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2010.
- ALCÂNTARA, R.; AMORES, J.; CANOIRA, L.; FIDALGO, E.; FRANCO, M. J.; NAVARRO, A. Catalytic production of biodiesel from soy-heat oil, used frying oil and tallow. **Biomass and Bioenergy**, v. 18, p. 515-527, 2000.
- AISSE, M. M.; JÜRGENSEN, D. ; REALI, M. A. P.; PENETRA, R.; FLORÊNCIO, L.; SOBRINHO, P. A. Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios por Sistemas de Aeração. In: CHERNICHARO, C. A. L.; *Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios*. FINEP/PROSAB, p.544, 2001.
- ARAÚJO, Leandro dos Reis, 2004. Análise sobre a Atratividade do Upstream da Indústria de Petróleo Brasileira (1997 - 2003). Disponível em: <http://www.gee.ie.ufrj.br>. Acesso em: Novembro 2012.
- BANAT, I. M. Microbial biosurfactants production, applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, p. 427-444, 2010.
- BARNETT, C.; SMITH, A.; SCANLON, B.; ISRAILIDES, C. J. Pullulans production by *Aureobasidium pullulans* growing on hydrolysed potato starch waste. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, p. 203-209, 1999.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. São Paulo: Editora da Unicamp, 2002.
- BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P.; MARÓSTICA, M. R.; PASTORE, M. G. Surfactina: propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.1-14, 2007.

BARROW, C. W.; ROTHSCHILD, B. J. Beyond crisis science and emergency legislation: What do we really know about oil spills. **Spill Science and Technology Bulletin**, v. 7, n. 1-2, p. 3-6, 2002.

BENCKE, S. G. **Tratamento de soluções de cromo(III) por flotação a ar dissolvido**. Rio Grande do Sul, 1987, p.1-137. Dissertação de Mestrado(Metalurgia Extrativa) Universidade federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do sul, 1987.

BENINCASA, M. Rhamnolipid produced from agroindustrial wastes enhances hydrocarbon biodegradation in contaminated soil. **Current Microbiology**, v. 54, p. 445-449, 2007.

BENINCASA, M.; CONTIERO, J.; MANRESA, M. A.; MOREAES, I. O. Rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI growing on soap-stock as the sole carbon source. **Journal Food Engineering**, v. 54, p. 283-288, 2002.

BERGER, T. M.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2005.

BOGNOLO, G. Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v. 152, p. 41-52, 1999.

BOX, G. E. P.; WILSON, K. B. On the experimental attainment of optimum conditions. **Journal R. Statistic and Social**, v. 13, p. 1-45, 1951.

BRASIL. Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2005.

BRITISH PETROLEUM. DEEPWATER HORIZON ACCIDENT INVESTIGATION REPORT. Golfo Do Mexico, 2010. 192p. Disponível em: <[http://www.bp.com/liveassets/bp\\_internet/globalbp/globalbp\\_uk\\_english/incident\\_response/STAGING/local\\_assets/downloads\\_pdfs/Deepwater\\_Horizon\\_Accident\\_Investigation\\_Report.pdf](http://www.bp.com/liveassets/bp_internet/globalbp/globalbp_uk_english/incident_response/STAGING/local_assets/downloads_pdfs/Deepwater_Horizon_Accident_Investigation_Report.pdf)>. Acesso em: 12 fev. 2012.

CALVO, C.; MANZANERA, M.; SILVA-CASTRO, G. A.; UAD, I.; GONZÁLEZ-LOPÉZ, J. Application of bioemulsifiers in soil oil bioremediation processes. **Future prospects. Science of the Total Environment**, v. 407, p. 3634-3640, 2009.

CANET, R.; BIRNSTINGL, J. G.; MALCOLM, D. G.; LOPEZ-REAL, J. M.; BECK, A. J. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by native microflora

and combinations of white-rot fungi in a coal-tar contaminated soil. **Bioresource Technology**, v. 76, p. 113-117. 2002.

CAMPOS-TAKAKI, G. M.; SARUBBO, L. A.; ALBUQUERQUE, C. D. C. Environmental Friendly Biosurfactants Produced by Yeasts. **Biosurfactants: Landes Bioscience and Springer Science**. v. 67, p. 250-260, 2010.

CASTELLAN, G. **Fundamentos de físico-química**. 1ed. Rio de Janeiro: LTC, 1986.

CETESB - **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental**. Report on establishment of guiding values for soils and groundwater in the state of São Paulo. São Paulo, 2001.

CETESB - **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental**. Ambientes costeiros contaminados com óleo. Manual de orientação, São Paulo, 2007. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 9 de fevereiro de 2014.

CETESB - **Derrames de óleo no mar e os ecossistemas costeiros**. São Paulo, 2005. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/emergencia/acidentes/vazamento/cursos/cursos.asp>>. Acesso em: 2 maio 2012.

CHRISTEN, P.; BRAMORSKI, A.; REVAH, S.; SOCCOL, C. R. Characterization of volatile compounds produced by *Rhizopus* strain grown on agroindustrial solid wastes. **Bioresource Technology**, v. 71, p. 211-215, 2000.

CRESPILHO, F. N., RESENDE, M. O. O. **Eletroflotação. Princípios e Aplicações**. São Paulo, RiMa, p.74, 2004.

CIRIGLIANO, M. C.; CARMAN, G. M. Purification and characterization of liposan, a bioemulsifier from *Candida lipolytica*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 50, p. 846-850, 1985.

COIMBRA, C. D.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; SARUBBO, L. A. Studies of the cell surface properties of *Candida* species and relation with the production of biosurfactants for environmental applications. **Current Microbiology**, v. 58, p. 245-251, 2009.

CONAMA - **Conselho Nacional de Meio Ambiente**. Brasília, 2001. Disponível em: <[www.mma.gov.br/port/conama/estr.cfm](http://www.mma.gov.br/port/conama/estr.cfm)>. Acesso em: 7 jun. 2012.

CONAMA **Conselho Nacional de Meio Ambiente**. Brasília, 2005. Resolução nº 357 <[www.mma.gov.br/port/conama/estr.cfm](http://www.mma.gov.br/port/conama/estr.cfm)>. Acesso em: 17 de março de 2012.

CORTIS, A.; GHEZZEHEI, T. A. On the transport of emulsions in porous media. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 313, p.1-4, 2007.

CRAPEZ, M. A. C.; CAVALCANTE, A. C.; BISPO, M. G. S.; ALVES, P. H. Distribuição e atividade enzimática de bactérias nos limites inferior e superior entre-marés na Praia de Boa Viagem, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. In: MORAES, R. et al. (Ed.). **Efeito de poluentes em organismos marinhos**. São Paulo: Arte e Ciência, Villipress. p. 129-138, 2001.

CUNHA, R. E. P. **Modelagem matemática da separação gravitacional de emulsões de petróleo**. Aracaju, 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos), Universidade de Tiradentes, Aracaju - Sergipe, 2007.

DECESARO, A.; RIGON, M. R.; THOMÉ, A.; COLLA, L. M. Produção de biossurfactantes por microrganismos isolados de solo contaminado com óleo diesel. **Química Nova**, v.36, p.947-954, 2013.

DEL COLLE, R. **Desemulsificação de emulsões estáveis de água e óleo de girassol por processo de filtração tângencial**. São Carlos, 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2005.

DELEU, M.; PAQUOT, M. From renewable vegetables resources to microorganisms: new trends in surfactants. **Computers Rendus Chimie**, v. 7, p.641-646, 2004.

DESAI, J. D.; BANAT, I. M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. **Microbiology and Molecular Biology Reviewers**, v. 61, p.47-64, 1997.

DESHPANDE, M.; DANIELS, L. Evaluation of sophorolipid biosurfactant production by *Candida bombicola* using animal fat. **Bioresource Technology**, v. 54, p.143-150, 1995.

DEVOR, R. E.; CHANG, T.; SUTHERLAND, J. W. **Statistical quality design and control: Contemporary concepts and methods**. New Jersey: Prentice Hall, 1992.

EDZWALD, J. K. Dissolved air flotation and me. **Water Research**, v. 44, p. 2077-2106, 2010.

EDZWALD, J. K. HAARHOFF, J. Dissolved Air Flotation for Water Clarification, **McGraw-Hill**, New York and AWWA, Denver, 2012.

FICCO, R. J.; LEWIS, A. Oil spill dispersants. **Pure Applied Chemistry**, New Jersey, v. 71, n. 1, p.27-42, 1999.

- FONSECA, L. P. **Estudo das variáveis operacionais do processo de separação petróleo-água, utilizando flotação por ar dissolvido**. Maceió, 2010. p.56. Dissertação (em Engenharia Química), universidade Federal de Alagoas, maceió, 2010.
- FOX, S. I.; BALA, G. A. Production of surfactant from *Bacillus subtilis* ATCC 21332 using potato substrates. **Bioresource Technology**, v. 75, p.235-240, 2000.
- FRANÇA, S. C. A. **Utilização do processo de flotação por ar dissolvido no tratamento de efluentes da indústria minero-metalúrgica**. Relatório Técnico, CETEM, p.23, 2003.
- FREIRE, R. S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, I. I.; DURÁN, N.; PERALTA-ZAMORA, P. Métodos e técnicas de tratamento de água. **Química Nova**, v. 23, p.504, 2000.
- GAUTAM, K. K.; TYAGI, V. K. Microbial Surfactants: a review. **Journal of Oleo Science**, v. 55, p.155-166, 2006.
- GHURYE, G. L.; VIPULANANDAN, C.; WILSON, R. C. A practical approach to biosurfactant production using nonaseptic fermentation of mixed cultures. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 44, p.661-666, 1994.
- GONZINI, O.; PLAZA, A.; PALMA, D. I. L.; LOBO, M. C. Electrokinetic remediation of gasoil contaminated soil enhanced by rhamnolipids. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 40, p.1239-1248, 2010.
- GOVERNMENT PUBLICATION OF CANADA. Oil, Water and Chocolate Mousse, 1994. Disponível em: <<http://publications.gc.ca/site/eng/40648/publication.html>>. Acesso em: 10 set 2012.
- GHURYE, G. L.; VIPULANANDAN, C.; WILSON, R. C. A practical approach to biosurfactant production using monaseptic fermentation of mixed cultures. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.44, n.5, p.661-666, 1994.
- GUERRA-SANTOS, L. H.; KÄPPELI, O.; FIECHLER, A. *Pseudomonas aeruginosa* biosurfactant production in continuous culture with glucose as carbon sources. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 48, p.301-305, 1984.
- HABA, E.; ESPUNY, M. J.; BUSQUETS, M.; MANRESA, A. Screening and production of rhamnolipids *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste flying oils. **Journal of Applied Microbiology**. v. 88, p.379-387, 2000.



