



JACQUELINE RÊGO DA SILVA RODRIGUES

**“DESENVOLVIMENTO DE BIODESEMULSIFICANTES PARA
A QUEBRA DE EMULSÃO ÁGUA EM ÓLEO”.**

**CAMPINAS
2013**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE SISTEMAS QUÍMICOS E
INFORMÁTICA**

JACQUELINE RÊGO DA SILVA RODRIGUES

**“DESENVOLVIMENTO DE BIODESEMULSIFICANTES PARA
A QUEBRA DE EMULSÃO ÁGUA EM ÓLEO”.**

Orientador: Prof. Dr. Elias Basile Tambourgi

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Química da Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutora em Engenharia Química.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE
DEFENDIDA PELA ALUNA JACQUELINE RÊGO DA SILVA RODRIGUES
E ORIENTADA PELO PROF. DR. ELIAS BASILE TAMBOURGI

Assinatura do Orientador

A handwritten signature in black ink is written over a horizontal line. The signature is stylized and appears to be the name of the supervisor, Prof. Dr. Elias Basile Tambourgi.

**CAMPINAS
2013**

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

R618d Rodrigues, Jacqueline Rêgo da Silva, 1972-
Desenvolvimento de biodesemulsificantes para a quebra de emulsão água em óleo / Jacqueline Rêgo da Silva Rodrigues. – Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Elias Basile Tambourgi.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Emulsões. 2. Água. 3. Meio ambiente. I. Tambourgi, Elias Basile, 1957-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Development of biodesemulsiers to break water in oil emulsion

Palavras-chave em inglês:

Emulsions

Water

Environment

Área de concentração: Sistemas de Processos Químicos e Informática

Titulação: Doutora em Engenharia Química

Banca examinadora:

Elias Basile Tambourgi [Orientador]

Roberto Rodrigues de Souza

Luiz Carlos Bertevello

Patrícia Bernardi Leite da Silva

Fabiana Maria Salvador Navarro

Data de defesa: 03-06-2013

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química

Tese de Doutorado defendida por Jacqueline Rêgo da Silva Rodrigues, em 03 de junho de 2013 e aprovada pela banca constituída pelos doutores:



Elias Basile Tambourgi



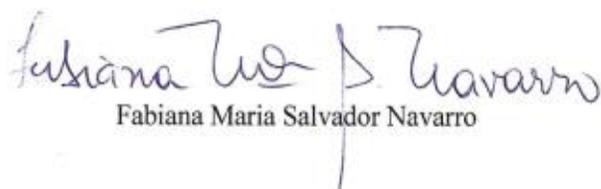
Roberto Rodrigues de Souza



Luiz Carlos Bertevello



Patricia Bernardi Leite da Silva



Fabiana Maria Salvador Navarro

Dedico este trabalho aos quatro pilares da minha vida, minha mãe - Marlene Menezes Rêgo da Silva, meu pai - Manoel Edson Marques da Silva, meu marido – Antônio Pereira Rodrigues Neto e minha fiel amiga-mãe – Valdina da Silva.

Agradeço ao Pai Todo Poderoso e a Mãe do Vosso Filho amado pela infinita sabedoria e bondade em sempre socorrer e proporcionar a serenidade necessária para eu possa enfrentar os momentos mais difíceis da minha vida.

Ao Prof. Dr. Elias Basile Tambourgi, meu orientador, por ter aceitado ser meu orientador e por ter confiado a mim este projeto de pesquisa. Muito obrigada pela grandiosa contribuição acadêmica.

Ao Prof. Dr. Roberto Rodrigues de Souza, meu co-orientador, por ter viabilizado toda a parte experimental desta pesquisa e pela boa vontade em sempre auxiliar-me e orientar-me durante todo o momento da pesquisa. O meu muito obrigada ao senhor Prof. Roberto, mestre e amigo. Ao corpo técnico do laboratório, representado pela Dra. Anita, quem esteve solícita em responder às minhas dúvidas, meus sinceros agradecimentos.

Meus agradecimentos à Universidade Estadual de Campinas representada pela Faculdade de Engenharia Química que permitiu fazer este trabalho em parceria com a Universidade Federal de Sergipe nos laboratórios de Biotecnologia Ambiental, de Inovação Tecnológica e de Caracterização e Desenvolvimento de Materiais. Muito obrigada pela utilização dos espaços e equipamentos para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos Professores Dr. José Jailton Marques, Dr. Gabriel Francisco da Silva e a Dra. Gisélia Cardoso por terem permitido que utilizasse os laboratórios de suas responsabilidades.

Ao meu avô, Hildebrando Luiz do Rêgo, in memoriam, símbolo de integridade como pessoa e como chefe de família, fonte de inspiração para mim.

Aos meus pais, Marlene e Edson, que sempre fizeram de tudo sem medir esforços para que eu crescesse como pessoa, sempre me incentivando aos estudos, pois acreditam que os estudos são capazes de enobrecer e dignificar um ser humano.

Ao meu grande e valioso amor, Antônio, quem sempre está ao meu lado me aconselhando e ajudando em todos os momentos da minha vida. Agradeço por todo incentivo e horas que estive no laboratório fazendo companhia.

A Valdina pelas inúmeras orações realizadas a Deus para que Ele sempre guiasse os meus passos.

E por fim a todos que não foram citados, por um lapso de memória, mas que estiveram ao meu lado auxiliando-me, direta ou indiretamente, durante a efetivação desta longa jornada.

RESUMO

Nos processos de perfuração do petróleo, a emulsão gerada entre a água e o óleo deve ser quebrada com o uso de desemulsificantes, a fim de reduzir os problemas de corrosão em tubulações e equipamentos resultantes de impurezas presentes na água produzida; além disso, o excesso de água emulsionada no óleo cru aumenta os custos de transporte do óleo até as refinarias. Como consequência da desemulsificação tem-se a água produzida a qual muitas vezes é descartada junto com desemulsificante químico no meio ambiente sem nenhum tratamento; o que vem impulsionando a indústria de petróleo a substituir o uso destes por biodesemulsificantes. Apesar da alta eficiência na quebra de emulsão, os biodesemulsificantes apresentam um baixo rendimento e um elevado custo de produção quando comparados com os desemulsificantes químicos. Mesmo assim, as bactérias com capacidade desemulsificante representam uma solução inovadora na desemulsificação de emulsões de óleo em água ou água em óleo, devido à baixa toxicidade, biodegradabilidade e alta eficiência em condições não apropriadas. Diante deste fato despertou-se o interesse em minimizar o custo e, portanto no emprego de resíduos da agroindustrial como uma fonte alternativa de substrato para uma produção economicamente viável de biodesemulsificante. Os biodesemulsificantes produzidos por cepas de *Alcaligenes* sp. e *Bacillus Subtilis* empregando como fonte de carbono alternativa a manipueira que é um rejeito líquido rico em amido resultante do processo de prensagem da mandioca, representa uma solução promissora para a produção de biodesemulsificantes; além de reduzir o descarte da manipueira no meio ambiente e o custo do bioproduto. Os resultados demonstraram que os biodesemulsificantes de ramnolipídeos e de sulfactinas são eficientes na quebra de emulsões do tipo W/O (água em óleo), além de serem menos tóxicos e mais biodegradáveis quando comparados com os desemulsificantes químicos, tornando-se um produto alternativo no mercado.

Palavras-chave: biodesemulsificantes, bactérias desemulsificantes, emulsão, cepas de bactérias.

ABSTRACT

On the petroleum extraction process, the emulsion created between the water and the oil must be broken with the use of demulsifiers, in order to reduce the corrosion problems on pipes and equipment resultant of impurities present in the produced water; furthermore, the excess of emulsified water on the raw oil increases the oil transport costs to the refineries. As a result of the demulsification has been produced water which is often discarded along with the de-emulsifying chemical environment without any treatment; which has been pushing the petroleum industry to replace these by the use biodemulsifiers. Despite its high efficiency in emulsion breaking, the biodemulsifiers have a low yield and high production cost when compared with demulsifiers chemicals. Moreover, bacterias with demulsification capability represent an innovative solution on the demulsification of a W/O emulsion or an O/W emulsion, due to the low toxicity, biodegradability and high efficiency in extreme conditions.

On this fact, arose the interest of minimizing costs and therefore the use of agro-industrial waste as alternative substrate for an economically viable production of biodemulsifier. The biodemulsifiers produced by strains of *Alcaligenes* sp. and *Bacillus subtilis* using as an alternative carbon font to cassava toxic, which is a liquid reject rich on starch resultant of the cassava pressing process, represents a promising solution to the production of demulsifiers; also reducing the discard of the cassava toxic on the environment and the cost of the . The results showed that the rhamnolipids and surfactins biodemulsifiers are efficient on the breaking of W/O type emulsions, in addition to being less toxic and more biodegradable when compared with the chemical biodemulsifiers, making it an alternate product on the market.

Keywords: biodemulsifiers, bacterias demulsifiers, emulsion, strains of bacterias.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xxi
LISTA DE FIGURAS	xxiii
INTRODUÇÃO	3
CAPÍTULO I – REVISÃO LITERÁRIA	8
1.1 - O Petróleo	10
1.2 - Processo de Perfuração	11
1.3 - Processos de Exploração do Petróleo	13
1.4 - Exploração e Produção Primárias de Fluidos	15
1.5 - Processos de Separação	18
1.6 – Emulsão	21
1.7 - Biodesemulsificantes e Meio de Cultura	28
1.8 - Processamento Primário do Petróleo	36
1.9 - Tratamento da Água Produzida	40
CAPÍTULO II – MATERIAIS E MÉTODOS	43
2.1 - Repicagem de Micro-organismos, Inóculo e Cultivo	45
2.2 - Análises para Avaliação da Produção de Biodesemulsificante	47
2.3 - Planejamento Experimental	53
2.4 - Preparo de Emulsão e Teste de Desemulsificação	54
CAPÍTULO III - RESULTADOS E DISCUSSÕES	58
3.1 – Crescimento Microbiano	60
3.2 – Produção do Biodesemulsificante	66
3.3 – Aplicações dos Biodesemulsificantes	75
3.4 – Planejamento Experimental – Tratamento de Dados	84

3.5 – Estimativa de Custos de Produção -----	87
CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS ----	90
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA -----	94
APÊNDICE A, B -----	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Componentes de óleos crus conforme TRIGGIA et al. (2001) -----	4
Tabela 2 - Composição do Petróleo conforme TRIGGIA et al. (2001) -----	4
Tabela 2.1 - Diluições para a curva de calibração da <i>Alcaligenes</i> sp. -----	51
Tabela 2.2 - Diluições para a curva de calibração do <i>Bacillus subtilis</i> -----	52
Tabela 2.3 - planejamento experimental tipo DCCR (Design 2**(3-0)) -----	53
Tabela 2.4 - Matriz normalizada do planejamento experimental -----	54
Tabela 3.1 - Tensão superficial na condição de 150 rpm, pH = 7,0, 2% de parafina (%v/v) e 4% de manipueira (%v/v) -----	67
Tabela 3.2 - Volumes de quebra de emulsão água/querosene -----	77
Tabela 3.3 - Volumes de quebra de emulsão água/petróleo -----	79
Tabela 3.4: Custo de cada reagente empregado na produção do biodesemulsificante --	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Esquema de sonda rotativa - TRIGGIA et al. (2001) -----	12
Figura 1.2 - Diagrama de fases - TRIGGIA et al. (2001) -----	13
Figura 1.3 - Processamento primários de fluidos - TRIGGIA et al. (2001) -----	16
Figura 1.4 - Tecnologia para redução de olefina em craqueamento fluido catalítico da nafta - TRIGGIA et al. (2001) -----	20
Figura 1.5 - Emulsão de petróleo do tipo A/O por microscopia - KUNERT (2007) ----	22
Figura 1.6 - Microemulsões A/O e O/A - OLIVEIRA (2004) -----	22
Figura 1.7 - Repulsão entre gotas de água por emulsificantes - SANTOS et al. (2010)-	24
Figura 1.8 - Condições de floculação sem e com sobreposição das gotas de água respectivamente - SANTOS et al. (2010) -----	29
Figura 1.9 - Mecanismo de desestabilização de emulsão pela ação de desemulsificantes. - KUNERT et al. (2007) -----	30
Figura 1.10 - Formação de dipolo induzido - KUNERT, e. al. (2007) -----	31
Figura 1.11 - Separador bifásico - TRIGGIA et al. (2001) -----	38
Figura 1.12 - Separador trifásico- TRIGGIA et al. (2001) -----	39
Figura 1.13 – Flotador com indução de ar nos sistemas água/sólidos suspensos/óleo - KUNERT, et al. (2007) -----	41
Figura 2.1 – Alcaligenes sp. semeada no LABAM -----	45
Figura 2.2 - Bacillus subtilis semeado no LABAM -----	46
Figura 2.3 – Shaker empregado nas fermentações -----	48
Figura 2.4 - Centrífuga para a separação das partículas sólidas do meio -----	48
Figura 2.5 - Espectrofotômetro para análise de absorvância -----	49
Figura 2.6 - Tensiômetro para análise de tensão superficial -----	49

Figura 2.7 - Filtração a vácuo com membrana -----	50
Figura 2.8 - Curva de calibração para a <i>Alcaligenes</i> sp -----	51
Figura 2.9 - Curva de calibração para <i>Bacillus subtilis</i> -----	52
Figura 2.10 - Picnômetro com emulsão de querosene -----	55
Figura 2.11 - Banho termostático -----	56
Figura 2.12 A – Reômetro, marca Brookfield, modelo DV III - Analisador de tensão e taxa de cisalhamento, viscosidade dinâmica -----	56
Figura 2.12 B – Reômetro, marca Brookfield, modelo DV III - Registrador dos resultados -----	57
Figura 3.1 - Curva de crescimento dos micro-organismos (ponto central, rotação de 120rpm, 4% de parafina e 8% manipueira) -----	61
Figura 3.2 – Curva de crescimento dos micro-organismos (experimento 6, rotação de 150rpm, 6% de parafina e 4% manipueira) -----	62
Figura 3.3 – Curva de crescimento dos micro-organismos (experimento 8, rotação de 150rpm, 6% de parafina e 12% manipueira) -----	63
Figura 3.4 – Curva de crescimento dos micro-organismos (experimento 5, rotação de 150rpm, 2% de parafina e 4% manipueira) -----	63
Figura 3.5 – Curva de crescimento dos micro-organismos (experimento 7, rotação de 150rpm, 2% de parafina e 12% manipueira) -----	64
Figura 3.6 – Curva de crescimento dos micro-organismos (experimento 4, rotação de 90 rpm, 6% de parafina e 12% manipueira) -----	65
Figura 3.7 - Acompanhamento da tensão superficial no ponto central, rotação de 120rpm, 4% de parafina e 8% manipueira -----	68

Figura 3.8 - Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 150 rpm, 6% de parafina e 4% manipueira -----	69
Figura 3.9 - Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 150 rpm, 6% de parafina e 12% manipueira -----	70
Figura 3.10 - Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 150 rpm, 2% de parafina e 4% manipueira -----	71
Figura 3.11 - Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 150rpm, 2% de parafina e 12% manipueira -----	72
Figura 3.12 - Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 90rpm, 6% de parafina e 12% manipueira -----	73
Figura 3.13 - Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 90rpm, 2% de parafina e 4% manipueira -----	73
Figura 3.14 – Acompanhamento da quebra de emulsão água/petróleo com o biodesemulsificante produzido a partir do Bacillus subtilis -----	80
Figura 3.15 - Acompanhamento da quebra de emulsão água/petróleo com a primeira e a quarta provetas sem biodesemulsificantes-----	80
Figura 3.16 – Acompanhamento da tensão de cisalhamento versus a taxa de cisalhamento na emulsão água/querosene -----	82
Figura 3.17 - Acompanhamento da tensão de cisalhamento versus a viscosidade na emulsão água/querosene -----	82
Figura 3.18 - Acompanhamento da tensão de cisalhamento versus a taxa de cisalhamento na emulsão água/petróleo -----	83
Figura 3.19 - Acompanhamento da tensão de cisalhamento versus a viscosidade na emulsão água/petróleo -----	84

Figura 3.20 – Diagrama de Pareto para o bioproduto obtido a partir do <i>Bacillus subtilis</i>	85
Figura 3.21 – Área de superfície para o bioproduto obtido a partir do <i>Bacillus subtilis</i>	86
Figura 3.22 – Diagrama de Pareto para o bioproduto obtido a partir da <i>Alcaligenes sp.</i>	86
Figura 3.23 – Área de superfície para o bioproduto obtido a partir da <i>Alcaligenes sp.</i>	87

INTRODUÇÃO

A utilização do petróleo iniciou-se em épocas remotas, a exemplo dos egípcios que o empregavam para embalsamar mortos, construir as pirâmides, além do emprego para fins bélicos. Ainda segundo o citado pesquisador, a partir do século XIX, a técnica de destilação começou a ser empregada para a obtenção dos derivados do petróleo, sendo o querosene, um subproduto bastante valioso na época, o qual era empregado para a iluminação. (SPEIGHT, 1999).

A palavra petróleo é derivada do latim “petra” e “oleum” que significa pedra de óleo e refere-se a uma complexa mistura de hidrocarbonetos existentes em rochas sedimentares em forma de gases, líquidos, semi-sólidos ou sólidos. Além de hidrocarbonetos, o nitrogênio, oxigênio, enxofre, resinas, asfaltenos e compostos metálicos em quantidades menores, também podem ser encontrados no petróleo. (SPEIGHT, 1999).

Os hidrocarbonetos de petróleo podem ser classificados como cadeia aberta ou fechada. Em que os de cadeia aberta são conhecidos como PHCs, contemplam uma grande quantidade de produtos químicos tais como gasolina, querosene, óleo combustível, óleo pesado, óleo lubrificante. Já, os de cadeia fechada, ou seja, os hidrocarbonetos de petróleo aromáticos policíclicos são conhecidos como PAHs, tais como naftalenos e pirenos, têm como características baixa volatilidade, elevado peso molecular devido à presença de vários anéis benzeno ligados entre si.

Os hidrocarbonetos de petróleo aromáticos policíclicos – PAHs- podem ser originados a partir da combustão incompleta de materiais orgânicos, como madeira, carvão mineral e óleos, assim como do resultado da poluição causada pelos hidrocarbonetos de cadeia aberta – PHCs. Os PAHs com dois ou três anéis benzeno em sua estrutura molecular como naftalenos, metil-naftalenos e acenaftenos são bastante tóxicos, porém não carcinogênico para muitos organismos. Enquanto que os com quatro, cinco ou seis anéis benzeno como pireno, benzo(a)pireno, fluoraneno são menos tóxicos, porém com elevado grau carcinogênico. (SHOUMING OU et al, 2004).

As características dos óleos crus, como, cor, densidade, viscosidade, presença de gás, presentes nos reservatórios são diferentes, entretanto apresentam análises elementares semelhantes, ou seja, as altas porcentagens estão com o carbono e hidrogênio, enquanto que

enxofre, nitrogênio, oxigênio, metais estão em porcentagem menor, conforme a tabela 1 abaixo: (Triggia et al, 2001).

Tabela 1: Componentes de óleos crus

Componentes	% em peso
Hidrogênio	11,14%
Carbono	83,87%
Enxofre	0,06-8%
Nitrogênio	0,11-1,7%
Oxigênio	0,1-2%
Metais	≤0,3%

Fonte: Fundamentos de Engenharia de Petróleo - TRIGGIA et al, 2001.

Os principais grupos orgânicos presentes nos óleos crus, como já citados, são hidrocarbonetos saturados, hidrocarbonetos aromáticos, resinas e asfaltenos, cuja composição química pode ser expressa conforme a tabela 2 abaixo:

Tabela 2: Composição do Petróleo

Grupos Orgânicos	Porcentagem
Parafinas naturais	14%
Parafinas ramificadas	16%
Parafinas (cíclicas) naftênicas	30%
Aromáticos	30%
Resinas e asfaltenos	10%

Fonte: Fundamentos de Engenharia de Petróleo - TRIGGIA et al, 2001.

O gás natural, por sua vez, representa uma mistura de hidrocarbonetos que abrange desde o metano até o hexano, pode apresentar-se na forma livre ou associado ao óleo cru nos reservatórios contendo diluentes e contaminantes. (TRIGGIA et al, 2001).

O acúmulo de óleo cru ao longo do tempo geológico em rochas porosas no subsolo da terra é chamado de reservatório. Estes reservatórios, em algumas situações existem com uma sobre camada de gás encapsulado. O óleo reside junto com a água ou gás livre em pequenos poros de diferentes tamanhos, formas e grau de interconexão de um poro com outro dentro de um

mesmo reservatório. Portanto, a anatomia de um reservatório é bastante complexa, pois depende das formações rochosas como também das propriedades do fluido.

O óleo cru pode ser descrito como um fluido verde acastanhado a preto com gravidade específica de 0,810 a 0,985, ponto de ebulição na faixa de 20 a 350 °C. Sua composição é bastante variável e depende não somente da composição original como também do tipo de produção e do estágio de vida do poço ou reservatório.

A identificação das formações rochosas favoráveis à existência de depósitos de óleos, mediante o uso de técnicas geológicas, representa a primeira etapa para a prospecção do petróleo.

A etapa de perfuração do solo e subsolo, seja com o auxílio ou não de injeção de água ou vapor nos reservatórios, é empregada para emergir o óleo cru à superfície, o qual será transportado por tubulações às refinarias, onde então, inicia-se a etapa de refino, ou seja, de extração e destilação do petróleo em frações de diferentes volatilidades.

O petróleo é caracterizado como uma importante fonte de energia; além dos seus derivados servirem como matéria-prima para a fabricação de inúmeros bens de consumo, tais como: fibras sintéticas, fertilizantes, inseticidas, sabonetes, borrachas sintéticas. Esses derivados podem ser obtidos através do refino do petróleo, o qual engloba etapas físicas e químicas de separação, além da etapa de conversão. Sendo assim, os derivados de petróleo podem ser caracterizados como produtos energéticos – combustíveis e gases em geral; produtos não energéticos – parafinas, lubrificantes e petroquímicos.

A indústria petroquímica no Brasil tem como matéria-prima primordial para a produção de resinas, o estireno, o propeno, o eteno, os quais são oriundos do craqueamento da nafta, a qual é responsável por 90% da produção destes insumos. Esta por sua vez advinda da primeira etapa do refino na destilação atmosférica. Porém, a escassez da nafta em função do menor rendimento do petróleo pesado e da gasolina apresentar um alto teor de nafta, cerca de 45%, passará a ser suprida com fontes alternativas como gás natural, propano e álcool.

Uma ampla gama de estudos com biotransformação, biodegradação e de biorremediação de hidrocarbonetos de petróleo, como também em organismos degradantes de petróleo, afim de que possam trabalhar na redução de impactos ambientais ocasionados pelos acidentes ambientais com o petróleo e seus derivados, tornaram-se a ideia central da microbiologia do petróleo. Estes estudos veem tentando descrever a interação entre os micro-organismos e os hidrocarbonetos a partir da contaminação do meio ambiente pelo óleo cru.

A exemplo destacam-se os processos de emulsificação e desemulsificação utilizando bactérias isoladas do solo contaminado com óleo e a relação entre estes micro-organismos e os hidrocarbonetos de petróleo. (MAMME, SINGH e WARD, 2003).

As emulsões do tipo água em óleo, formadas em vários estágios de exploração, produção e recuperação de petróleo, representam um grande problema para a indústria do petróleo, como por exemplo, incrustações e corrosões em tubulações e equipamentos. Conforme a ANP – Agência Nacional de Petróleo, o teor máximo de água em óleo é de 2% para que o óleo bruto possa ser vendável para as refinarias. Desta forma bactérias do tipo *Rhodococcus auranticus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus spp.*, *Pseudomonas* são empregadas na desemulsificação da água em óleo. Como vantagens do emprego destas bactérias para a produção dos biodesemulsificantes é a capacidade das mesmas poderem operar entre temperaturas de 35 a aproximadamente 50°C, o que facilita a redução da viscosidade aparente dos óleos e conseqüentemente o processo de desemulsificação é mais acelerado em razão da maior facilidade de deslocamento dos emulsionantes presentes na interface óleo-água, graças às suas propriedades hidrofóbicas e hidrofílicas. Além de preços mais competitivos em relação aos desemulsificantes químicos.

Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivo geral desenvolver biodesemulsificantes para a quebra de emulsão água produzida e óleo cru, através de bactérias desemulsificantes, *Alcaligenes sp.* e *Bacillus subtilis*. Para se atingir este objetivo defini-se os seguintes objetivos específicos:

- avaliar o uso de um resíduo agroindustrial como fonte de carbono para a produção de biodesemulsificantes;
- avaliar a interferência da parafina com a manipueira no crescimento microbiano da *Alcaligenes sp.* e do *Bacillus subtilis*, visando definir o melhor tempo de produção de cada biodesemulsificante;
- analisar a interação da parafina com a manipueira na queda da tensão superficial durante produção dos biodesemulsificantes produzidos.
- comparar o desempenho de desemulsificação dos desemulsificantes biológicos produzidos a partir das bactérias *Alcaligenes sp.* e *Bacillus subtilis*; os quais são empregados na quebra de emulsão água em óleo.

A grande importância da quebra de emulsão em diversos processos industriais, especialmente na indústria do petróleo, está na busca de alternativas para eliminar a água produzida presente no óleo; logo, neste trabalho é apresentado no capítulo I, um breve comentário sobre produção, exploração e produção primária de fluidos; como também é abordado o estudo sobre o atual desenvolvimento das pesquisas realizadas sobre quebra e a importância das emulsões, biodesemulsificantes e meio de cultura.

No capítulo II descreve-se o procedimento utilizado para a realização dos experimentos e a combinação de parâmetros estudados através do planejamento experimental.

No capítulo III apresenta-se uma análise e discussão dos dados obtidos para o crescimento do micro-organismo, a produção do biodesemulsificante e a aplicação do bioproduto na quebra das emulsões, como também, a avaliação simplificada dos custos de produção.