- HAMMAN, O. B.; de la RUBIA, T.; MARTINEZ, J. Decolorization of olive oil Mill wastewater by *Phanerochaete flavidio-alba*. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 18, p.2410-2415, 1999.
- HARITASH, A. K.; KAUSHIK, C. P. Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 169, p.1–15, 2009.
- HASHIM, M. A.; MUKHOPADHYAY, S.; SAHU, J. N.; SENGUPTA, B. Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. **Journal of Environmental Management**, v. 92, p.2355-2388, 2011.
- HOLAKOO, L. **On the Capability of Rhamnolipids for Oil Spill Control of Surface Water**. Montreal, 2001. Dissertação (Mestrado em Ciência Aplicada), Concordia University, Montreal, Canada, 2001.
- HUA, Z.; CHEN, J.; LUN, S.; WANG, X. Influence of biosurfactants produced by *Candida Antarctica* on surface properties of microorganism and biodegradation of n-alkanes. **Water Research**, v. 34, p.4143-4150, 2003.
- HUE, N.; SEMNI, L.; LAPREVOTE, O. Structural investigation of cyclic peptidolipids from *Bacillus subtilis* by high energy tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**. v. 15, p.203-209, 2001.
- IMO - **International Maritime Organization**. Londres, 2004. Disponível em: <<http://www.imo.org>>. Acesso em: 18 fev. 2012.
- IMHOFF, K. ; IMHOFF, K. R. **Manual de tratamento de águas residuárias**. São Paulo: Edgard Blücher, 1996.
- INTERTANKO - **The International Association of Independent Tanker Owners**. Arlington, 2003. <<http://www.intertanko.com>>. Acesso em: 8 jan. 2012.
- KAKINUMA, A.; OACHIDA, A.; SHIMA, T.; SUGINO, H.; ISANO, M.; TUMURA, O.; ARIMA, K. Confirmation of the structure of surfactin by mass spectrometry. **Agricultural and Biological Chemistry**. v. 33, p.669-1672, 1969.
- KALOGIANNIS, S.; IAKOVIDOU, G.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M.; KYRIAKIDIS, D. A.; SKARACIS, G. N. Optimization of xanthan gum production by *Xanthomonas campestris* grown in molasses. **Process Biochemistry**, v. 39, p.249-256, 2003.

- KARANTH, N. G. R.; DEO, P. G.; VEENADING, N. K. Microbial production of biosurfactants and their importance. **Current Science On Line**, v. 77, p.116-126, 1999.
- KHANNA, R. C.; BARUA, T. K. Effects of marine oil spills. In: **4th Indian Oil Corp. Ltd. Int. Petrol. Conf. Petrotech**, Nova Deli, Índia, p.9-12, 2001.
- KINGSTON, P. F.; RUNCIMAN, D.; Mc DOUGALL, J. Oil contamination of sedimentary shores of the Galápagos Island following the wreck of Jessica. **Marine Pollution Bulletin**, v. 47, p.303-312, 2003.
- LAZARIDOU, A.; ROUKAS, T.; BILIADERIS, C. G.; VAIKOUSI, H. Characterization of pullulan produced from beet molasses by *Aureobasidium pullulans* in a stirred tank reactor under varying agitation. **Enzyme Microbiology Technology**, v.31,p.122-132,2002.
- MAKKAR, R. S; CAMEOTRA, S. S. Production of biosurfactant at mesophilic and thermophilic conditions by a strain of *Bacillus subtilis*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 20, p.48-52, 1998.
- MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. S. An update on the use of uncoventional substrates for biosurfactant production and their new applications. **Applied Micobiology and Biotechnology**, v. 58, p.428-434, 2002.
- MANEERAT, S. Production of biosurfactants using substrates from renewable-resources. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 27, p.675-683, 2005.
- MARÇAL, M. do C. R. **Produção de biopolímeros por *Candida lipolytica* em meios suplementados por óleos vegetais (babaçu, côco de dendê)**. Recife, 1991.p.147. Tese de mestrado em (Nutrição). Centro de ciências e saúde, UFPE, 1991.
- MARGESIN, R.; SCHINNER, F. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbon in extreme environments. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, p.650-663, 2002.
- MARPOL, 73/78. 1973 e 1978 amendments. **Internation Maritime Organization**. 4 Albert Embankment, London, SE1 7SR. Disponível em <[www.imo.org](http://www.imo.org)>. Acesso em 24 de novembro de 2012.

- MARQUES, L. P. Anaerobic digestion treatment of olive Mill wastewater for effluent re-use in irrigation. **Desalination**, v. 137, p.237-239, 2001.
- MENEZES, C. T. B.; BANOS, E. C.; RUFINO, R. D.; LUNA, I. M.; SARUBBO, L. A. Replacing synthetic with microbial surfactants as collectors in the treatment of aqueous effluent produced by acid mine drainage, using the dissolved air flotation technique. **Appl. Biochem. Biotechnol.** v.163, p.540-546, 2011.
- MERCADE, M. E.; MANRESA, M. A. The use of agro industrial by products for biosurfactant production. **Journal of American Oil and Chemistry Society.** v. 71, p. 61-64, 1994.
- MERCADE, M. E.; MANRESA, M. A.; ROBERT, M.; ESPUNY, C.; GUINEA, J. Olive oil mill effluent (OOME): New substrate for biosurfactant production. **Bioresource Technology**, v. 431, p.1-6, 1993.
- MIRRE, R. C. **Metodologia para gerenciamento sustentável do reuso de águas e efluentes industriais por meio da integração de processos.** Rio de Janeiro, 2012, p.1-657. Tese de doutorado em (tecnologia de processos químicos e bioquímicos), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- MONTE, H. M.; ALBUQUERQUE, A. **Reutilização de águas residuais.** Instituto de Engenharia de Lisboa, 2010.
- MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**, 3.ed. New York: J. Wiley & Sons, 1991.
- METCALF; EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse.** TMH 4º ed. Boston, Mc Graw Hill, p.1819, 2003.
- MORUZZI, R. B.; REALI, M. A. P. **Metodo para determinação de distribuição do tamanho de microbolhas (DTMB) em sistemas flotação (FAD) para tratamento de águas utilizando a análise de imagem digital.** Artigo Técnico, Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2007.
- MUKHERJEE, S.; PALASHPRYA, D. A.; RAMKRISHNA, S. E. N. Towards commercial production of microbial surfactants. **Trends in Biotechnology**, v. 24, n. 11, p. 509-515, 2006.
- MULLIGAN, C N. Recent advances in the environmental applications of biosurfactants. **Current Opinion In Colloid & Interface Science**, v. 14, p.372-378, 2009.

- MULLIGAN, C. N. Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution**, v. 133, p.183-198, 2005.
- MULLIGAN, C. N.; WANG, S. Remediation of a heavy metal contaminated soil by a rhamnolipid foam. In: **Geoenvironmental engineering: Integrated management of groundwater and contaminated land**. London: Thomas Telford, p.544-51, 2004.
- MULLIGHAN, C. N.; GIBBS, B. F. Factors influencing the economics of biosurfactants. In: KOSARIC, N. (Org.). **Biosurfactants: production, properties, applications**. New York: Marcel Dekker, p.329-371, 1993.
- MULLER-HURTIG, R.; WAGNER, F.; BLASZCZYK, R.; KOSARIC, N. **Biosurfactants for Environmental Control. Biosurfactants: Production, Properties, Application**. New York: Marcel Dekker, p. 447-469. 1993.
- MUTHUSAMY, K.; GOPALAKRISHNAN, S.; RAVI, T, K.; SIVACHIDAMBARAM, P. Biosurfactants: properties, commercial production and application. **Current Science**, v. 94, p.736-747, 2008.
- MYERS, D. Surfactant science and technology. 3 ed. John Wiley & Sons: New Jersey, 1999.
- NABI, N.; AIRMA, P.; MEIRELES, M. Ultrafiltration of an olive oil emulsion stabilized by an anionic surfactant. **Journal of Membrane Science**, v. 01, 2000.
- NETCEN - **National Environmental Technology Centre of EAE Technology**. Copenhagen, 1997. Disponível em: <[http://www.eea.europa.eu/publications#vc14=&c12=&c7=en&c9=all&c11=5&b\\_start=0](http://www.eea.europa.eu/publications#vc14=&c12=&c7=en&c9=all&c11=5&b_start=0)>. Acesso em: 12 maio 2012.
- NITSCHKE M.; COSTA, S. G. V. A. O. Biosurfactants in food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 252-259, 2007.
- NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. **Química Nova**, v. 25, p. 772-776, 2002.
- PANDEY, A.; SOCCOL C. R.; MITCHEL D. A. New developments in solid-state fermentation: I – bioprocesses and products. **Process Biochemistry**, v. 35, p.1153-1169, 2000.
- PAYNE, J. R.; PHILLIPS, C. R. **Petroleum Spills, in the Marine Environment**. The Chemistry and Formation of water-in-oil emulsions and tar balls, p.1-24. 1985.
- PEREIRA, A.R.B.; FREITAS, D. A. F. Educação e Tecnologia Ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão**, 2012.