Finalmente no capítulo IV estão as conclusões obtidas neste estudo e as sugestões para estudos posteriores que contribuam para o aprofundamento de conhecimentos nesta área.

CAPÍTULO I
REVISÃO LITERÁRIA

1.1 - O Petróleo

A origem do petróleo é a partir da matéria orgânica depositada junto com os sedimentos. Assim, a interação da matéria orgânica, sedimentos e condições termoquímicas apropriadas favorecem a formação do petróleo, o qual apresenta pequenas quantidades de nitrogênio, oxigênio, compostos sulfurosos, como também traços de constituintes metálicos. (TRIGGIA et al, 2001). Logo se pode dizer que o ciclo geoquímico do carbono tem função importante na formação de combustíveis fósseis.

A composição do óleo cru presente em um poço é variável e depende não somente de sua composição original, mas também do processo de produção e do estágio de vida produtiva do poço ou reservatório. Para o caso de formações recentes e sob condições ideais a proporção de gás ideal pode ser tão alta quanto a de óleo. Isto significa que a solução de líquido imersa em gás pode conduzir a rocha reservatório a uma alta eficiência.

O processo de descoberta do petróleo no subsolo é caracterizado como prospecção que tem a finalidade de localizar dentro de uma bacia sedimentar as situações geológicas que tenham condição para acumular petróleo e de verificar em quais rochas há uma maior chance de possuir óleo cru. Os métodos geológicos e geofísicos. Estes métodos permitem o mapeamento das rochas, ou seja, a identificação de estruturas capazes de acumular hidrocarbonetos, como também a caracterização das propriedades físicas das rochas. (TRIGGIA et al, 2001).

Somente no final do século XIX foi que os geólogos começaram a classificar as rochas como porosas (calcárias, dolomitas) ou impermeáveis (barro, xisto); onde as primeiras eram classificadas como adequadas aos reservatórios de petróleo e as segundas como inadequadas ao fluxo e reserva do óleo cru. A partir do século XX, novas técnicas geológicas e geofísicas surgiram para facilitar a exploração do petróleo e passaram a contemplar o magnetismo, a gravimetria e a sismografia. (SPEIGHT, 1999).

A aerofotogrametria e fotogeologia são técnicas geológicas empregadas para a construção de mapas geológicos, enquanto que a gravimetria e a magnetometria são técnicas geofísicas empregadas para definir a estrutura e composição das rochas.

Os métodos magnéticos baseiam-se em efeitos magnéticos produzidos pelas concentrações variáveis de minerais ferromagnéticos existentes no solo e subsolo; desta forma, o medidor magnético é capaz de detectar as diferentes propriedades magnéticas das formações rochosas. Enquanto que os métodos gravimétricos estão relacionados com as grandezas físicas quantitativas, ou seja, com a diferença de densidade e com a disposição geológica.

Para a exploração do óleo e gás do subsolo, os testes gravimétricos não estão diretamente relacionados com o controle da densidade e sim com o mapeamento provável de estruturas geológicas, ou seja, com a idade das rochas, capazes de armazenar óleo e gás de petróleo. Já os métodos sísmicos são baseados nos intervalos de tempo que transcorrem entre o início do som de uma onda de detonação de uma carga dinamite ou de um abalo artificial e a chegada dos impulsos de vibração nas séries de detectores sísmicos. As chegadas são ampliadas e registradas ao longo do tempo; assim o sismógrafo é formado. (TRIGGIA et al, 2001).

1.2 - Processo de Perfuração

O processo de perfuração para a exploração do óleo cru tem como finalidade dá início à produção e deve continuar depois que o campo entra em operação, a fim de definir as fronteiras dos poços de óleo cru. Assim, as perfurações são feitas na mesma localização, porém em diferentes profundidades. (SPEIGHT, 1999).

O primeiro processo de perfuração empregado para a extração do petróleo foi o rotativo, cuja profundidade máxima atingida era de 354 metros. (TRIGGIA et al, 2001). Na perfuração rotativa, as rochas são perfuradas pela ação da rotação e peso aplicados a uma broca existente na extremidade de uma coluna de perfuração. Para a remoção dos fragmentos das rochas emprega-se um fluido de perfuração ou lama, o qual é injetado por bombas para o interior da coluna de perfuração através da cabeça de injeção e retorna à superfície através do espaço anular formado pelas paredes do poço e a coluna. (TRIGGIA et al, 2001).

A coluna de perfuração somente é retirada do poço, após ser atingida uma determinada profundidade, para tanto, uma coluna com revestimento em aço é descida no poço com a finalidade de bloquear a passagem de água, óleo ou gases de outras formações rochosas não desejáveis, e de prevenir o desmoronamento do poço. Uma camada de cimento, também é

injetada entre o tubo e a parede do poço para bloquear o fluxo de fluidos não desejáveis entre as camadas rochosas. (SPEIGHT, 1999). Isto leva a um monitoramento constante do poço, evita o desperdício durante o jorro do óleo e permite que a coluna de perfuração seja novamente descida no poço a fim de dar continuação à perfuração. Este monitoramento inicia-se com a primeira perfuração, já que os poços apresentam um fluxo natural ascendente de gás e fluidos.

O esquema de perfuração de um poço pode ser evidenciado conforme a figura 1.1, onde o bloco de coroamento, a catarina, guincho e o gancho fazem parte do sistema de movimentação de carga (colunas de perfuração, de revestimento); a mesa rotativa permite girar a coluna de perfuração; o kelly é o elemento que transmite rotação proveniente da mesa rotativa à coluna; a subestrutura montada sobre a base da sonda que permite que os equipamentos de segurança venham a serem instalados; bomba de lama faz a sucção do fluido de perfuração dos tanques e injeta na coluna de perfuração; swivel ou cabeça de injeção permite que a parte superior da sonda não gire e que a inferior sofra rotação; os motores diesel fornecem a energia necessária aos equipamentos da sonda, em se tratando de sondas marítimas a energia é advinda do gás natural.

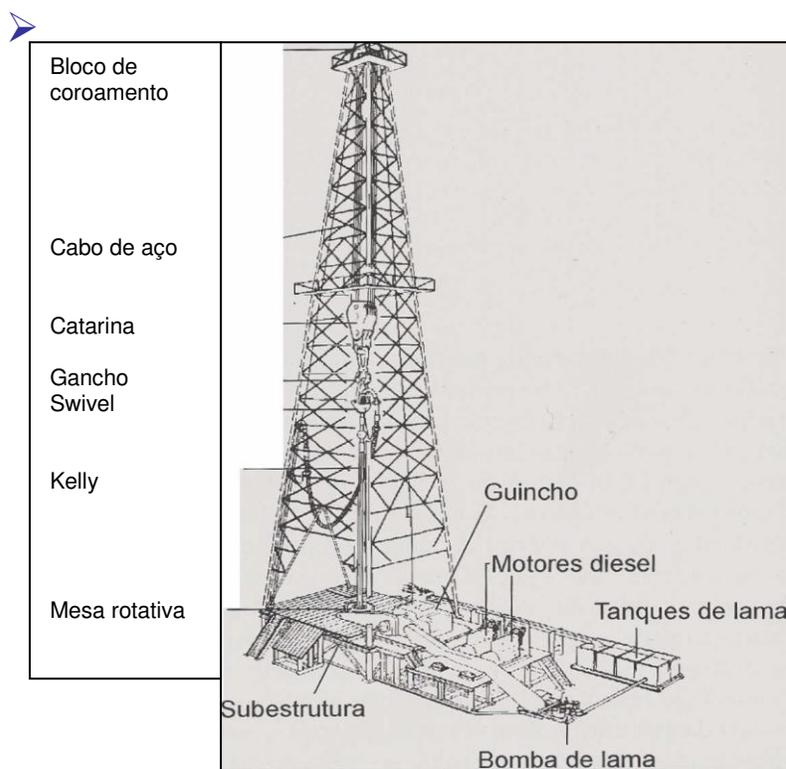


Figura 1.1: Esquema de sonda rotativa
Fonte: TRIGGIA et al, 2001.

Os fluidos de perfuração são misturas complexas de sólidos, líquidos e produtos químicos que devem apresentar as seguintes características: estabilidade química, facilitar a separação dos cascalhos na superfície, manter os sólidos em suspensão quando em repouso, apresentar baixo grau de corrosão e abrasão.

Os reservatórios de gás referem-se à mistura de hidrocarbonetos que se encontra no estado gasoso. Na figura 1.2, o ponto 2 representa o ponto de orvalho (mantém-se a pressão constante, à medida que o calor é retirado ocorre condensação do fluido sem que haja redução de temperatura) e à direita deste ponto encontram-se as misturas gasosas. A curva RS representa a transição do fluido desde as condições iniciais do reservatório, ponto R, até as condições de superfície, ponto S.

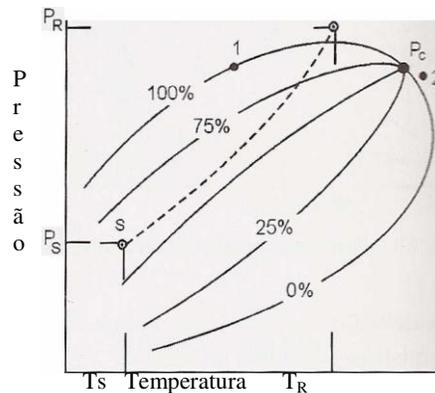


Figura 1.2: Diagrama de fases

Fonte: TRIGGIA et al, 2001.

O gás produzido pode ser gás livre, ou seja, nas condições de pressão e temperatura do reservatório a mistura de hidrocarbonetos já se encontra na forma gasosa; gás proveniente do óleo significa que os hidrocarbonetos encontram-se dissolvidos nos óleos nas condições do reservatório e se vaporizam quando a mistura é levada para as condições de superfície; gás dissolvido na água nas condições do reservatório. Esta última parcela de gás é desprezível para os cálculos de produção. (TRIGGIA et al, 2001).

Após a perfuração dos poços faz-se necessário deixá-los em condições apropriadas para operar de forma segura e econômica durante toda a vida produtiva. As operações destinadas à produção de óleo e gás chamam-se completação. (TRIGGIA et al, 2001).

1.3 - Processos de Exploração do Petróleo

A exploração do petróleo desde a rocha reservatório até à superfície envolve alguns métodos tais como: método natural (primário), secundário e método de recuperação do óleo desejável. O método natural, também conhecido como método de recuperação primária do óleo cru depende da existência de uma pressão de fluxo do fluido capaz de jorrar o petróleo do poço até à superfície. (SPEIGHT, 1999). Caso esta pressão seja mínima, processos como arraste por gás dissolvido, arraste por gás encapsulado e arraste com água são empregados para a remoção do óleo cru do reservatório à superfície. A diferença entre estes métodos pode ser apresentada da seguinte maneira: para o primeiro processo, a força propulsiva do gás em solução no óleo é responsável para impulsioná-la para fora do poço. Enquanto para o segundo processo, o gás existente no próprio poço em uma camada acima da camada de óleo pode ser comprimido e utilizado como gás encapsulado para arrastar o óleo do poço à superfície. Já para o terceiro processo, a pressão da água existente no poço é capaz de impulsionar o óleo presente no reservatório para a camada produtiva do poço.

Como o método natural pode deixar até cerca de 70% do petróleo dentro dos reservatórios; isto porque este método é feito sem equipamento de bombeamento, ou seja, emprega-se apenas a energia existente no próprio reservatório. Quando esta energia não é suficiente, então se adota o método secundário que já envolve o uso de bombas ou o uso de injeção de produtos como água ou gás dentro do reservatório para facilitar o fluxo de óleo cru à superfície. A injeção de fluidos mantém o reservatório pressurizado mesmo depois da primeira depleção e desloca a porção de óleo cru restante para os poços de produção. Conseqüentemente, o reservatório é mantido pressurizado durante todo o processo de exploração do petróleo.

Óleos crus com elevada viscosidade e baixa permeabilidade necessitam de um outro método de recuperação de óleo enriquecido como, por exemplo, os métodos de alimentação térmica ou os métodos químicos. Para o primeiro método, a viscosidade do óleo cru é reduzida com o fluxo de calor operando dentro do poço. Deste modo, faz-se necessário manter o poço pressurizado, a níveis originais, com água ou gás durante a etapa de retirada de hidrocarbonetos do poço. Esta prática oferece como vantagem, o retardo de declínio da produção de petróleo nos poços, como também, a conservação do gás, o qual poderia ser desperdiçado ou depositado em salmouras, as quais, em determinado momento poderiam vir a contaminar os lençóis freáticos próximos. (SPEIGHT, 1999).

O segundo método envolve o uso de polímeros ou surfactantes em emulsão com água, os quais são injetados nos poços para aumentar a eficiência da área de varredura vertical.

Estas soluções devem ser preparadas de acordo com as condições específicas dos reservatórios, como por exemplo, temperatura, salinidade e tipo de óleo existente nos reservatórios é um processo simples e econômico. (SPEIGHT, 1999).