- POFFO, I. R. F. **Vazamentos de óleo no litoral norte do estado de São Paulo: Análise histórica (1974 a 1999)**. São Paulo, 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência Ambiental), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- PAREILLEUX, A. Hydrocarbon assimilation by *Candida lipolytica*: formation of a biosurfactant: effects on respiratory activity and growth. **European journal of applied microbiology and biotechnology**, Berlim, v.8, p. 91-101, 1979.
- RAHMAN, K. S. M.; STREET, G.; LORD, R.; KANE, G.; RHAMAN, T. J.; MARCHANT, R.; BANAT, I. M. Bioremediation of petroleum sludge using bacterial consortium with biosurfactant. In: **Environmental Bioremediation Technologies**, Springer Publication, p.391-408, 2006.
- RAHMAN, K. S.; RAHMAN, T. J.; MCCLEAN, S.; MARCHANT, R.; BANAT, I. M. Rhamnolipid biosurfactant production by strains of *Pseudomonas aeruginosa* using low-cost raw materials, **Biotechnology Progress**, v. 18, p.1277-1281, 2002.
- RAHMAN, P. K. S. M.; GAKPE, E. Production, characterization and applications of biosurfactants – review. **Biotechnology**, v. 7, p.360-370, 2008.
- RAMALHO, R. S. *Introduction to Wastewater Treatment Process*. New York, **Academic Press**, p.409, 1992.
- REALI, M.A.P.; PENETRA, R.G. & CARVALHO, M.E. Flotation Technique with Coagulant and Polymer Application Applied to the Pos-treatment of Effluents from Anaerobic Reactor Treating Sewage. In: **VI Latinamerican Workshop-Seminar on Anaerobic Digestion**. Recife, 2000.
- REALI, M.A.P. **Avaliação de um Sistema Original Compacto para Clarificação de Águas de Abastecimento, Utilizando o Processo de Flotação a Ar Dissolvido e Filtração com Taxa Declinante**. (Tese de Doutorado em engenharia). Escola de Engenharia de São Carlos, p. 364, 1991.
- RITCHER, C. A.; NETTO, J. M. A. **Tratamento de água: Tecnologia atualizada**. 2 ed. São Paulo: Edgard Blütcher, 2003.
- ROBERT, M.; MERCADÉ, M. E.; BOSCH, M. P.; PARRA, J. L.; ESPINY, M. J.; MANRESA, M. A.; GUINEA, J. Effect of the carbon source on biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T1. **Biotechnology Letters**, v. 11, p. 871-874, 1989.

- 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. **Biocatalysis and Agricultura Biotechnology**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2013.09.005>, 2013a.
- ROCHA E SILVA, N. M. P. **Validação de um modelo de dimensionamento de flotação por ar dissolvido para separação água óleo**. Recife, 2013. p.2-41. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Engenharia Ambiental), Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2013b.
- RON, E. Z.; ROSENBERG, E. Biosurfactants and oil bioremediation. **Current Opinion in Biotechnology**, v.13, p.249-252, 2002.
- ROSA, J. J. **Tratamento de efluentes oleosos por floculação pneumática em linha e separação por flotação – processo FF**. Rio Grande do Sul, 2002. Tese (Doutorado em Engenharia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.
- RUBIO, J.; SOUZA, M. L., SMITH, R. W. Overview of flotation as a wastewater treatment technique. **Miner. Eng.** v. 15, p.139–155, 2002.
- RUFINO, R. D.; SARUBBO, L. A.; BENICIO, B. N.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Experimental design for the production of tensio-active agent by *Candida lipolytica*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p.907-914, 2008.
- RUFINO, R. D.; SARUBBO, L. A.; CAMPOS-TAKAKI G. M. Enhancement of stability of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using industrial residue as substrate. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p.729-734, 2007.
- SARUBBO, L. A.; FARIAS, C. B. B.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Co-utilization of canola oil and glucose on the production of a surfactant by *Candida lipolytica*. **Current Microbiology**, v.54, p.68-73, 2007.
- SARUBBO, L. A.; LUNA, J. M.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Production and stability studies of the bioemulsifier obtained from a new strain of *Candida glabrata* UCP 1002. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 9, p.400-406, 2006.
- SARUBBO, L. A.; MARÇAL, M. C.; NEVES, M. L. C.; PORTO, A. L. F.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. The use of babassu oil as substrate to produce bioemulsifiers by *Candida lipolytica*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 45, p.1-4, 1999.

- SARUBBO, L. A.; MARÇAL, M. do C.; NEVES, M. L. C.; SILVA, M. da P. C.; PORTO, A. L. F.; CAMPOS-TAKAKI, G. M. Bioemulsifier production in batch culture using glucose as carbon source by *Candida lipolytica*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.95, p.59-67, 2001.
- SCHRAMM, J.; KLÜPPEL, M. A generalized tube model of rubber elasticity and stress softening of filler reinforced elastomer systems. **Macromolecular Theory and Simulations**, v. 9, p.742–754, 2000.
- SEN, R. Biotechnology in petroleum recovery: the microbial eor. **Process In Energy And Combustion Science**, v. 34, p.714-724, 2008.
- SHABTAI, Y. Production of exopolysaccharides by *Acinetobacter* strains in a controlled fed-batch fermentation process using soap stock oil (SSO) as carbon source. **International Journal of Biology Macromolecule**, v. 12, p.145-152, 1990.
- SHANLEY, P. Extending Ecological Research to Meet Local Needs: a Case from Brazil. In: **The Significance of Non Wood Forest Products in West Africa**. Rome: FAO, 1999.
- SILVA, P. R. **Transporte marítimo de petróleo e derivados na costa brasileira: estrutura e implicações ambientais**. Rio de Janeiro, 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia – Ciências e Planejamento Energético), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2004.
- 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. **Colloids and Surface B: Biointerfaces**, v. 79, p.174-183, 2010.
- SINGH, A.; VAN HAMME, J. D.; WARD, O. P. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part II. **Biotechnology Advances**, v. 25, p.99-121, 2007.
- SOUZA, F. A. S. D. **Biodegradação de óleo diesel por *Candida lipolytica* em água do mar**. Recife, 2009. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais), Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2009.
- TANSEL, B.; PASCUAL, B. Removal of emulsified fuel oils from brackish and pond water by dissolved air flotation with and without polyelectrolyte use: Pilot-scale investigation for estuarine and near shore applications. **Chemosphere**, v. 85, p.1182-1186, 2011.

THOMPSON, D. N.; FOX, S. L.; BALA, G. A. Biosurfactants from potato process effluents. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 84, p.917-930, 2000.

TRANSPETRO - **Petrobras Transporte S/A. Rio de Janeiro**, 2004. Disponível em: <<http://www.transpetro.com.br>>. Acesso em: 6 mar. 2012.

VALENÇA, R. D. **Modelagem da transferência de massa na remoção do óleo da água produzida por flotação em coluna com uso de tensoativos de origem vegetal**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

VAN HAMME J. D.; SINGH A.; WARD O. P. Physiological aspects Part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology. **Biotechnology Advances**, v. 24, p.604-620, 2006.

WALKER, D. Oil in the sea: changes in the nature of sources and inputs since 1985. In: **International Oil Spill Conference**. Canada: British Columbia, 2003.

VALENTINE, E.G.; CARAWAN R.E. *Dissolved Air Flotation Systems (DAFs) for Bakeries*. Published by: North Carolina Cooperative Extension Service Publication Number: CD-43. p.13p,1996.

ZLOKARNIK, M. **Dimensional analysis and scale-up in chemical engineering**. Springer Verlag, 1991.



# **CAPÍTULO 2**

**Manuscrito submetido para publicação na  
Revista Separation Science and Technology**

**Effect of Biosurfactant Addition in a Pilot Scale  
Dissolved Air Flotation System**

## **Effect of Biosurfactant Addition in a Pilot Scale Dissolved Air Flotation System**

**Fernanda C. Padilha da Rocha e Silva,<sup>1</sup> Nathália M. Padilha da Rocha e Silva,<sup>2</sup> Alex Elton de Moura,<sup>3</sup> Rodrigo Almeida Galdino,<sup>1</sup> Juliana Moura Luna,<sup>2</sup> Raquel Diniz Rufino,<sup>2</sup> Valdemir Alexandre dos Santos,<sup>2</sup> and Leonie Asfora Sarubbo<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Development of Environmental Processes Mater, Catholic University of Pernambuco, Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, CEP: 50050-900, Recife, Pernambuco, Brazil*

<sup>2</sup>*Centre of Science and Technology, Catholic University of Pernambuco, Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, CEP: 50050-900, Recife, Pernambuco, Brazil*

<sup>3</sup>*Centre of Technology and Geoscience, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, Pernambuco, Brazil*

Shortened version of the title suitable for the running head: **Biosurfactant Addition in a Pilot Scale DAF System**

Address correspondence to Leonie Asfora Sarubbo, Centre of Science and Technology, Catholic University of Pernambuco, Rua do Príncipe, n. 526, Boa Vista, CEP: 50050-900, Recife, Pernambuco, Brazil. Tel.: Tel.: +55 81 21194048; fax: +55 81 21194043. E-mail: leonie@unicap.br

Effluent production of oily water type has generated many environmental problems for several industries, particularly in thermal power plants (TPP). Spills of liquid fuels and lubricating oils that occur during the TPP's supply of machinery and storage tanks are the main causes of these disorders. The use of flotation as a separation process of oily waters has been described, although it has been sometimes criticized due to the toxicity of the collectors. The development and use of fully biodegradable surfactants may ease this concern and enhance the further acceptance of this separation technology. The purpose of this work was to investigate the removal of the emulsified oil products in water by dissolved air flotation (DAF) with and without the use of a biosurfactant, in pilot scale. The biosurfactant was produced from the yeast *Candida sphaerica*. The application of an experimental planning CCRD type was the strategy used to analyze the effect of the use of the biosurfactant in the efficiency of system with two flotation tanks in series. The biosurfactant added considerable value to the process, increasing from 80.0% to 98.0% the separation efficiency.