O método de recuperação de óleo desejável (métodos químicos e térmicos) tem como finalidade aumentar a remoção de óleos nos poros das rochas e aumentar o volume de contato entre as rochas e as emulsões injetadas; isto porque a alta mobilidade de deslocamento dos fluidos emulsificados cria uma passagem auxiliar “bypass” do óleo até à superfície. Esta derivação é criada graças às diferenças de densidades e forças gravitacionais; sendo assim, a água tende a correr para baixo e o gás passa por cima da rocha impregnada com óleo. (SPEIGHT, 1999).

1.4 - Exploração e Produção Primárias de Fluidos

Os poços de petróleo em sua maioria produzem simultaneamente gás, óleo e água junto com impurezas. A forma mais simples de processamento de fluidos é a separação e a mais complexa envolve o condicionamento e compressão do gás, tratamento e estabilização do óleo, tratamento da água para reinjeção ou descarte. (TRIGGIA et al, 2001).

Os fluidos produzidos passam por separadores bifásicos ou trifásicos, onde o primeiro destinasse a separar gás/líquido e o segundo conduz a separação de gás/líquido e água/óleo. Na figura 1.3 tem-se uma planta que apresenta separação e compressão de fluidos produzidos em poços petrolíferos, além da etapa de tratamento de água para reinjeção no poço. Onde o sistema começa na cabeça do poço, a qual é equipada com válvula de controle de vazão. O uso de manifold na cabeça do poço é necessário para combinar as vazões e pressões de diversos poços para a entrada em uma planta de separação de fluidos. (TRIGGIA et al, 2001).

Os processos de separação baseiam-se em modificações de temperatura, pressão ou uso de solventes. Como exemplo destes processos empregados nas refinarias tem-se a dessalinização, destilação atmosférica, destilação a vácuo, desasfaltação a propano, os quais são responsáveis em originar grandes frações de hidrocarbonetos com alto poder econômico. (MARIANO, 2005). As

refinarias, também, são vistas como grandes geradoras de poluição, visto que consomem muita água e energia; produzem um volume elevado de efluentes, gases nocivos na atmosfera e resíduos sólidos de difícil tratamento e disposição ocasionando, assim, passivos ambientais.

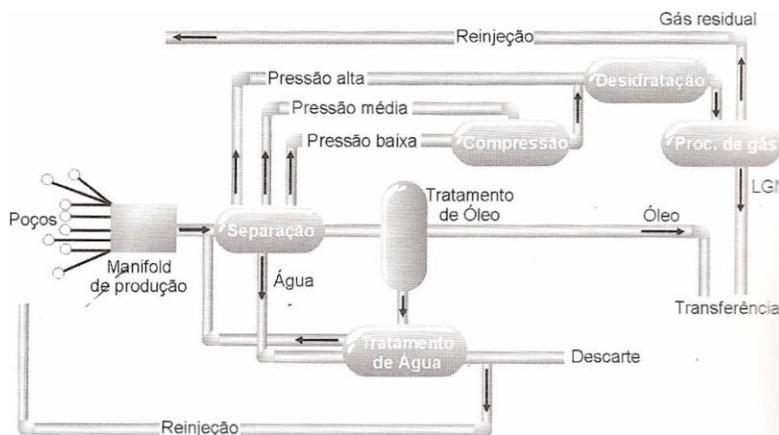


Figura 1.3: Processamento primários de fluidos

Fonte: TRIGGIA et al, 2001.

A dessalinização caracteriza-se como um processo de remoção sais corrosivos, metais e sólidos em suspensão que são capazes de provocar corrosão nos equipamentos e danificar os catalisadores empregados nas outras etapas do refino. Este processo deve anteceder as etapas de separação do óleo cru. A dessalinização compreende uma mistura do petróleo cru com cerca de 3 a 10% do seu volume em água, onde a água tem como finalidade a remoção de materiais indesejáveis. (MARIANO, 2005). Após a remoção, água é separada do petróleo por adição de desemulsificadores em vasos de separação a altas temperaturas. O destino final desta água é para estações de tratamento.

A destilação à pressão atmosférica representa a etapa seguinte à dessalinização, onde o óleo bruto é aquecido em torres de fracionamento até uma temperatura de 400°C afim de que não haja decomposição térmica das cadeias aromáticas e sim separação de hidrocarbonetos.

As torres apresentam pratos de fracionamento capazes de separar o petróleo em diversas frações pela diferença de pontos de ebulição, onde os hidrocarbonetos com pontos de ebulição maiores ou iguais à temperatura de um prato ficam retidos no mesmo, enquanto que os demais hidrocarbonetos prosseguem em direção a outros pratos com temperaturas menores. (MARIANO, 2005). A finalidade destas torres é condensar o maior número de componentes possível em cada

prato. Para o caso dos componentes leves, como, GLP e vapores de nafta leve, que não condensam em nenhum prato, são encaminhados para trocadores de calor fora das torres.

O emprego da destilação a vácuo é para o resíduo do fundo das torres de destilação atmosférica que não podem ser destilados sob pressão atmosférica sem sofrer decomposição térmica. As pressões hipobáricas, entre 0,01 e 0,05 atm, promovem a redução da temperatura de ebulição dos resíduos facilitando assim a retirada de gasóleos. (MARIANO, 2005). O produto residual deste processo é constituído de hidrocarbonetos de elevado e de baixo peso molecular, onde os primeiros podem ser vendidos como óleo combustível ou asfalto, enquanto que os de baixo peso molecular e não condensáveis são enviados junto com o gás sulfídrico para um sistema de tratamento de gases (flare).

O processo de desasfaltação a propano é a etapa seguinte à destilação a vácuo que tem por objetivo extrair, através do propano líquido e alta pressão, frações lubrificantes de alta viscosidade. A escolha do propano deve-se ao fato de que em baixas temperaturas as parafinas são muito solúveis, enquanto que em altas temperaturas boa parte dos hidrocarbonetos apresenta baixa solubilidade. (MARIANO, 2005),

O resultado final deste processo é constituído de uma mistura de asfaltenos, resinas e propano na base da torre de extração; onde o propano é separado dos demais componentes através de condensação e resfriamento em alta e baixa pressão respectivamente. Contudo, esta etapa de recuperação por necessitar de um volume elevado de água contribui para a geração de efluentes contaminados, os quais são encaminhados para as estações de tratamento.

Os processos de conversão aplicados no refino do petróleo têm como objetivo aumentar o valor econômico de suas frações mediante a quebra de ligações, reagrupamento ou reestruturação molecular. Como exemplos de processos de conversão podem ser citados o craqueamento térmico e o catalítico, hidroprocessamento e hidrotreamento catalítico.

(MARIANO, 2005).

No craqueamento térmico, as grandes moléculas de hidrocarbonetos são quebradas em moléculas menores mediante o uso de calor e pressão. As moléculas maiores antes de entrarem no reator mantido a 9,5 atm são aquecidas a uma temperatura superior a 500°C. Após a etapa do reator, estes hidrocarbonetos seguem para uma câmara de vaporização, na qual a pressão é reduzida e os produtos mais leves são removidos e conduzidos para a torre de fracionamento a fim de separá-los em frações menores. (MARIANO, 2005).

O resíduo de fundo por ser constituído de material pesado, uma parte retorna ao reator cuja finalidade é interromper a quebra das moléculas dos produtos que irão para a câmara de vaporização, e a outra parte é misturada aos óleos combustíveis. O processo térmico é capaz de oferecer elevado rendimento em coque e gás combustível.

O craqueamento catalítico pode substituir perfeitamente o craqueamento térmico, uma vez que utiliza calor, pressão e catalisador para quebrar as grandes moléculas de hidrocarbonetos em moléculas menores. As unidades de craqueamento catalítico utilizam leito fluidizado, no qual o óleo e o vapor, pré-aquecidos, entram em contato com o catalisador a uma temperatura de 700°C. Como rendimento tem-se nafta, GLP e gasolina com alto poder de octanagem. (MARIANO, 2005).

Grande parte das reservas de petróleo e gás natural no Brasil encontra-se em bacias marinhas profundas. Atualmente são cerca de 12 refinarias no Brasil com capacidade instalada de processamento primário de 2,0 milhões de barris por dia conforme dados Petrobrás.

1.5 - Processos de Separação

Dentre os vários processos de separação de misturas complexas de hidrocarbonetos do petróleo, a extração com fluido supercrítico, cuja eficiência neste processo depende da densidade e volatilidade do solvente, bem como das forças intermoleculares entre os solutos e o solvente supercrítico. (HWANGET et al, 1996). Sendo a densidade do fluido um parâmetro que pode variar continuamente de gás para líquido durante o processo de extração por meio da variação de pressão com temperatura constante, a aplicação de extração de hidrocarbonetos de cadeias longas do petróleo com fluido supercrítico vem sendo extensivamente estudada.

A extração de misturas complexas de hidrocarbonetos com gás carbônico e propano em um sistema composto por um cilindro, um extrator e um separador; a este sistema um controlador de temperatura deve ser conectado. (HWANGET et al, 1996). A extração é representada por meio de uma autoclave com agitador magnético. Com relação à escolha do gás carbônico deve-se ao fato do mesmo apresentar uma elevada difusividade e uma baixa viscosidade permitindo assim, uma rápida extração e separação de fase em um sistema operando com equilíbrio termodinâmico.

Dentro do cilindro é colocado o fluido supercrítico, o qual representa a mistura de propano, gás carbônico e o óleo cru.

Próximo à temperatura crítica de 31° C do gás carbônico a uma pressão de 10,7MPa, o processo de extração ocorre independente da densidade do fluido supercrítico. Esta análise está relacionada com as mudanças do volume molar e das forças intermoleculares entre os hidrocarbonetos situados nas vizinhanças do ponto crítico do gás carbônico. (HWANGET et al, 1996). Porém quando se deseja trabalhar com temperatura acima da temperatura crítica do gás carbônico existe redução da quantidade de óleo extraído; isto porque ocorre uma queda na densidade do gás carbônico.

A extração na fase sólida é uma das técnicas mais recentemente aplicada para a separação de hidrocarbonetos saturados, compostos polares ou aromáticos. Esta técnica consiste na utilização de uma coluna aberta da cromatografia líquida, mediante o uso de um adsorvente mais empregado na separação dos compostos de petróleo. As frações desses compostos do petróleo são coletadas em solventes, como diclorometano, clorofórmio, metanol, tolueno. (BASTOW et al, 2007).

A técnica de separação de compostos aromáticos e hidrocarbonetos saturados através do uso de coluna aberta de cromatografia líquida não é muito empregada em virtude da dificuldade em separar totalmente estes compostos. (BASTOW et al, 2007). A coluna deve ser envolvida em uma pipeta de Pasteur, a qual é empacotada em sílica gel ativada e só então é vedada com algodão. Para tanto, antes da coluna ser envolvida na pipeta, a coluna deve ser lavada com n-pentano. Assim, o óleo cru é introduzido na coluna, as frações são coletadas para análise em cromatografia gasosa. (BASTOW et al, 2007).

A cromatografia gasosa é considerada por muitos pesquisadores como uma técnica de separação, embora errônea, visto que se trata de um método analítico de valiosa importância na identificação de vários compostos. Para o caso da extração dos derivados de petróleo seja na análise do óleo cru, antes do processo de refino ou para a análise dos resíduos de petróleo que ficam retidos no fundo das torres de destilação; a cromatografia gasosa tem um papel relevante na caracterização destes compostos de petróleo; isto porque é a partir desta análise que se pode definir qual tecnologia de refino deverá ser empregada de modo a extrair um maior número de frações economicamente viáveis do óleo cru. Já para o caso dos resíduos de petróleo, a

identificação cromatográfica possibilita avaliar quais os produtos de alto valor econômico existentes nesta borra e que podem ser reaproveitados através dos processos de refino.

Conforme já citadas as tecnologias de refino do petróleo, desde a década de 40 o processo catalítico é empregado na extração de frações leves como gasolina e diesel. (LIU et al, 2007) afirma que as tecnologias desenvolvidas neste processo classificam-se com craqueamento fluido catalítico e craqueamento catalítico fluido residual. Estas duas tecnologias vêm sendo empregadas na China com os objetivos de elevar a produção de olefinas leves, como também de gasolina e diesel, e de reduzir a quantidade de enxofre nestes combustíveis. (LIU et al, 2007).

O craqueamento fluido catalítico permite também a redução de olefinas pesadas presentes em naftas. Esta tecnologia é empregada na China desde 2003 e vem contribuindo na redução de 55% para 35% em volume o conteúdo de olefina presente na nafta craqueada. O fluxograma do craqueamento fluido catalítico pode ser descrito conforme esquema da figura 1.4:

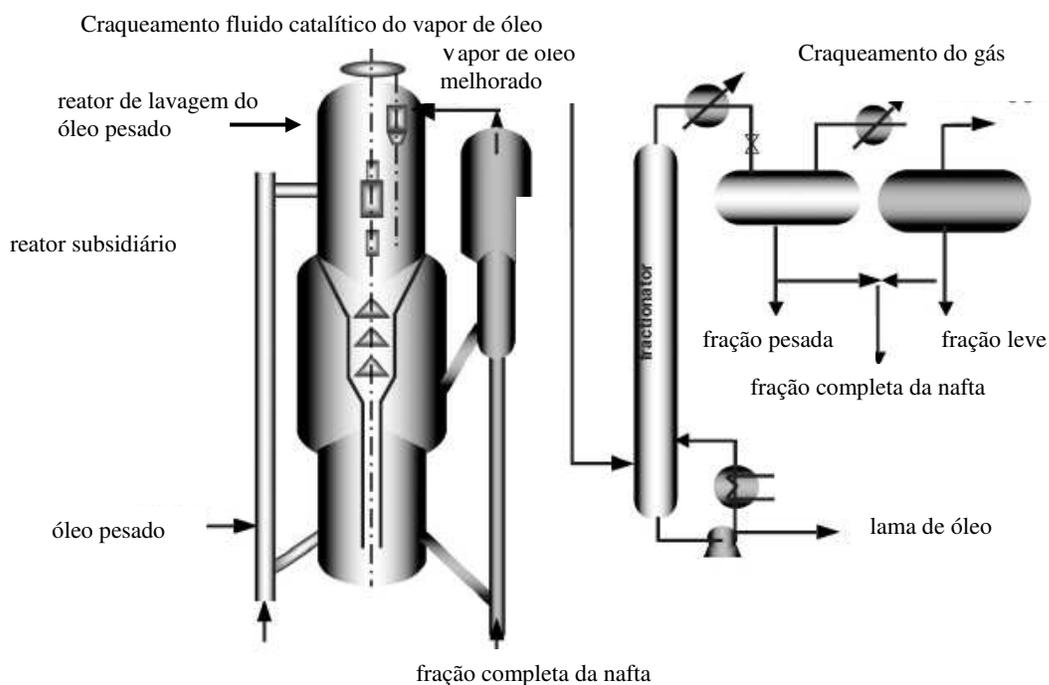


Figura 1.4: Tecnologia para redução de olefina em craqueamento fluido catalítico da nafta

Fonte: TRIGGIA et al, 2001.

O hidrocessamento catalítico é um exemplo de processo de conversão que inclui o hidrocrackeamento e o hidrotratamento; a diferença entre ambos está na configuração do processo e no material de alimentação. Assim, as técnicas do hidrocessamento são

empregadas para maximizar a alta qualidade dos destilados intermediários a exemplo do óleo diesel e de combustíveis para aviões; enquanto que o hidrotreatamento tem como finalidade a dessulfurização dos aromáticos saturados (nafta) e o pré-tratamento da matéria-prima para o craqueamento catalítico.

As tecnologias de melhoramento de resíduo ou de transformação do resíduo vêm sendo bastante empregadas nas refinarias devido ao crescente interesse pelos destilados intermediários e à decrescente exigência pelos combustíveis com elevado teor de enxofre. (LIU et al, 2007) O processo de coque, de hidrocraqueamento de resíduo, como também o craqueamento catalítico fluido residual (RFCC) são exemplos do processo de melhoramento do resíduo, cuja finalidade é uma maior extração de frações leves do resíduo de petróleo.

O primeiro exemplo trata-se de um processo primário que vem sendo amplamente empregado nas refinarias da China, assim como o craqueamento catalítico fluido residual (RFCC), para o tratamento de óleo cru com elevado teor de enxofre. (LIU et al, 2007).

A escolha por uma das tecnologias de melhoramento de resíduo para óleos ultra-pesados está relacionada com o grau de dificuldade existente nas matérias-primas a serem processadas. Para o caso da China, os óleos ultra-pesados por apresentarem altas concentrações de carbono residual além de metais pesados limitam a aplicação comercial dessas tecnologias. (LIU et al, 2007).

1.6 - Emulsão

A emulsão pode ser definida como um sistema de dispersão, em que gotículas de um líquido estão dispersas em um outro líquido imiscível, em algumas situações faz-se necessário a presença de um surfactante adsorvido na interface dos fluidos. Portanto, para que ocorra a emulsão é necessário que haja duas fases de líquidos imiscíveis. As principais emulsões são classificadas em sua composição como a fase dispersa e fase contínua, como por exemplo, água em óleo (que significa gotas de água dispersas no óleo) ou óleo em água. (WEN et al, 2010).

As figuras 1.5 e 1.6 a seguir demonstram os tipos de emulsões apresentados no texto acima. Sendo que o termo de microemulsão apresentado na figura 1.6 refere-se a um sistema transparente formado entre o óleo e a água na presença de um tensioativo misturado a um

álcool de cadeia média. Os agregados deste sistema são esféricos com diâmetros menores que os apresentados nas emulsões. (OLIVEIRA et al, 2004).

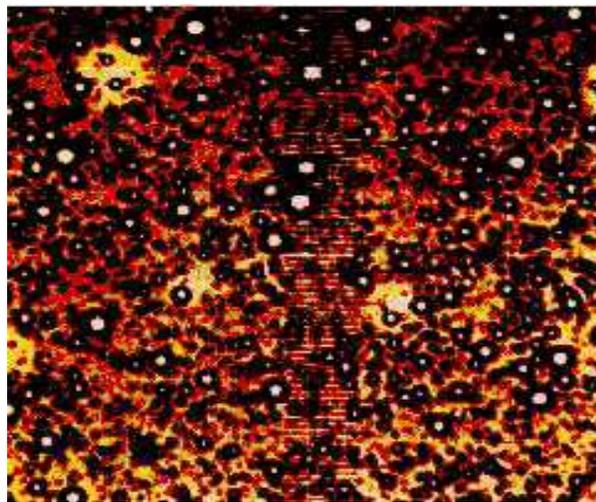


Figura 1.5: emulsão de petróleo do tipo A/O por microscopia
Fonte: KUNERT, 2007.

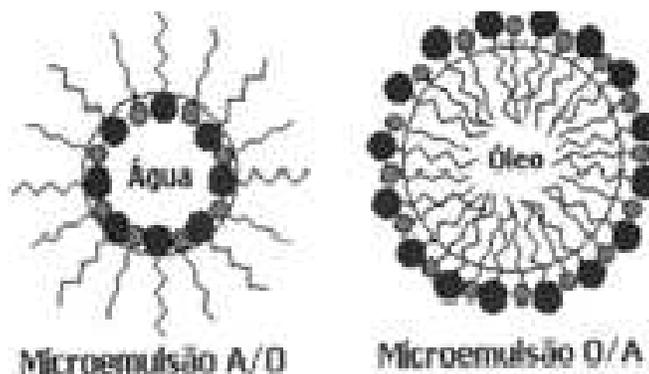


Figura 1.6: microemulsões A/O e O/A
Fonte: OLIVEIRA, 2004

As emulsões são frequentemente encontradas na indústria farmacêutica, de alimentos e na petroquímica, geralmente na forma de misturas de água e óleo. Muitas vezes é necessária a quebra da emulsão para que haja a recuperação de produtos ou para que seja possível fazer o descarte adequado de algum resíduo, conforme leis ambientais. Os métodos de quebra de emulsão envolvem a adição de um agente desmulsificante, calor e separação por gravidade das moléculas pesadas.

No tratamento de água residuária, o processo de quebra de emulsão envolve as seguintes etapas: separação por gravidade, desnatação, flotação de ar e floculação.

As limitações destes métodos incluem a baixa eficiência e operacional de altos custos, quando comparado com os métodos biológicos ou elétricos. (TESFAI; PERRY; JABLONSKI, 2011).

A emulsão formada entre o petróleo e a água produzida é resultado da atividade interfacial do óleo cru proveniente das resinas e asfaltenos, constituintes do petróleo, os quais são capazes de serem adsorvidos na interface do óleo e da água formando um filme estável, ou seja, uma emulsão estável entre o óleo e a água. Alguns estudos definem que estabilidade emulsão gerada entre o petróleo e a água produzida é resultante da estrutura polimérica dos asfaltenos e das resinas, conseqüentemente o tamanho das moléculas destes compostos, bem como a aromaticidade e a função carbonil são fatores que definem a condição de existência deste tipo de emulsão. (SJÖBLOM, 2006). Com relação às características físico-químicas, estudos reológicos provam que as emulsões geradas entre o óleo cru e a água em sua maioria contêm em média 60 a 80% de água em sua composição, densidade superior a 1g/mL e viscosidade elevada. (FINGAS; FIELDHOUSE, 2003).

As macromoléculas de asfaltenos apresentam, de modo geral, em seus anéis aromáticos grupos funcionais polares, como aldeído, carbonil, amina ou amida, além de alguns metais (níquel, vanádio, ferro), conferindo assim características anfífilas (hidrofílica e lipofílica), isto é dupla afinidade, tanto pela água como pelo óleo, em virtude das regiões polares e apolares destas macromoléculas. Já as resinas tem uma estrutura molecular semelhante à dos asfaltenos, porém com menor número de anéis aromáticos e, portanto com menos grupos funcionais e menos metais associados aos anéis.

As macromoléculas de asfalteno interagem umas com as outras pela sobreposição de grupos π nos anéis aromáticos, pela ligação de hidrogênio e pelas interações ácido-base de Lewis. Todos estes fatores conduzem estas macromoléculas a um estado de agregação. Além disso, é importante ressaltar que o aumento da quantidade de asfaltenos e de ácido naftênicos contribui para o aumento da estabilidade das emulsões. (RAMALHO et al, 2010).

Alguns autores acreditam que as resinas são responsáveis em dispersar as macromoléculas de asfaltenos, tornando menor o estado de agregação entre elas; facilitando deste modo que estas macromoléculas possam ser adsorvidas sobre a superfície da gota de água e formar uma película interfacial rígida. (RAMALHO et al, 2010).

De modo geral, a estabilidade de uma emulsão é devido à formação de um filme de óleo que resiste à coalescência das gotas de água. Durante muitos anos acreditava-se que o tempo de meia vida de uma emulsão dependia unicamente do aumento da viscosidade do óleo na fase contínua da emulsão.

Após vários estudos, pesquisadores comprovaram que o principal fator para a estabilização de emulsões óleo e água é a presença dos asfaltenos, enquanto que as resinas são responsáveis por elevar esta estabilidade. Isto porque, tanto os asfaltenos como as resinas atuam como surfactantes, em razão do comportamento viscoelástico, que nas emulsões há uma transição entre a predominância da característica viscosa pela característica elástica, devido à oscilação entre o volume da fase contínua e descontínua das emulsões. Concluindo desta forma que as emulsões podem ser estabilizadas somente com frações de asfaltenos, mas não somente com frações de resinas; em virtude dos asfaltenos apresentaram-se em uma fração menor na superfície da água e formarem uma superfície mais rígida que as resinas; além disso, as resinas são mais polares e não agregam na mesma extensão que os asfaltenos. Assim, as extremidades hidrofílicas dos asfaltenos ficam alinhadas com a água, enquanto as lipofílicas ficam alinhadas com o óleo formando uma película orientada e estabilizada, em razão da afinidade com o óleo e a água. (FINGAS; FIELDHOUSE, 2003. SANTOS et. al. 2010).

A figura 1.7 abaixo apresenta a estabilização, em que as moléculas de asfaltenos ou agregados de resinas/asfaltenos localizam na extremidade das gotículas de água repulcionando as outras gotículas de água para que não haja a coalescência.

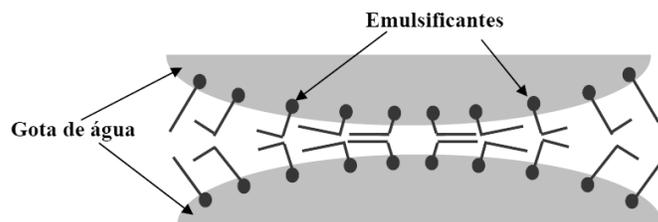


Figura 1.7: Repulsão entre gotas de água por emulsificantes

Fonte: SANTOS et al, 2010.

A estabilidade das emulsões, também, está relacionada com a repulsão eletrostática e com o impedimento estérico. Em que na repulsão eletrostática, os emulsificantes iônicos presentes na interface óleo/água são capazes de induzir o aparecimento de cargas elétricas na interface, já na

região próxima à interface acumulam-se cargas elétricas opostas a da interface. Gerando assim, uma dupla camada elétrica na interface e próximo à mesma.

Este tipo de estabilização, no entanto, é mais comum quando a fase externa é água, ou seja, nas emulsões do tipo óleo/água. Para o tipo de emulsão água/óleo, estes emulsificantes não são capazes de governar a estabilidade da emulsão, em virtude da baixa constante dielétrica do óleo. Enquanto que no impedimento estérico é a parte apolar das moléculas dos emulsificantes naturais adsorvidos que impede a aproximação e o contato entre as gotas, este é um exemplo característico quando compostos asfálticos de elevado peso molecular e com cadeias complexas depositam-se na interface, criando uma barreira física, conhecida como película ou filme interfacial.(SJÖBLOM, 2006. SANTOS et al, 2010).

Para o caso de emulsões de petróleo do tipo água e óleo, a estabilidade depende da natureza e quantidade dos emulsificantes naturais, do envelhecimento da emulsão, da presença de sólidos finos na interface, do tamanho de gotas de água gerada e do volume da fase dispersa. (KUNERT et al, 2007).