**Keywords:** Oily water treatment, Biosurfactant, Pilot scale system; CCRD; Dissolved air flotation.

## INTRODUCTION

A substance is considered insoluble, in terms of concentration in amount of substance if solubility is less than 0.01 mol/L, slightly soluble if its solubility is 0.01 to 0.1 mol/L and soluble if its solubility is greater than 0.1 mol/L (1). However, due to the large number of cases of water contamination by crude oil and derivatives, this matter has been the subject of recent discussions (2).

Decantation, centrifugation, ultrafiltration and flotation are examples of physical/chemical processes effectively used for separation of oil-water mixture (3). The addition of coagulants has favored the use of dissolved air flotation (DAF) in the removal of oil from wastewater (4,5).

Currently, the flotation processes are widely used in mining industry, besides being used for treatment of water supply and wastewater treatment, especially in metallurgy, pulp and paper and oil industries (6). The dissolved air flotation may be considered as a clean technology since it uses small quantities of coagulant and air to promote separation. The size,

speed and bubbles, along with the velocity gradient, are important parameters to control the efficiency of the process and operating costs (7).

Coagulants are used to improve the efficiency of separation and flotation of the oil droplets. They can be of chemical origin generally derived from petroleum, or microbial origin, in which case the biosurfactants present as a promising coagulant and/or dispersing (8). These surface-active molecules of biological origin also have several advantages over synthetic surfactants such as higher biodegradability, higher foaming, less toxicity, better environmental compatibility, more tolerant to pH, salt, and temperature variation, higher selectivity for metals and organic compounds and the ability to be synthesized from renewable feedstocks (9).

Recently, novel surface-active biomolecules with attractive properties have been isolated from *Candida* species. These compounds have an anionic nature and are capable of reducing the surface tension of water from 70 to 28 mN/m, with a critical micelle concentration of 300 mg/L, which compares favorably with other known surface-active agents (10).

The aim of this study was to investigate a water-oil separation by DAF, with and without the addition of biosurfactant, in a pilot-scale DAF system, made of acrylic. The synthetic blend used was obtained by homogenizing and saturation of oil in water, by recirculating and passing the mixture within pumps and tubing, similar to the formation of oily water in an industrial environment. The experiments used to compare the effects of addition of biosurfactant followed an experimental planning CCRD (11), where the response variable was the separation efficiency.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Materials**

All chemicals were of reagent grade. Growth media were purchased from Difco Laboratories, USA. Two types of industrial waste were used as substrates to produce the biosurfactant. Ground nut oil refinery residue was obtained from ASA LTDA in the city of Recife, state of Pernambuco, Brazil, and corn steep liquor was obtained from Corn Products do Brasil in the city of Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brazil. The ground nut oil refinery residue was used as the main carbon source and the corn steep liquor was used as the nitrogen source. Both agroindustrial by-products also provided other nutrients essential to yeast metabolism.

Lubricating oil was selected as the contaminant oil that is commercially available for use in flex engines (gasoline, VNG and alcohol), type SAE 20W-50, with synthetic guard (Petrobras, Brazil). It consists of a paraffinic base lubricating oil (a complex mixture of hydrocarbons) and performance enhancing additives.

### **Pilot Scale Dissolved Air Flotation System**

The pilot scale DAF system by operating under ambient temperature (28°C) and pressure conditions was constructed in clear and transparent acrylic to allow visualization of most of the fluid dynamic phenomena (12). The supporting metallic structure of the DAF system was made of angles "L" carbon steel 1 inch, interspersed with some flat bars 1 inch wide and 4 mm thick. The DAF set up can be seen in Fig.1.

At the entrance of the pilot scale system there are two tanks receiving synthetic wastewater to be treated. The first chamber, fitted with three propeller type agitators,

homogenizes the addition of biosurfactant and separates the oil free of water by gravitational sedimentation. The second chamber is equipped with static mixers plates to complement the effect of homogenization of biosurfactant.

Two DAF chambers arranged in series, after antechambers, process the affluent, which comes into contact with a microbubbles flow in each chamber. In both chambers the oil droplets forms the emulsion with the water coming into contact with air microbubbles, yielding dispersed particles with lower average density than water, that are floated. Since these chambers operate completely filled, a layer of the floated material is collected with aid of a baffle, yielding two flows, one of the oily foam above and the other of the treated water below. The oily foam is collected. The flow of treated water is directed to a final collector chamber. In this last chamber two pumps distribute the treated water. Part of the water is used in the production of microbubbles while another part is discarded. The total amount of water in the pilot prototype was estimated to be 1.536 m<sup>3</sup>.

Together with the treated water a suitable amount of atmospheric air is admitted to the pump suction line for the microbubbles production. Similarly to a saturation tank of a DAF conventional process (6), the treated water and the air suffer agitation, pressurization and friction, this last near the walls of the pump and pipes, originating the microbubbles.

Microbubbles clouds chopped flows are injected into the base of each DAF chamber. This type of microbubbles production mechanism reduces the number of components compared to the conventional DAF process, which uses a compressor for compressed air producing and a tank for saturation of the treated water. In the early extensions of the two injection pipes of the microbubbles to the DAF chambers, a gate valve was installed to pressure and flow rate controls required to obtain the microbubbles. Fig. 2 shows a photograph of this experimental set up.

The measure instrumentation of the operating parameters for the pilot scale DAF system comprised four flow meters rotameter type and a Bourdon manometer type. A rotameter is installed in suction pump microbubbles measuring the flow rate of the treated water. This rotameter is placed on the top of the vertical section of the suction line of the pump to allow measurements of water flow rate without interference from the amount of air admitted in this section. A second rotameter measures the feed water flow rate of the DAF prototype. A third flow meter measures the flow rate of air admitted to the system for the production of microbubbles. The Bourdon type pressure gauge was installed in the discharge line from the microbubbles pump to give information about the work pressure.

### **Biosurfactant Production**

Biosurfactant production was conducted as described by Luna et al. (13). *Candida sphaerica* UCP 0995 was obtained from the culture collection of the Catholic University of Pernambuco, Brazil. The microorganism was maintained at 5 °C on yeast mould agar slants containing (w/v) yeast extract (0.3%), malt extract (0.3%), tryptone (0.5%), d-glucose (1.0%) and agar (5.0%). Transfers were made to fresh agar slants each month to maintain viability.

The *C. sphaerica* inoculum was prepared by transferring cells grown on a slant to 50 ml of yeast mold broth. The seed culture was incubated at 28 °C and 150 rpm for 24 h. The yeast was cultivated in a submerged culture in a New Brunswick C-24 shaker. The basal medium was composed of 9% ground nut oil refinery residue and 9% corn steep liquor dissolved in distilled water. The medium was sterilized by autoclaving at 121 °C for 20 min. The final pH of the medium was 5.3 and the surface tension prior to inoculation was 50 mN/m. The inoculum (1%, v/v) was added to the cooled medium at the amount of 104 cells/ml. Fermentation was carried out in Erlenmeyer flasks at 28 °C and 150 rpm for 144 h.

Separation studies were performed using the cell-free broth (crude biosurfactant) obtained by centrifuging the cultures at  $5000 \times g$  for 20 min.

### **Experimental Factorial Design and Response Surface Methodology**

The use of factorial design and response surface methodology (RSM) are important to determine the optimal operational conditions. Factorial design of a limited set of factors is advantageous to the conventional method of a simple handling per trial (14). Factorial design makes it possible to study several factors simultaneously, quantify the effect of each of them and to investigate their interactions (11). RSM is an useful way for studying the effect of many factors influencing the dependent or response variable by varying them simultaneously with limited number of experiments.

To analyze the effect of the use of biosurfactant on separation efficiency of the pilot scale DAF system constructed the experimental data, with and without the addition of biosurfactant, has been by using of CCRD and SRM. In order to establish optimal operational conditions of oil-water separation in the DAF pilot scale system prototype, central composite rotational design applications were performed. Initially a CCRD like  $2^2$  was applied to define the operating conditions of the pilot prototype. The independent variables were coded at five levels (-2, -1, 0, +1, +2) and the complete design consisted of 20 experimental points including 5 replications of the centre points. The coded levels of the independent variables used in the RSM design are listed in Table 1.

The response variable was the separation efficiency of the pilot prototype calculated according to Eq. (1).

$$\eta = \frac{C_I - C_O}{C_I} \cdot 100\% \quad (1)$$



Where  $\eta$  is the percent separation efficiency, while  $C_I$  and  $C_O$  are the oil concentrations in the inlet and outlet flow in ppm, respectively.

A second data set relative to use of biosurfactant was analyzed according to the following factors: ratio between the air and water flow rates for the microbubbles production ( $X'_1$ ) and ratio between the biosurfactant and feed water flow rates ( $X'_2$ ). A total of 12 experiments were necessary again. Table 2 shows the coded and real variables.

In both DCCR's the factors involving the ratio between the flow rates aimed the use of non-dimensional variables that may facilitate a future correlation with scale-up.

ANOVA, the determination of regression coefficients and the construction of graphs were performed using the Statistica<sup>®</sup> program, version 8.0 (Statsoft Inc, USA).

### **Water-oil Synthetic Effluent**

The synthetic wastewaters used in the experiments were prepared with aid of the flow rates of feed water and lubricating oil inlet the prototype. As the feed flow rate of water was maintained at 4.5 m<sup>3</sup> /h, the oil flow ranged in mL/h in order to obtain a ratio with values shown in Table 1. The values of concentrations of oil in water inlet scale pilot changed about average value of 50 ppm, are well above the average value of a compound of oily effluent water (emulsified oil) in a commercial installation of a thermal power plant, computed about 10 ppm, neglecting the free oil content. For flows of oil/water above twice that 50 ppm value, it was observed a spontaneous process of oil separation by gravitational effect due to the very low solubility of oil in water.