Em relação aos emulsificantes naturais, quanto maior a quantidade de asfaltenos e resinas mais estáveis serão as emulsões, em razão de uma maior quantidade destes emulsificantes na superfície das gotas de água, fazendo com que seja mais difícil sua remoção da interface. Petróleos mais pesados, ou seja, com menor grau API apresentam uma maior quantidade de emulsificantes naturais.

O fator envelhecimento de emulsão é definido pela rigidez do filme interfacial, o qual é capaz de tornar a emulsão mais estável, em razão de uma maior quantidade de asfaltenos e resinas depositadas da região de interface. Ainda comentando sobre o filme interfacial, pode-se afirmar que a presença de sólidos finos na interface deixa o filme mais rígido, dificultando desta forma o rompimento do mesmo e a coalescência das gotas. Para os seguintes fatores: tamanho das gotas de água e volume da fase dispersa, a relação é que gotas pequenas têm uma velocidade de sedimentação menor; por outro lado à medida que se aumenta o teor de água, aumenta-se também o tamanho das gotas, facilitando desta forma a colisão e a coalescência entre as mesmas. (KUNERT et al, 2007; SANTOS et al, 2010).

O aumento do teor de água nas emulsões do tipo água/óleo é um método usado para facilitar a desestabilização das emulsões. Porém, ao se atingir um determinado volume de água não haverá mais incorporação da mesma ao petróleo; visto que se atinge a saturação do sistema.

As sínteses interfaciais referem-se às sínteses orgânicas desenvolvidas na interface óleo-água. Por utilização de catalisadores de superfície ativa que opera na interface, as sínteses interfaciais permitem a separação do produto e a recuperação do catalisador.

Uma grande interface óleo-água em microemulsões pode ser usada como modelo para reações orgânicas. As moléculas orgânicas polares acumulam-se na interface das microemulsões, as quais são orientadas para a fase de água, enquanto que as moléculas não polares são orientadas para a fase do hidrocarboneto. Esta tendência para orientação na interface pode ser aproveitada para induzir a região específica de uma reação orgânica. Um reagente solúvel em água reagirá com a água, ou seja, reagirá com a parte polar da molécula anfifílica e o reagente solúvel no hidrocarboneto reagirá com a outra parte da molécula anfifílica. (SJÖBLOM, 2006).

A classificação das emulsões deve-se à composição do dispersado e da fase contínua, como óleo em água ou água em óleo, onde a água é molécula polar e o óleo é apolar (WEN et. al, 2010). O tipo de emulsão água em óleo ou óleo em água depende das seguintes variáveis: pressão e temperatura, as quais influenciam no estado de equilíbrio de fases do sistema; proporção de surfactante para a razão água/óleo; formulação e composição da emulsão.

Os agentes emulsificantes podem estar presentes tanto na água quanto no óleo. Dentre os presentes na água, destacam-se os sedimentos suspensos e particulados como as argilas. Já no petróleo, estão presentes os asfaltenos, parafinas, resinas e compostos oxigenados. Eles são responsáveis pela diminuição da tensão interfacial e pela formação de um filme rígido na interface entre a água e o óleo, dificultando a floculação e coalescência das gotículas. Os agentes emulsificantes podem ser eletrólitos inorgânicos, tensoativos (ácidos carboxílicos e aldeídos), macromoléculas ou sólidos finamente divididos. (SANTOS et al, 2010).

Os surfactantes são substâncias com afinidade tanto para o óleo quanto para a água, altas concentrações de surfactantes no sistema geralmente expõem a um comportamento de única fase; mas por diluição em água, óleo ou em ambos, o sistema pode ter um comportamento de duas fases que é o tipo adequado para gerar uma emulsão com agitação. Portanto, a fronteira entre as regiões de uma fase e de múltiplas fases é de importância primordial na definição da geração de emulsões. Dependendo da razão de óleo para água e da escolha do surfactante a interface pode ser curvada para o óleo ou para a água. (SJÖBLOM, 2006).

Os surfactantes são responsáveis por estabilizar o sistema bifásico de emulsão óleo-água com grande área interfacial. A grande área interfacial pode ser aproveitada para a geração de

emulsão como meio para sínteses orgânicas. Em especial podem ser destacadas as reações de polimerização.

Os surfactantes naturais com já citado anteriormente presentes no óleo cru são os asfaltenos e as resinas. Os surfactantes químicos são geralmente formados por aminas, copolímeros de óxido de etileno ou óxido de propileno, os quais são formulados em solventes tais como alcoóis de cadeia curta, aromáticos ou nafta aromática pesada. (DAVID et al, 2005).

O processo de emulsificação natural exige uma alta taxa de cisalhamento entre as fases óleo e água, onde a composição inicial das fases possibilita que pequenas gotas sejam formadas espontaneamente, quando as fases entram em contato, sem que haja uma energia de agitação externa. Esta produção de gotículas ocorre devido à quebra da interfase entre o óleo e a água ou pela formação regiões de supersaturação, ou seja, as gotículas são formadas por difusão, em virtude da instabilidade entre as fases imiscíveis, onde o soluto é capaz de se difundir na fase mais solúvel; ou por reações químicas entre os líquidos. (SJÖBLOM, 2006).

Um exemplo de emulsificação natural é a emulsão do petróleo e água produzida ocasionada durante o processo de extração do óleo cru. Como se sabe, antes do poço entrar em operação, no reservatório as fases água e óleo encontram-se separadas. Entretanto, para que o poço comece a produzir, uma forte agitação é imposta ao longo do processo de elevação, além do intenso cisalhamento causando uma forte depressurização, com a finalidade de regular e limitar a vazão de produção dos poços.

Os processos de elevação e escoamento do óleo cru são afetados pelas emulsões formadas entre a água e o óleo, isto porque a emulsão do tipo água em óleo apresenta uma viscosidade muito superior ao do petróleo desidratado, ocasionando perdas de carga, as quais podem levar à perda de produção e à perda de eficiência do sistema de bombeio e transferência. Por outro lado, se as emulsões forem desestabilizadas durante a elevação e o escoamento da produção, poderá haver o aumento da taxa de corrosão dos dutos e das linhas de produção e poderá ocorrer o aparecimento de depósitos inorgânicos nas colunas de produção, portanto alguns pesquisadores acreditam que a separação água/óleo é mais viável que ocorra após a elevação da mistura. (KUNERT et al, 2007).

Como já citado, a presença de água no petróleo bruto tem como desvantagens o aumento da viscosidade, da densidade e do volume na mistura; gerando assim o aumento dos custos de transporte do óleo até as refinarias, como também, os custos operacionais para a produção dos

derivados de petróleo nas refinarias. Além disto, esta água por apresentar teores elevados de sal é capaz de ocasionar problemas de corrosão nos equipamentos das refinarias. Ressaltando a necessidade de separação da água no petróleo por meio da desidratação e a dessalgação. A desidratação é realizada nas unidades operacionais de produção instaladas em campo e a dessalgação é efetuada nas refinarias, e consiste em lavar o petróleo com água doce para remover grande parte do sal residual presente no óleo.

A desestabilização do sistema e a separação das duas fases são requisitos exigidos para a quebra de emulsão entre o óleo cru e a água. Com o tempo a distribuição das gotas de água na fase contínua do óleo na emulsão pode ser trocada através de mecanismos de reversibilidade e irreversibilidade das emulsões. O mecanismo de reversibilidade inclui a sedimentação das gotas de água e a separação parcial da fase de óleo que ocorre sem nenhuma modificação na distribuição do tamanho das gotas; porém quando o sistema é homogeneizado a emulsão é restaurada. A floculação é observada quando as gotas de água aproximam-se e então se agregam umas das outras, devido à ausência de forças repulsivas na fase contínua do óleo. Desta forma, a floculação pode ser reversível ou irreversível, isto depende do tipo de interação de forças entre as gotas de água. A floculação irreversível pode vir a conduzir a coalescência das gotas e o enfraquecimento da película interfacial. Neste caso, a distribuição do tamanho das gotas é afetada e progressivamente é deslocada para tamanhos maiores. (DRELICH et al, 2010).

1.7 - Biodesemulsificantes e Meio de Cultura

O processo de desemulsificação pode ser iniciado seja por desemulsificantes químicos ou biológicos quando ocorre a coalescência, ou seja, a combinação de várias gotículas para formar uma grande gota. Quando estas gotas se aproximam umas das outras em um fino filme da fase contínua tem-se a separação entre os líquidos imiscíveis. As etapas da desemulsificação podem ser definidas como floculação, coalescência e sedimentação, conforme o esquema da figura 1.8.

Na floculação, as gotas se aproximam e tentam formar um agregado. A aproximação das gotas pode ocorrer de duas formas, conforme a figura 8; na primeira as camadas adsorvidas na superfície das mesmas não causam interferência entre elas e na segunda, as camadas causam interferência uma na outra, ou seja, as camadas se sobrepõem. (SANTOS et al, 2010).

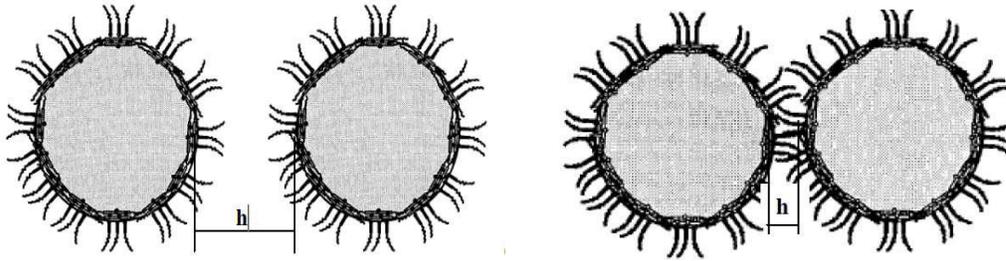


Figura 1.8: Condições de flocculação sem e com sobreposição das gotas de água respectivamente.

Fonte: SANTOS et al, 2010.

Em se tratando da coalescência esta representa a junção das gotículas de água que estavam estabilizadas na emulsão. As etapas da coalescência podem ser definidas como estreitamento, drenagem do filme interfacial, ruptura do filme e junção das gotas. A coalescência indica que a estabilização da emulsão foi rompida em virtude da adição de desemulsificantes à emulsão. Já a sedimentação representa a última fase da quebra de emulsão, a qual obedece a lei de Stokes, em que quanto maior o tamanho da gota de água na emulsão maior será a velocidade de sedimentação e menor será o tempo para a gota atingir o fundo do separador, da mesma forma quanto maior a diferença de densidade entre a água e o óleo maior será a velocidade de deposição, sendo que petróleos mais leves (densidade baixa) são mais facilmente separáveis. (SJÖBLOM, 2006).

Após a sedimentação das gotas de água, estas já separadas do óleo devem passar por tratamento de forma a atender a legislação ambiental seja nacional ou internacional antes do descarte ao meio ambiente. A figura 1.9 apresenta as etapas de desestabilização da emulsão, coalescência e sedimentação das gotas.

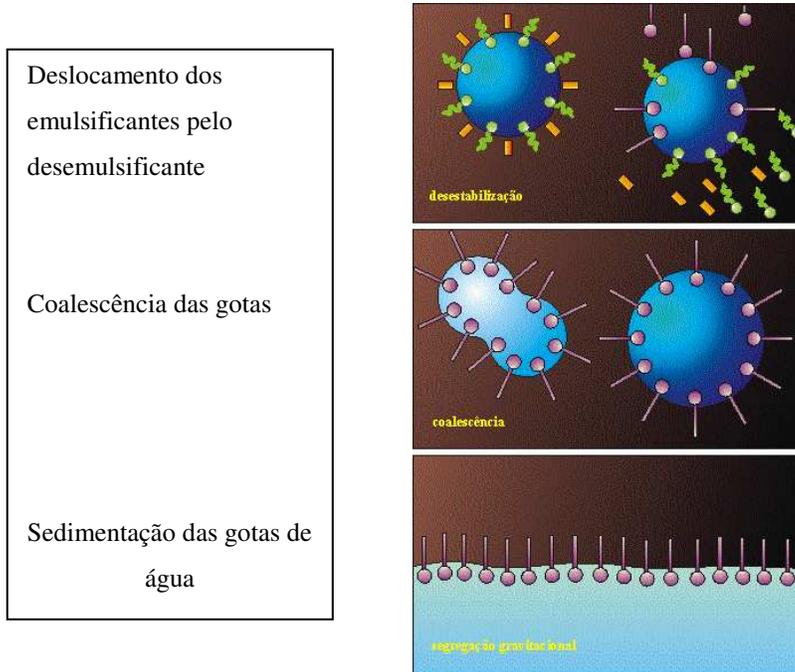


Figura 1.9: Mecanismo de desestabilização de emulsão pela ação de desemulsificantes.

Fonte: KUNERT, et. al, 2007.

De forma abrangente a velocidade de sedimentação está relacionada com o tamanho da gota, com a diferença de densidade entre as fases e com a viscosidade da fase contínua. A temperatura pode ser um parâmetro capaz de modificar a viscosidade das emulsões, a fim de aumentar a velocidade de sedimentação.

Outros métodos de desestabilização de emulsões de petróleo são uso de campo elétrico, uso de campo centrífugo, aquecimento, aumento do teor de água. O uso de dipolos induzidos, conforme a figura 1.10, de sentidos contrários formados entre as gotas permite que haja uma atração entre elas, de forma que a atração gerada faça com que se aumente a taxa de colisão e de coalescência entre as gotas. Porém se o campo elétrico for muito elevado, o alongamento das gotas conduzirá a ruptura e a formação de gotas menores, dificultando assim a coalescência entre as mesmas, como já comentado no item emulsão. (KUNERT, et al, 2007; SJÖBLOM, 2006).

O uso de campo centrífugo objetiva a desestabilização de emulsões através da centrifugação das emulsões em velocidades elevadas, de modo que boa parte da água separe-se do óleo devido ao aumento do campo gravitacional.

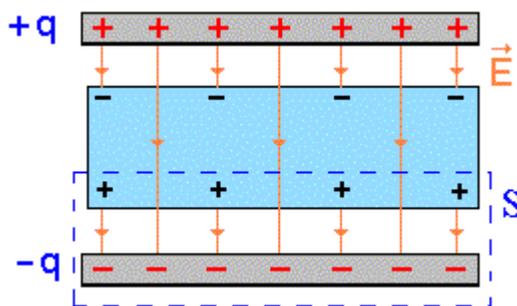


Figura 1.10: Formação de dipolo induzido
Fonte: KUNERT, et. al, 2007

Os outros dois métodos, aumento do teor de água já foi comentado nas emulsões de petróleo do tipo água/óleo e o aquecimento com desemulsificantes químicos já ressaltados no processamento primário.

No contexto de quebra de emulsão serão destacados uma variedade de biodesemulsificantes produzida a partir de bactérias isoladas do meio ambiente contaminado por hidrocarbonos. A compatibilidade ambiental dos biodesemulsificantes dá-lhes uma vantagem sobre desemulsificantes químicos. Os biodesemulsificantes são produtos potenciais para muitas aplicações comerciais em petróleo, processamento de alimentos, biomédicamentos, e indústrias farmacêuticas.

A desemulsificação da emulsão óleo cru em água obedece as seguintes etapas: substituição do asfalteno na interface óleo e água, floculação e coalescência de gotas de água. A substituição parcial de moléculas emulsificantes por desemulsificantes é resultado do decréscimo de elasticidade interfacial e conseqüentemente a desestabilização da emulsão. A eficiência de um desemulsificante é definida pelo decréscimo do gradiente de tensão interfacial e da viscosidade interfacial, aumentando desta forma, a fase contínua do filme fino e reduzindo o tempo para ser atingida a espessura crítica da película. (WEN et al, 2010).

A maioria das emulsões produzidas em campos de petróleo é do tipo água em óleo, representando uma problemática ao processo da desemulsificação; visto que os desemulsificantes químicos por serem solúveis em água terminam preferindo o caminho a fase aquosa e, portanto promovem a separação entre o óleo e a água, porém traz como consequência a contaminação do meio ambiente, quando estas águas são descarregadas na natureza. Neste contexto, destaca-se

uma variedade de biodesemulsificantes produzida a partir de bactérias isoladas do meio ambiente contaminado por hidrocarbonos, os quais são menos tóxicos, apresentam uma elevada biodegradabilidade quando comparados com os químicos, além de serem bastante eficientes. (WEN et al, 2010).

Os desemulsificantes químicos são polímeros de elevado peso molecular, quando comparados com os biológicos apresentam desvantagens como o custo de produção, uma vez que são sintetizados quimicamente do petróleo e portanto o seu custo flutua de acordo com o preço internacional para exploração e produção do petróleo.

A produção de biodesemulsificantes inicia-se com o isolamento de cepas desemulsificantes, seguido da otimização das condições de cultivo e da capacidade desemulsificante. Ainda, são poucos os estudos para este tipo de produção, quando se compara aos estudos para a produção de biosurfactantes. Em outras palavras, há uma necessidade de se conhecer melhor a diversidade microbiana e a relação filogenética de bactérias produtoras de biodesemulsificantes. (HUANG et al, 2010).

Bactérias desemulsificantes representam uma solução inovadora na desemulsificação de emulsões de óleo em água ou água em óleo, devido à baixa toxicidade, biodegradabilidade e alta eficiência em condições extremas. As bactérias desemulsificantestais como *Acinetobactéria calcoaceticus*, *Pseudomonas carboxydohydrogena*, *Bacillus subtili*, *Micrococcus*, *Nocardia amarae*, *Rhodococcus aurantiacus*, *Rhodococcus rhodochrous*. Muitas dessas bactérias utilizam substratos hidrofóbicos como fontes de carbono, neste contexto podem ser incluídos o óleo cru, tetradecano, hexadecano e o querosene (LIU et al., 2009). Alguns agentes biológicos como acetoína, polissacarídeo, glicolípídeo, glicoproteína, fosfolípídeo e ramnolípídeo também apresentam propriedade desemulsificante (WEN et. al 2010).

A origem de bactérias desemulsificantes está em solos contaminados com petróleo, em razão do processo de perfuração de poços petrolíferos; lodos ativados oriundos de estação de tratamento de águas residuais em campos de petróleo, bem como de estações de tratamento de águas residuárias em refinarias de petróleo.

O isolamento destas bactérias é realizado quando se mistura uma alíquota de uma das amostras de solo contaminado ou do lodo ativado com água destilada, agita-se em shaker por 2 h, a 140 rpm e a 35°C, depois a mistura é deixada em repouso por 2 h para promover a sedimentação das partículas sólidas. Uma alíquota do sobrenadante é então misturada a uma meio

de sais e incubada por sete dias, após este período, certa quantidade é transferida para um meio de triagem fresco e cultivada por mais sete dias. Este processo de enriquecimento deve ser repetido por três vezes. No final do terceiro ciclo de cultivo, a cultura é espalhada em meio de agar contendo peptona extrato de carne e cloreto de sódio e incubada a 35°C.

As colônias individualmente são semeadas em placas com agar, até serem obtidas as cepas. (HUANG et al, 2010). Em razão da eficiência destes tipos de micro-organismos para produção de biodesemulsificantes e outros tipos de aplicações, já existem centros de pesquisa responsáveis no isolamento destas bactérias.

As etapas de desenvolvimento microbiano, como também a fermentação e o meio de sais empregado serão descritas no capítulo de metodologia; uma vez que, nos artigos estudados estas etapas são semelhantes.

As propriedades interfaciais têm uma importante influência na desemulsificação; visto que o grau de elasticidade interfacial é positivamente correlacionado com o desempenho do desemulsificante. Isto quer dizer que a substituição parcial das moléculas de emulsificante pelas moléculas desemulsificantes resulta em uma diminuição da elasticidade interfacial e da viscosidade interfacial, eventualmente, na desestabilização da emulsão. Deste modo, pode-se afirmar que a atividade interfacial, a cinética de adsorção e a razão água-óleo são fatores que governam o processo de desemulsificação (WEN et. al 2010).

É neste contexto que o estudo por micro-organismos capazes de modificar as propriedades das emulsões vêm sendo desenvolvido, ou seja, a escolha de cepas de bactérias mais apropriadas para a produção dos biodesemulsificantes é definida mediante as análises de atividade de superfície, como por exemplo, medida de tensão superficial, medida de tensão da interface; análise da forma assimétrica da gota, teste de colapso da gota e teste de espalhamento do óleo. Apesar de todos estes testes não exigirem equipamentos sofisticados, ainda hoje existem poucas informações relevantes a respeito da capacidade desemulsificante de cepas de bactérias. (HUANG et al, 2009).

Outra avaliação importante de ser verificada em paralelo ao consumo de substrato e conversão em biodesemulsificantes por bactérias é o crescimento das biomassas. Após a inoculação da bactéria no meio de cultura apropriada ao seu desenvolvimento, ou seja, em condições favoráveis de agitação, aeração, temperatura, pH e substratos é necessário a análise das

fases de crescimento das mesmas, afim de ser definido o melhor período da fermentação para a produção do produto desejado. (BORZANI et al. 2005).

Sendo assim, as fases do crescimento são definidas como: fase lag (latência) que é após a inoculação do micro-organismo no meio de cultura. O tempo de duração desta fase depende da quantidade de bactéria inoculada. Antes de ser atingida a fase exponencial de crescimento há uma fase de transição, em que se observa o início da reprodução microbiana.

Na fase de exponencial, a velocidade de crescimento exponencial atinge o valor máximo e a concentração celular dobra o seu valor. O tempo necessário para a concentração dobrar o valor é caracterizado como tempo de geração. Após esta etapa, dá-se início a fase linear de crescimento, em que a velocidade de crescimento é constante, caso haja limitação de nutrientes para o interior das células, esta fase pode existir sem tenha surgido a fase de crescimento exponencial. A fase de desaceleração ocorre devido ao esgotamento de um ou mais nutrientes no meio de cultura. Esta fase é seguida da fase de declínio, em que a velocidade de produção de novas células é bastante inferior à velocidade de morte do micro-organismo.

Em síntese pode-se afirmar que os processos de desemulsificação de emulsões água em óleo requerem superfícies de células hidrofílicas, as quais existem em torno de células em crescimento exponencial e fase inicial estacionária, ao passo que desemulsificação de emulsões óleo em água exigem superfícies de células hidrofóbicas produzidas durante a fase metabólica endógena. Isto sugere propriedades fisiológicas diferentes para a desemulsificação de emulsões óleo em água e água em óleo. (MAMME, SINGH, WARD, 2003).

O processo de emulsificação da fase aquosa contínua (óleo em água) tem um maior crescimento aeróbico microbiano; em contraste com o processo em fase contínua do óleo (água em óleo), em que a transferência de oxigênio é muito baixa para as células microbianas concentradas em gotículas de água, tornando desta forma o crescimento microbiano limitado. Neste caso, o efeito da desemulsificação será provavelmente, devido ao não crescimento de células que foram adicionadas como inoculo para o sistema. (MAMME, SINGH, WARD, 2003).

Neste trabalho realizado, os dados de crescimento microbiano obtidos tanto para o bacillus quanto para a alcaligenes comprovam que algumas etapas da fase da curva de crescimento não existiram em razão das condições de agitação, quantidade de carbono, tipo de fonte de carbono e da velocidade de transferência de nutrientes do meio externo para o interior das células.

Os custos efetivos de produção em massa dos biodesemulsificantes estão associados à síntese dos micro-organismos em condições específicas de cultivo. Destacando-se então, as fontes de carbono e de nitrogênio empregadas no cultivo, as quais trazem impactos para estes custos. Pesquisas revelam que biodesemulsificantes produzidos a partir de fontes de carbono hidrofóbicos (compostos apolares que não interagem com a água) apresentam uma atividade de superfície, bem como o volume produzido superiores que aqueles produzidos por fontes de carbonos hidrófilos (compostos polares que interagem com a água). Por outro lado, os custos de produção são reduzidos quando fontes de carbonos hidrofílicos são utilizadas, em razão da extração dos biodesemulsificantes serem mais simplificadas. Com relação às fontes de nitrogênio, as bases de nitrato contribuem para uma maior atividade de superfície que as de amônia. Desta forma, pesquisas concluem que o nitrato de amônia contribui para uma boa produção de biodesemulsificante de lipopeptídeos e de ramnolipídeos. (LIU et. al, 2010).

Fontes de carbonos hidrofílicos, como lactose, sacarose, amido, acetato de sódio; assim também, as fontes de carbonos hidrofóbicos como óleo de amendoim, girassol, canola, coco e de soja são empregadas em estudo comparativo com a parafina líquida, como única fonte de carbono. Já como fonte de nitrogênio, o nitrato de amônio, também, pode ser substituído pelo cloreto de amônio, sulfato de amônio, molibdato de amônio, citrato de amônio, nitrato de potássio, nitrato de sódio ou ureia, separadamente, na mesma concentração do nitrato de amônio. Micro-organismos, como alcaligenes ou bacillus, são testados nestas fontes de nitrogênio e de carbono hidrofílicos ou hidrofóbicos separadamente de modo a avaliar o menor custo de produção e o maior rendimento de produto. (LIU et al,2010).

Nos estudos de Liu et. al, 2010, as fontes de carbono hidrofílicos resultam em uma atividades de superfície inferior e proporções mais baixas de desemulsificação do que as fontes de carbono hidrofóbicos. Por outro lado, o tempo de meia-vida do biodesemulsificante produzido a partir de fonte de carbono hidrofílico foi superior ao de carbono hidrofóbico sugerindo que fontes de carbono hidrofílico não são eficientes na produção de biodesemulsificante. Sugerindo que as proporções de desemulsificação estão correlacionadas positivamente com a hidrofobicidade da superfície celular, quando fontes de carbonos hidrofóbicos são empregadas.

A presença de células associadas às paredes do biodesemulsificantes também resulta em uma maior hidrofobicidade da superfície celular. Esta característica facilita a dispersão do biodesemulsificante na fase oleosa e a adsorção na interface óleo/água. Em razão da alta

atividade de superfície, o biodesemulsificante é capaz de deslocar o emulsionante adsorvido na interface óleo/água, iniciando assim o processo de desemulsificação.