### **Biosurfactant Dosage**

The biosurfactant dosage ranged similarly to that used for synthetic surfactants in oil water separations (14). The ratio between the concentration of oil and water was maintained at around 0.000105. Biosurfactant dosages ranged according to the flow of the synthetic effluent in order to obtain the same ratios as those obtained in Table 2. Thus, the dosage of biosurfactant varied in the same proportion of the amount of oil (ppm) used during application of the previous CCRD, i.e., without addition of the biosurfactant. Thus, the variables  $x_1$  and  $x_1$  and  $x_2$  and  $x_2$  and are equal and have identical numerical values.

### **Flotation Experiments**

Each set of experiments according the DCCR pilot operation of the prototype was started after the water level inside the discharge of treated water chamber allowed pushing the production of microbubbles pump. The second step was to feed the unit and to adjust the necessary conditions to the production of synthetic influent. After about 2 averages elapsed time from the beginning of the operation of the prototype, even before the production of microbubbles and without the establishment of a steady state and adjust of the recommended experimental condition, collections of four samples were performed in the treated water chamber. Finally a flow of air at the inlet of the pump microbubbles had been reached. After the establishment of each new experimental condition displayed in Table 1 or Table 2, a new collection of wastewater or treated water was performed in the outlet chamber prototype to calculate the separation efficiency according to Eq. 1.

The oil was extracted from the synthetic effluent samples with an equal volume of hexane (1:1, vol/vol). The mixture was vigorously shaken for 15 min and allowed to set until phase separation. The organic phase was removed and the operation was repeated twice. The

product was concentrated from the pooled organic phases using a rotary evaporator. The amount of oil residing was gravimetrically determined.

## RESULTS AND DISCUSSION

The data of the responses variable collected according to the CCRD applied to the pilot scale DAF system, with and without the biosurfactant addition are shown in Table 3. Tables and graphics were obtained to reach a mathematical model to predict the response variable- the separation efficiency in the pilot prototype - as a function of the independent variables adopted.

The optimal values from the CCRD were obtained by solving the regression equation and analysing the response surface contour plots. Analysis of variance (ANOVA) with 95% confidence limits was used to determine the significance of the effects. The effects and significance of the variables were graphically illustrated using Pareto charts. A Pareto chart consists of bars with a length proportional to the absolute value of the estimated effects divided by the standard error. On this chart, ANOVA effect estimates are arranged from the largest to smallest absolute value. The chart includes a vertical line at the critical p-value of 0.05. Effects for which the bars are smaller than the critical p-value are considered non-significant and do not have an effect on the response variables. The effects are either positive or negative (15).

The application of RSM for the estimation of the optimal parameters results in an empirical relationship between the separation efficiency values and process variables.

Forty runs were performed, with and without use of biosurfactant, for separation studies of the synthetic oily wastewater with samples produced by the pilot scale DAF system.

The concentrations of oil in the initial samples from each set of experiments, taken as references, were measured by taking samples after 2 spatial times of start up of prototype, i.e.,

$$2 \cdot \tau = 2 \cdot \frac{V}{q} = 2 \cdot \frac{1,536\text{m}^3}{4,5\text{m}^3/\text{h}} = 0,683 \text{ h, approximately 40 minutes.}$$

It was observed that although the mechanism of production of microbubbles had not been activated, the initial concentrations of oil in the system output, for the same ratio oil/water in inlet, were different. The average initial concentration without the addition of biosurfactant was 50 ppm, whereas with biosurfactant it was of 12.5 ppm.

### **Water-Oil Separation Efficiency without the Biosurfactant**

An F-test (ANOVA) checked the statistical significance of the second order model equation. Table 4 presents the ANOVA for the model which show that the lack of fit of the regression model is not significant while Fisher's F-test demonstrate the right significance ( $p < 0.05$ ) of the regression model. Moreover, the  $R^2$  of the model was calculated, indicating that 97% of the variability in the response can be explained by the second-order polynomial prediction (Eq. 2).

$$Y_1 = -2169 + 1622 \cdot X_1 - 750 \cdot X_1^2 + 3594 \cdot X_2 - 1367 \cdot X_2^2 - 200 \cdot X_1 \cdot X_2 \quad (2)$$

The fitted response surface plots for separation efficiency obtained by the model of Eq. (2) is presented in Fig. 3. The graphical representation provides a method to visualize the relation between the response and experimental levels of each variable, and the type of interactions between test variables in order to deduce the optimum conditions. Fig. 3 depicts the three-dimensional plot showing the quadratic effect of  $X_1$  and  $X_2$  factors. It is observed that the ranges of values were adequately chosen allowing the generation of maximum points (oil separation efficiency of 80%).

A Pareto chart was constructed (Fig. 4) and indicates the statistical significance of each term for an equation of the forecasting model. It is observed that the quadratic term of  $X_1$  contributes significantly, but with a negative sign, i.e., the higher the value of  $X_1$  implies a smallest value of the separation efficiency. Thus, an increase in air flow at the pump inlet reduces the quantity of microbubble produced. The linear term of the  $X_2$  factor contributes positively to the separation efficiency. However, the quadratic term of  $X_2$  leads to a reduction of this efficiency. The linear term of factor  $X_1$  and interaction between  $X_1$  and  $X_2$  factors have lower than other statistical significance and contribute negatively to the increase of the separation efficiency. The experimental points are uniformly distributed along a straight line giving a regression coefficient of 0.97 for separation efficiency. A consistency between predicted and experimental values verifies the validity of the model.

### **Water-Oil Separation Efficiency with the Biosurfactant**

The analysis of variance of experimental data generated by the DAF prototype operating with the addition of the biosurfactant is described in Table 5. It is observed that the quadratic model proposed is satisfactorily adjusted to the experimental data. All linear and quadratic terms presented considerable statistical significance within the confidence interval of 95%. The F-ratio ( $F_{\text{calculated}}/F_{\text{critic}}$ ) was favorable, as confirmed by the p-values ( $<0.005$ ) and by experimental errors about 1.0%, conditions associated to variances of 97.0% recommend the adoption of the forecasting model proposed. A second order polynomial was fitted to the data of the responses and is reported in Eq. (3).

$$Y_1 = -2020 + 1632 \cdot X_1 - 78.8 \cdot X_1^2 + 3690 \cdot X_2 - 1443 \cdot X_2^2 - 128 \cdot X_1 \cdot X_2 \quad (3)$$

The Pareto diagram shown in Fig. 6 showed similar statistical significances of the terms of the forecasting model generated by the pilot prototype operating without biosurfactant. Statistical terms of the relative intensity and same signs were confirmed. Thus, the three-

dimensional surface plot (Fig. 7) of the combined effect of observed factors with use of the biosurfactant has been reproduced but evidences the increased efficiency of the process responses, since it was possible to reach an oil separation of 98%.

Comparing the free surface of the DAF chambers without (Fig. 8a ) and with (Fig. 8b) the use of the biosurfactant from *C. sphaerica*, it is observed that the addition of the biosurfactant allowed a considerable increase of the separation process, evidenced by formation of a thicker layer of oily foam. Our results are in agreement with the ones described in the literature (9,10,16), showing the advantages of using biosurfactants in substitution of synthetic surfactants.

Fig. 9 shows the homogeneous distribution of the experimental points around the line that represents the simulated values. Again this type of graphical analysis allows to identify the normality of the data and the appropriateness of the type of statistical analysis used.

## CONCLUSIONS

Results indicate that the DAF process can be effective with or without the use of biosurfactant for treatment of oily waters. However the use of the biosurfactant produced by *C. sphaerica* increased the oil removal from 80.0% to 98.0% in the separation system.

The next step is to conduct theoretical and experimental studies to describe the mechanisms responsible for the effect of different types of biosurfactants in effluents to be treated by the DAF process. Another challenge is to study technically and economically the substitution of the microbubbles production technique the by injection of atmospheric air in the into the suction of a centrifugal pump instead of saturating the treated effluent recirculated in a compressed air pressurized tank, commonly observed in conventional separation processes.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded by the Foundation for the Support of Science and Technology of the State of Pernambuco (FACEPE), the Research and Development Program from National Agency of Electrical Energy (ANEEL) and Thermoelectric Company of Pernambuco (TERMOPE), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Coordination for the Improvement of Higher Level Education Personnel (CAPES). The authors are grateful to the laboratories of the Centre for Sciences and Technology of the Universidade Católica de Pernambuco, Brazil.

## REFERENCES

- [1] Schulman, J.H.; Cockbain, E.G. (1940) Molecular interactions at oil/water interfaces. Part I. Molecular complex formation and the stability of oil in water emulsions. *Trans. Faraday Soc.*, 35: 651-661.
- [2] Haarhoff, J.; Edzwald, J.K. (2013) Adapting dissolved air flotation for the clarification of seawater. *Desalination*, 311: 90-94.
- [3] Painmanakula, P.; Sastaraveta, P.; Lersjintanakarnb, S.; Khaodhiara, S. (2010) Effect of bubble hydrodynamic and chemical dosage on treatment of oily wastewater by induced air flotation (IAF) process. *Chem. Eng. Res. Des.*, 88: 693–702.
- [4] Tansel, B.; Pascual, B. (2011) Removal of emulsified fuel oils from brackish and pond water by dissolved air flotation with and without polyelectrolyte use: Pilot-scale investigation for estuarine and near shore applications. *Chemosphere*, 85: 1182-1186.
- [5] Rubio, J.; Souza, M.L.; Smith, R.W. (2002) Overview of flotation as a wastewater treatment technique. *Miner. Eng.*, 15: 139–155.

- [6] Bahadori, A.; Clark, M.; Boyd, B. (2013) *Essentials of Water Systems Design in the Oil, Gas, and Chemical Processing Industries*, Springer, New York.
- [7] Babaahmadi, A. (2010) *Dissolved Air Flotation: Numerical investigation of the contact zone on geometry, multiphase flow and needle valves*, Master's dissertation, Dept. Civil and Environm. Eng., Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden.
- [8] Liu, S.H.; Guo, D.; Xie, G.X. (2010) Water film confined in a nanoscale gap: surface polarity and hydration effects. *Journal of Applied Physics* 108.
- [9] Menezes, C.T.B.; Banos, E.C.; Rufino, R.D.; Luna, J.M.; Sarubbo, L.A. (2011) Replacing synthetic with microbial surfactants as collectors in the treatment of aqueous effluent produced by acid mine drainage, using the dissolved air flotation technique. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 163: 540-546.
- [10] Albuquerque, C.A.; Luna- Finkler, L.C.; Rufino, R.D.; Luna, J.M.; Menezes, C.T.B.; Sarubbo, L.A. (2012) Evolution of biosurfactant for removal metal ions from aqueous effluent using flotation techniques. *I.RE.C.H.E*, 4: 156-161.
- [11] Myers, R.H.; Montgomery, D.C.; Anderson-Cook, C.M. (2009) *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*, 3rd Ed.; John Wiley & Sons, New York.
- [12] Knowton, T.M. (2000) Tools and techniques for diagnosing and solving operating problems in fluidized bed systems. *Oil & Gas Science and Technology – Rev. IFP* 55 209-217.
- [13] Luna, J.M.; Rufino, R.D.; Sarubbo, L.A.; Campos-Takaki, G.M. (2013) Characterization, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry. *Col. Surf. B: Bioint.*, 102: 202-209.



- [14] Montgomery, D.C. (2009) *Introdução ao Controle Estatístico da Qualidade*, 4<sup>a</sup>. Ed.; LTC, Rio de Janeiro.
- [15] Silva R.C.F.S.; Rufino, R.D.; Luna, J.M.; Farias, C.B.B.; Filho, H.J.B.; Santos, V.A.; Sarubbo, L.A. (2013) Enhancement of biosurfactant production from *Pseudomonas cepacia* CCT6659 through optimisation of nutritional parameters using response surface methodology *Tenside Surf. Det.*, 50: 137-142.
- [16] Watcharasing, S.; Kongkowitz, W.; Scamehorn, S. (2009) Motor oil removal from water by continuous froth flotation using extended surfactant: Effects of air bubble parameters and surfactant concentration. *Sep. Purif. Technol.*, 70: 179-189.

TABLE 1

Experimental range and levels of independent variables for separation efficiency in the pilot scale daf system without use of the biosurfactant

| Test variables  | Range and levels |       |      |       |       |
|---|------------------|-------|------|-------|-------|
|   | -1.41            | -1.00 | 0.00 | +1.00 | +1.41 |
| Ratio between the air and<br>water flow rates $\cdot 10^3, (X_1)$         | 0.293            | 0.50  | 1.00 | 1.5   | 1.71  |
| Ratio between the water<br>and feed oil flow rates<br>$\cdot 10^4, (X_2)$ | 0.56             | 0.70  | 1.05 | 1.40  | 1.54  |

TABLE 2

Experimental range and levels of independent variables for separation efficiency in the pilot scale daf system with use of the biosurfactant

| Test variables   | Range and levels |       |      |       |       |
|--|------------------|-------|------|-------|-------|
|  | -1.41            | -1.00 | 0.00 | +1.00 | +1.41 |
| Ratio between the air and water flow rates $\cdot 10^3$ , ( $x_1$ )                | 0.30             | 0.50  | 1.00 | 1.5   | 1.71  |
| Ratio between the biosurfactant and feed water flow rates $\cdot 10^4$ , ( $x_2$ ) | 0.56             | 0.70  | 1.05 | 1.40  | 1.54  |

TABLE 3

Central composite (non-factorial) surface design matrix and experimental values of observed factors on separation efficiency in the pilot scale DAF system with and without use of biosurfactant

| <b>Run<br/>Number</b> | $(X_1/X'_1) \cdot 10^3$ | $(X_2/X'_2) \cdot 10^4$ | Y (%) | Y' (%) |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|-------|--------|
| <b>1</b>              | 0.50(-1)                | 0.7(-1)                 | 23.00 | 44.00  |
| <b>2</b>              | 0.50(-1)                | 1.4(+1)                 | 70.00 | 88.00  |
| <b>3</b>              | 1.50(+1)                | 0.7(-1)                 | 26.00 | 45.00  |
| <b>4</b>              | 1.50(+1)                | 1.4(+1)                 | 59.00 | 80.00  |
| <b>5</b>              | 0.30(-1.41)             | 1.05(0.0)               | 44.00 | 62.00  |
| <b>6</b>              | 1.71(+1.41)             | 1.05(0.0)               | 25.00 | 45.00  |
| <b>7</b>              | 1.00(0.0)               | 0.56(-1.41)             | 15.00 | 33.00  |
| <b>8</b>              | 1.00(0.0)               | 1.54(+1.41)             | 62.00 | 82.00  |
| <b>9</b>              | 1.00(0.0)               | 1.05(0.0)               | 75.00 | 96.00  |
| <b>10</b>             | 1.00(0.0)               | 1.05(0.0)               | 77.00 | 98.00  |
| <b>11</b>             | 1.00(0.0)               | 1.05(0.0)               | 78.00 | 98.00  |
| <b>12</b>             | 1.00(0.0)               | 1.05(0.0)               | 74.00 | 97.00  |

TABLE 4

Analysis of variance (ANOVA) for separation efficiency in the pilot scale daf system without use of the biosurfactant

| <b>Factor</b>                    | <b>Square sum (SS)</b> | <b>Degree of freedom</b> | <b>Mean square (MS)</b> | <b>F-value</b> | <b>p-value</b> |
|----------------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------|----------------|
| X <sub>1</sub> (L)               | 151.990                | 1                        | 151.990                 | 45.5970        | 0.006634       |
| X <sub>1</sub> (Q)               | 2250.000               | 1                        | 2250.000                | 675.0000       | 0.000125       |
| X <sub>2</sub> (L)               | 2681.611               | 1                        | 2681.611                | 804.4832       | 0.000096       |
| X <sub>2</sub> (Q)               | 1795.600               | 1                        | 1795.600                | 538.6800       | 0.000175       |
| X <sub>1</sub> by X <sub>2</sub> | 49.000                 | 1                        | 49.000                  | 14.7000        | 0.031275       |
| Lack of fit                      | 195.399                | 3                        | 65.133                  | 19.5399        | 0.017968       |
| Pure Error                       | 10.000                 | 3                        | 3.333                   | -              | -              |
| Total SS                         | 6464.667               | 11                       | -                       | -              | -              |

TABLE 5

Analysis of variance (ANOVA) for separation efficiency in the pilot scale daf system with use of the biosurfactant

| <b>Factor</b>                    | <b>Square sum (SS)</b> | <b>Degree of freedom</b> | <b>Mean square (MS)</b> | <b>F-value</b> | <b>p-value</b> |
|----------------------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------|----------------|
| X <sub>1</sub> (L)               | 151.990                | 1                        | 151.990                 | 45.5970        | 0.006634       |
| X <sub>1</sub> (Q)               | 2250.000               | 1                        | 2250.000                | 675.0000       | 0.000125       |
| X <sub>2</sub> (L)               | 2681.611               | 1                        | 2681.611                | 804.4832       | 0.000096       |
| X <sub>2</sub> (Q)               | 1795.600               | 1                        | 1795.600                | 538.6800       | 0.000175       |
| X <sub>1</sub> by X <sub>2</sub> | 49.000                 | 1                        | 49.000                  | 14.7000        | 0.031275       |
| Lack of fit                      | 195.399                | 3                        | 65.133                  | 19.5399        | 0.017968       |
| Pure Error                       | 10.000                 | 3                        | 3.333                   | -              | -              |
| Total SS                         | 6464.667               | 11                       | -                       | -              | -              |

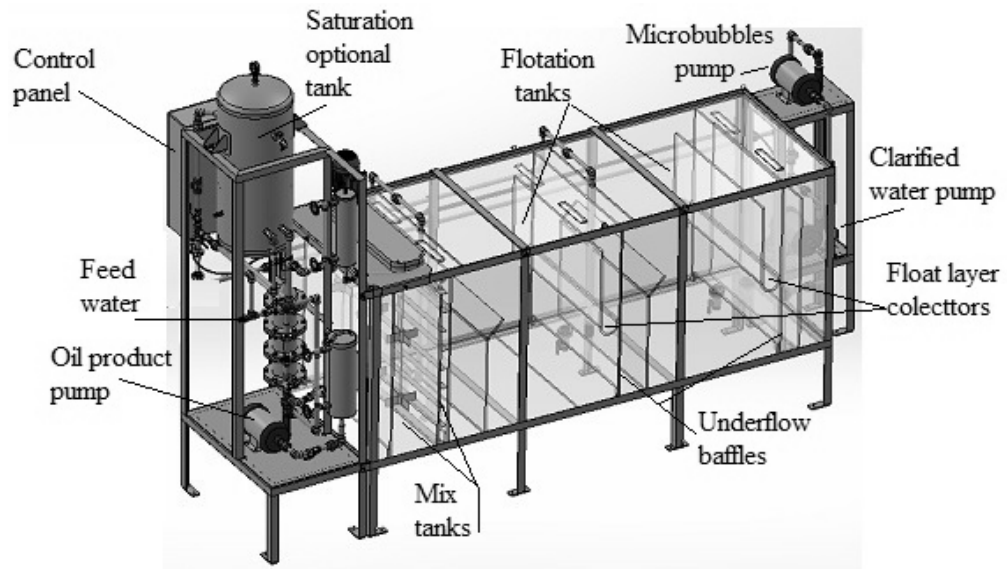


FIG. 1. Three dimensional scheme of pilot scale DAF system



FIG. 2. Photography of pilot scale DAF system



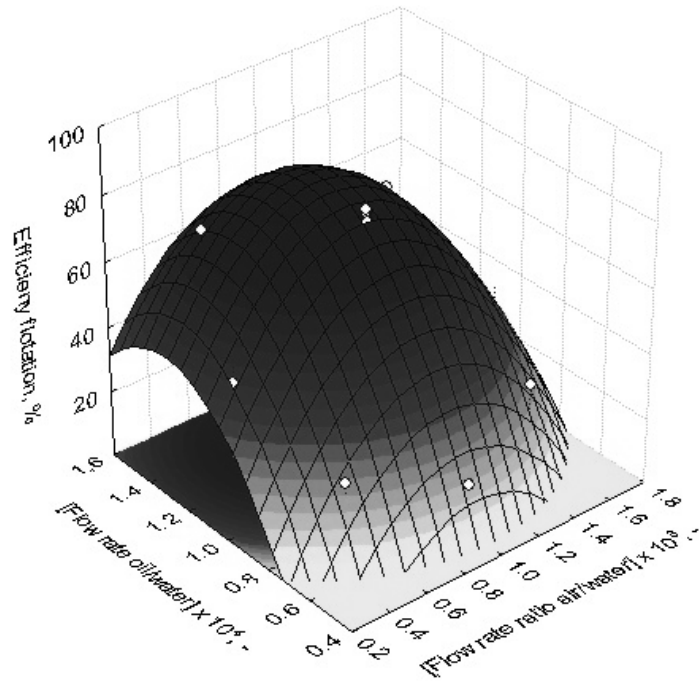


FIG.3. Three-dimensional surface plot of the combined effect of observed factors on separation efficiency in the pilot scale daf system without use of the biosurfactant

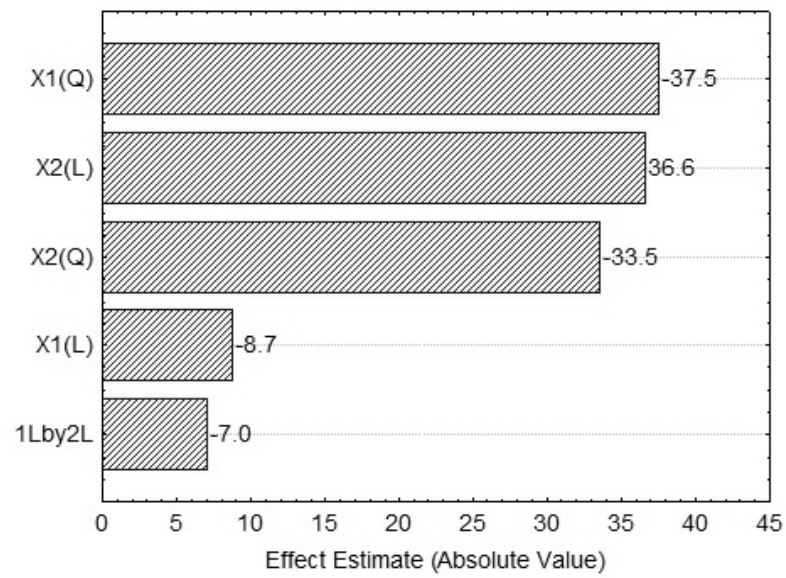


FIG. 4. Pareto chart showing the effects of observed factors and their combined impact on separation efficiency in the pilot scale DAF system without use of the biosurfactant

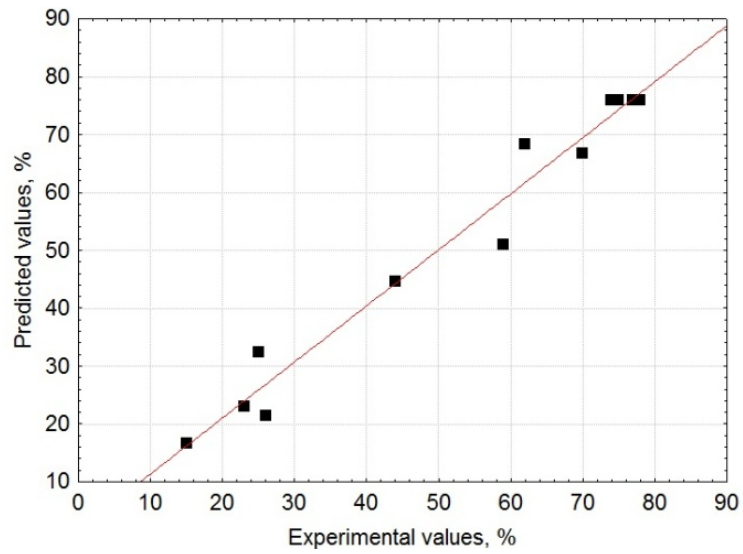


FIG. 5. Models validation. Comparison between predicted and experimental values in the pilot scale DAF system operating without use of the biosurfactant

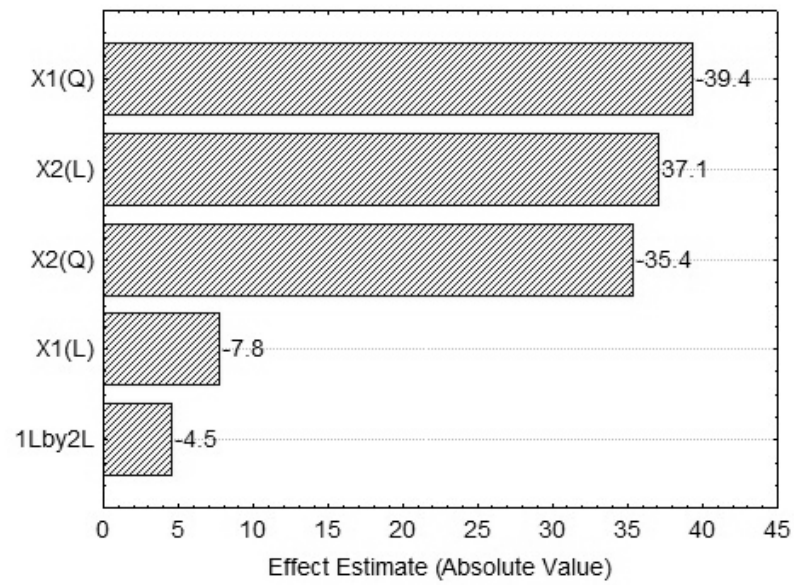


FIG. 6. Pareto chart showing the effects of observed factors and their combined impact on separation efficiency in the pilot scale DAF system with use of the biosurfactant

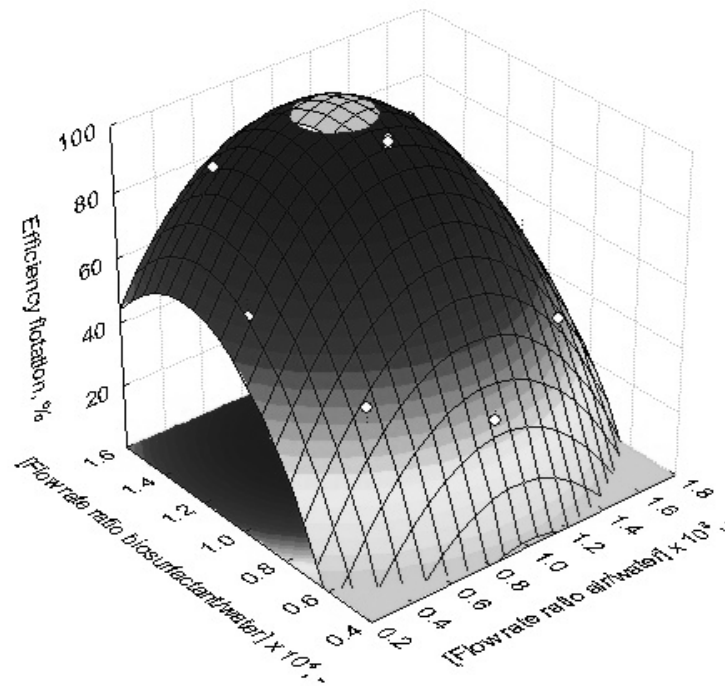


FIG. 7. Three-dimensional surface plot of the combined effect of observed factors on separation efficiency in the pilot scale DAF system with use of the biosurfactant

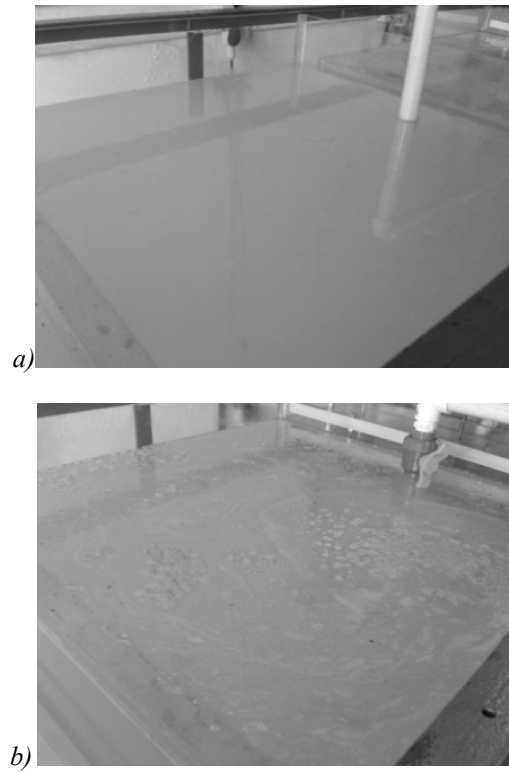


FIG. 8. Water free surfaces of the pilot scale DAF system: (a) without use of the biosurfactant; (b) with use of the biosurfactant

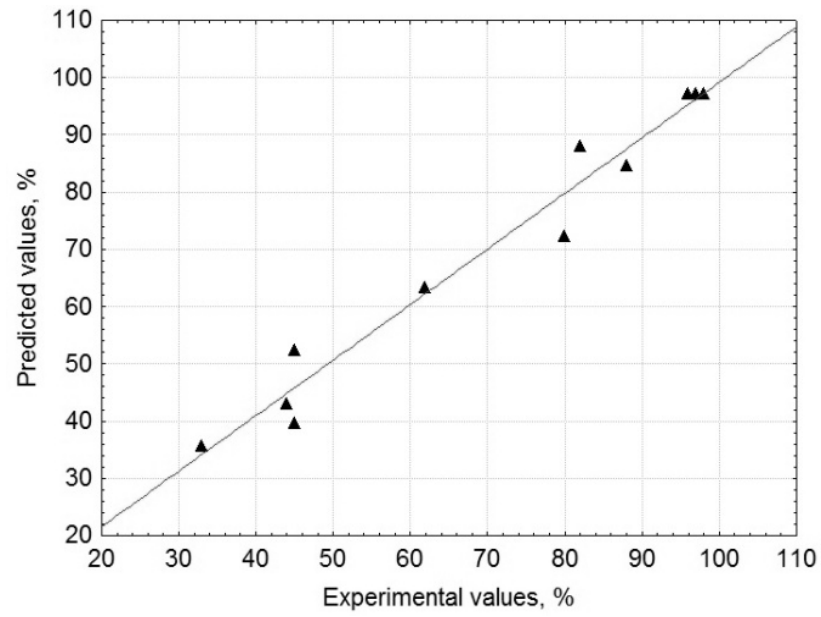


FIG. 9. Models validation. Comparison between predicted and experimental values of the separation efficiency in the pilot scale DAF system operating with use of biosurfactant

# **CAPÍTULO 3**



## CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados indicam que o processo de FAD pode ser eficaz com ou sem o uso de biotensoativos para o tratamento de águas oleosas. No entanto, a utilização do biotensoativos produzido por *C. sphaerica* provocou um aumento significativo na remoção do óleo em um efluente sintético, de 80,0% para 98,0%. Dessa forma, chegou-se a uma estratégia básica favorável à descontaminação de águas marinhas por derramamento de petróleo e derivados.

Além da vantagem de aumentar a eficiência de separação do FAD, a utilização de biossurfactantes possibilita a ampliação de práticas sustentáveis, com possíveis aproveitamentos de resíduos industriais, algumas vezes disponíveis em um único pólo industrial.

Observou-se ainda que o uso de protótipo em escala piloto permite a análise de importantes características do processo. Entre essas características encontra-se a determinação de faixas de valores para o funcionamento do sistema em estado estacionário. Esses valores são fundamentais para se estabelecer níveis de parâmetros (*set point*) e estratégias de controle instrumental para o equipamento.

O próximo passo é a realização de estudos teóricos e experimentais para descreverem os mecanismos responsáveis pelo efeito de diferentes tipos de biossurfactantes nos efluentes a serem tratados pelo processo de FAD. Outro desafio é estudar técnica e economicamente a melhor forma de produção de microbolhas para este processo. Em outras palavras, comparar as técnicas de saturação da água utilizadas para esse fim: se por injeção de ar atmosférico na linha de sucção da bomba de recirculação, ou se em um tanque de ar comprimido pressurizado.

**ANEXOS**

# Separation Science and Technology



ISSN 0149-6395 (Print), 1520-5754 (Online)



- Taylor & Francis
- [Publication History](#)
- [Sample copy](#)
- [Alert me](#)

## Executive Editor:

### Steven M. Cramer

*Isermann Department of Chemical and Biological Engineering  
Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, New York 12180*

## Associate Editors:

### David DePaoli

*Oak Ridge National Laboratory  
P. O. Box 2008, Oak Ridge, TN 37831*

### Scott Husson

*Department of Biomolecular & Chemical Engineering  
Clemson University  
Clemson, SC*

## Founding Editor:

### J. Calvin Giddings

This journal uses ScholarOne Manuscripts (previously Manuscript Central) to peer review manuscript submissions. Please read the [guide for ScholarOne authors](#) before making a submission. Complete guidelines for preparing and submitting your manuscript to this journal are provided below.

**Aims and Scope:** This international journal deals with fundamental and applied aspects of separation processes related to a wide variety of fields.



Please note that *Separation Science and Technology* uses [CrossCheck™](#) software to screen papers for unoriginal material. By submitting your paper to *Separation Science and Technology* you are agreeing to any necessary originality checks your paper may have to undergo during the peer review and production processes.

**Submission of Manuscripts:** *Separation Science and Technology* receives all manuscript

submissions electronically via their ScholarOne Manuscripts website located at: <http://mc.manuscriptcentral.com/LSST> . ScholarOne Manuscripts allows for rapid submission of original and revised manuscripts, as well as facilitating the review process and internal communication between authors, editors and reviewers via a web-based platform. For ScholarOne Manuscripts technical support, you may contact them by e-mail or phone support via <http://scholarone.com/services/support/> . If you have any other requests please contact the journal at [sepsci@msn.com](mailto:sepsci@msn.com) .

Each manuscript must be accompanied by a statement that it has not been published elsewhere and that it has not been submitted simultaneously for publication elsewhere. In addition, a statement must accompany that manuscript that clearly describes the novelty of the submitted manuscript and the contribution that it makes to the separation literature. Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources and are required to sign an agreement for the transfer of copyright to the publisher. All accepted manuscripts, artwork, and photographs become the property of the publisher.

All parts of the manuscript should be typewritten, double-spaced, with margins of at least one inch on all sides. Number manuscript pages consecutively throughout the paper. Authors should also supply a shortened version of the title suitable for the running head, not exceeding 50 character spaces. Each article should be summarized in an abstract of not more than 100 words. Avoid abbreviations, diagrams, and reference to the text in the abstract.

**References.** Please cite references in the text by number only, enclosed in brackets. At the end of the article, list the references in the order they appear in the text.

*Journal:* 1. Zhong, M.; Han, B.; Yan, H. (1991) Solubility of stearic acid in supercritical CO<sub>2</sub> with cosolvents. *J. Supercrit. Fluids* , 4 (4): 265.

*Book:* 2. Crank, J. (1975) *The Mathematics of Diffusion* , 2nd Ed.; Clarendon Press: Oxford, U.K.

*Patent* : 3. Johnson, K.P. Process for Fabricating Parts from Particulate Material. U.S. Patent 4,765,950, August 23, 1988.

**Illustrations.** Figures should be completely labeled, taking into account necessary size reduction. Captions should be typed, double-spaced, on a separate sheet.

**Color Reproduction.** Color art will be reproduced in color in the online publication at no additional cost to the author. Color illustrations will also be considered for print publication; however, the author will be required to bear the full cost involved in color art reproduction. Please note that color reprints can only be ordered if print reproduction costs are paid. Print Rates: \$900 for the first page of color; \$450 per page for the next three pages of color. A custom quote will be provided for articles with more than four pages of color. Art not supplied at a minimum of 300 dpi will not be considered for print.

**Tables.** A short descriptive title should appear above each table with a clear legend and any footnotes suitably identified below. All units must be included.

**Proofs** . Page proofs are sent to the designated author using Taylor & Francis' EProof system. They must be carefully checked and returned within 48 hours of receipt.

**Complimentary Policy and Reprints.** Authors for whom we receive a valid email address will be provided an opportunity to purchase reprints of individual articles, or copies of the complete print issue. These authors will also be given complimentary access to their final article on *Taylor & Francis Online*.

## CHECKLIST

### Completing the Publishing Agreement

- I have not published my Article previously.
- I have **not** submitted my Article to another journal, and I confirm that it is **not** under consideration by any other journal.
- I intend to publish the Article exclusively with Taylor & Francis.
- I am only claiming Crown Copyright if I or one of my co-Authors is a **Minister** or **civil servant**.
- I am only claiming U.S. Government non-Copyrightable Status if I or one of my co-Authors is an **officer** or **employee** of the **Federal Government** of the **United States of America**.
- If I or one of my colleagues is a National Institutes of Health (NIH) employee, I have attached an **NIH Addendum** instead of signing the Publishing Agreement.
- If I or one of my colleagues is a contractor of the U.S. Government (including NIH contractors), I have included my **contract number** and understand that I am still required to **complete the form in full**.
- I understand that if I am working in a university as a researcher/lecturer but am grant funded and am submitting this work as part of my normal research, my work does not qualify as a "work for hire".
- I have acknowledged any/all third party funders, giving full names and grant numbers.
- I have **not** used an electronic signature.
- I understand that I must return the completed and signed **original** of this form via **post**.
- If I have multiple papers, I have filled in each form for the paper with the tracking ID in the watermark in the top left. I have not reused a copy of the same form for multiple papers.

### My understanding

- My work is original.
- I have secured all the necessary permissions for use of third party material.
- I have not included any statement that could be considered: abusive, defamatory, libelous, obscene, fraudulent, to infringe the rights of others, or to be in any other way unlawful or in violation of applicable laws.
- I have obtained consent for inclusion of material related to patients, clients or

**participants in any research or clinical experiment or study**. Furthermore I confirm that no such individual can be identified by the article, nor will I identify them in any way.

- I have included any **relevant safety points and procedures** in the Article.
- I have reviewed the Taylor & Francis **Publishing Ethics and Disclosure of Conflicts of Interest policies**.
- I have acknowledged in the text of the Article any financial interest I have or benefit arising from the direct applications of my research.
- I have consulted any co-authors and guarantee that I have been **authorized by all co-authors to sign on their behalf**, if applicable.
- If the warranties outlined above are breached I understand that **I will keep Taylor & Francis and their affiliates indemnified in full against all loss, damages, injury, costs and expenses** (including legal and other professional fees and expenses) incurred or paid by Taylor & Francis as a result.

## FAQ