Com relação às fontes de nitrogênio, pesquisas revelam que uma alta taxa desemulsificação e um menor tempo de meia-vida da emulsão são alcançados, quando se utiliza o citrato de amônio como fonte de nitrogênio, em presença de uma fonte de carbono hidrofóbica, como por exemplo, a parafina. (HUANG et al, 2009).

Quando se compara o nitrogênio do amônio com o nitrogênio do nitrato não há vantagens de um em relação ao outro em termos de habilidade desemulsificante. Esta diferença é extremamente importante para a caracterização do aumento de produção dos biosurfactantes de ramnolipídeos oriundos de pseudomonas. (HUANG et al, 2010).

A produção econômica dos biodesemulsificantes pode ser resolvida pelo aumento da produção volumétrica, utilizando fontes de carbono baratas, como por exemplo, resíduos da agricultura como alternativa de substrato, incluindo soro lácteo, batata, efluentes do processo, palha, óleos comestíveis já utilizados em frituras. Dentre estes substratos, extensivo estudos têm sido efetuadas sobre os óleos usados. Existem dois tipos de resíduos óleos, resíduos vegetais e de refino de petróleo que são uma mistura de carboidrato e gordura. (LIU et al, 2009)

Pesquisas vêm sendo realizadas sobre síntese de biodesemulsificantes utilizando como fonte de carbono, óleos para descarte. Porém, dúvidas ainda existem a respeito de como a composição química e as propriedades de superfície destes compostos podem ser afetadas por este tipo de fonte de carbono. (LIU et al, 2009).

Dentre os vários óleos para descarte analisados para a produção de biodesemulsificantes destaca-se a mistura de óleo vegetal e banha de porco, onde cepas de bactérias *Detzia* sp. são inoculados em caldo fermentativo contendo esta mistura e incubados por dez dias de cultivo. Os resultados revelam que este tipo de bactéria apresenta uma alta atividade de superfície com poucos dias de fermentação. Conduzindo desta forma a uma elevada capacidade biodesemulsificante, principalmente quando se tem uma cadeia de ácidos graxos longa, ou seja, com 18 átomos de carbono. (LIU et al, 2009).

1.8 - Processamento Primário do Petróleo

O processamento primário é caracterizado por um conjunto de operações que tem como finalidades promover a separação óleo/água/gás, tratar e condicionar os hidrocarbonetos para que os mesmos possam ser encaminhados às refinarias ou às unidades de tratamento e processamento de gás natural, tratamento da água de salmoura antes do descarte ao meio ambiente ou reinjeção em poços

A separação óleo/água/gás destina-se a reduzir os custos de transporte, visto que a água presente na mistura não agrega valor comercial ao óleo e ao gás; além do mais, esta água por apresentar elevados teores de sais e sedimentos trás problemas de corrosão e incrustações nos dutos, tanques de armazenamentos e equipamentos; como também acúmulo de sólidos nas tubulações. Uma outra desvantagem é o aumento nos custos de transporte dos hidrocarbonetos associados à água, o que poderia inviabilizar a produção dos derivados do petróleo em muitas localizações. A separação do gás é essencial, visto que gás associado contém substâncias corrosivas e por ser altamente inflamável deve ser removido por problemas de segurança (corrosão ou explosão).

Após o processamento primário, ocorre o tratamento individual do gás, óleo e água. De modo que o gás e o óleo atinjam as especificações da ANP – Agência Nacional do Petróleo para que possam ser comercializados. Deste modo, o gás natural não pode conter quantidades excessivas de CO₂ e H₂S, bem como vapor de água para que não haja a formação de hidratos, levando à perda de carga e problemas de corrosão nas tubulações e equipamentos. Referenciando-se ao óleo, o mesmo não deve conter quantidades elevadas de água e sedimentos e sais dissolvidos – BSW, para tanto o óleo precisa ser desidratado. Em se tratando da água, o valor de óleo e graxas - TOG disperso deve ser mínimo. (KUNERT et al, 2007).

O processo de desidratação do óleo, conforme já definido, consiste na quebra de emulsão óleo/água ou água/óleo. Na emulsão também estão presentes os sais dissolvidos e os sedimentos. Portanto, o tratamento do óleo é realizado com os desemulsificantes químicos ou biológicos, calor e campo elétrico em vasos tratadores.

As plantas de processamento primário simplificadas efetuam a separação gás/óleo/água, enquanto as mais complexas incluem tratamento e estabilização do óleo, condicionamento e compressão do gás, tratamento da água oleosa, além do tratamento de água para injeção no reservatório e descarte. (SANTOS et al, 2010).

O separador bifásico, conforme a figura 1.11, empregado para a separação de fluido (líquido/gás) em que na seção primária o fluido choca-se com defletores permitindo desta forma, a redução da velocidade e por ação da força da gravidade, a fase líquida se acumula no fundo do separador deixando passar a corrente de gás. A seção de acúmulo de líquido destina-se a coletar a maior parte de fluido líquido que foi separado do gás. Nesta seção o tempo de retenção de aproximadamente 5 minutos é necessário para que o gás remanescente ainda preso na fase líquida seja separado.

A seção secundária tem por finalidade separar gotículas de óleo que ainda estão presas ao gás à medida que o gás flui, a parte líquida cai por ação da gravidade na interface gás/líquido. A última seção que é a de aglutinação, geralmente localizada próxima à saída de gás, objetiva a remoção de gotas de óleo ainda presentes no fluxo gasoso, através de meios porosos que por possuírem grande área de contato facilitam a coalescência e decantação das gotas. Nos separadores bifásicos não há descarte de água produzida, a mesma é transferida junto com o óleo. (TRIGGIA et al, 2001; KUNERT, et al, 2007).

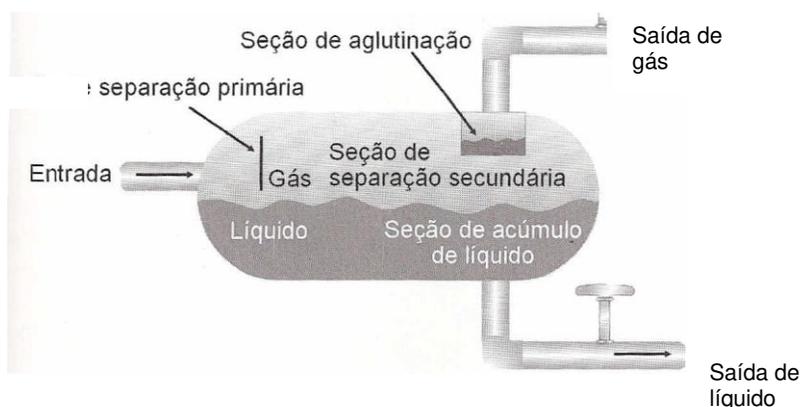


Figura 1.11: Separador bifásico

Fonte: TRIGGIA et. al, 2001

O formato horizontal dos separadores bifásicos permite uma melhor separação de fluidos (gás/óleo) em razão de uma maior área superficial. Estes separadores são utilizados em sistemas que apresentem espumas e altas razões gás/óleo. Por outro lado traz como desvantagens em relação aos separadores verticais, a dificuldade de remoção dos sólidos produzidos e a menor capacidade de operar com grandes variações de fluxo. Enquanto que o formato vertical permite a deposição localizada no fundo do vaso facilitando sua remoção.

O processo de separação gás/óleo/água é realizado em equipamentos conhecidos como separadores trifásicos, onde há uma maior seção de decantação de líquido que possibilita uma separação melhor do óleo/água. O condutor de líquido faz-se necessário para não perturbar a interface óleo/água, assim como um condutor de gás ou chaminé é necessário para equalizar a pressão de gás entre a seção de coleta inferior de líquido e a seção superior de decantação.

Um espalhador na saída do condutor de líquido é instalado abaixo da interface óleo/água, afim de que a água desça pelo espalhador e o óleo suba, ou seja, água e óleo fluem em contracorrente conforme a figura 1.12. (TRIGGIA et al, 2001), Muitas plantas que apresentam separadores trifásicos possuem, também, sistema de tratamento para água oleosa, ou seja, tratador eletrostático que tem como objetivo reduzir o teor de água emulsionada, a fim de enquadrar o óleo, nos padrões de qualidade estabelecidos para o refino; além de instalações para tratamento e aproveitamento do gás.

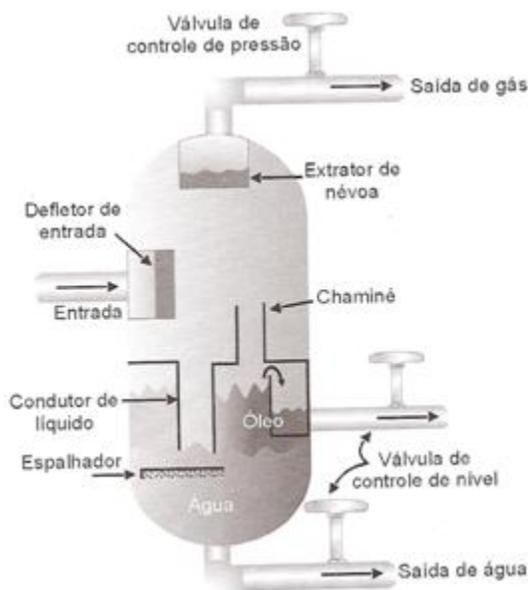


Figura 1.12: Separador trifásico

Fonte: TRIGGIA et al, 2001.

Os problemas operacionais mais frequentes com os separadores classificam-se como formação de espuma, presença de parafinas e de areia, arraste do óleo pelo gás ou do gás pelo óleo. A presença de espuma no interior dos vasos separadores gás/óleo cru traz como desvantagens a redução da área de escoamento do gás e o arraste de líquido na saída do gás. Portanto, uma forma de minimizar a geração de espuma é o aquecimento dos fluidos, ou seja, os

separadores devem operar em torno de 55 a 60°C, e a utilização de antiespumante, geralmente à base de silicone, antes do processo de separação. Em relação à areia, esta muitas vezes é conduzida aos separadores juntamente com a água e o óleo bruto, ocasionando problemas de corrosão nas válvulas e obstrução nos pontos de saídas dos separadores.

Como uma maneira de reduzir os problemas gerados pela areia é a remoção permanente por meio de drenos. Em se tratando das parafinas, o problema consiste na formação dos cristais de parafinas, quando a temperatura dos separadores está menor que a temperatura de formação dos mesmos, a parafina se separa do óleo devido ao seu elevado peso molecular, cristaliza-se e então é arrastada pelo óleo até o interior dos separadores, obstruindo as linhas de transferência dos mesmos. Daí a necessidade de trabalhar com os separadores com aquecimento na faixa de temperatura já definida anteriormente.

No caso de arraste do óleo pelo gás, esta situação ocorre quando o nível de líquido está elevado, há formação de espumas, a saída do líquido está obstruída por areia ou cristais de parafina ou há um subdimensionamento do separador em relação à vazão de entrada dos fluidos a serem separados. Por fim, o arraste do gás pelo óleo cru ocorre, quando há falha no sistema de controle de nível do líquido. (TRIGGIA et al, 2001; KUNERT, et. al, 2007).

1.9 - Tratamento da Água Produzida

Nas atividades de exploração e produção de petróleo – E&P, após a quebra de emulsão entre o óleo e a água, esta é chamada de a água produzida e conforme vários autores, ela chega a representar um percentual de aproximadamente 90% de todo efluente gerado na atividade de E&P. Mesmo estando separada do óleo, a mesma ainda apresenta elevada concentração de óleo, elevada salinidade, teor de sólidos suspensos, gás carbônico e sulfídrico dissolvidos nesta mistura, além de outras impurezas. Tudo isto faz com que órgãos ambientais monitorem o descarte desta água no mar ou o seu reúso, como por exemplo, a reinjeção nos poços, a fim de que todas as especificações definidas pelo CONAMA venham a ser atendidas, em caso da água ser lançada nos corpos marítimos e para a sua reinjeção, as especificações são definidas pela ANP.

O uso de polieletrólitos que são agentes flocculantes poliméricos tem como finalidade na desestabilização e coalescência das gotículas de água e de óleo. Em unidades offshore (E&P em mar) é comum o uso de hidrociclones seguido de flotor para tratamento de água produzida, em virtude da falta de espaço nas plataformas. Enquanto que nas unidades onshore (E&P em terra) utiliza-se tanques gravitacionais, também conhecidos como caixa API.

Trata-se de tanques de decantação, onde as gotas de óleo percorrem grandes distâncias com o objetivo de ascenderem e serem coletadas. Em razão da necessidade de grande área para a instalação, os tanques gravitacionais não são empregados nas unidades offshore. (SANTOS et al, 2010).

Os flotores, a gás, empregados nas unidades offshore tem como princípio a separação do óleo com impurezas da água produzida, onde primeiramente o ar é injetado no sistema e por agitação mecânica ocorre a colisão de bolhas de ar com as gotículas de óleo dispersas na água, permitindo a adesão das bolhas nas gotículas de óleo e conseqüentemente a ascensão dos agregados bolha/gota de óleo/sólidos finos suspensos. A figura 1.13 esquematiza o processo descrito. (KUNERT et. al, 2007).

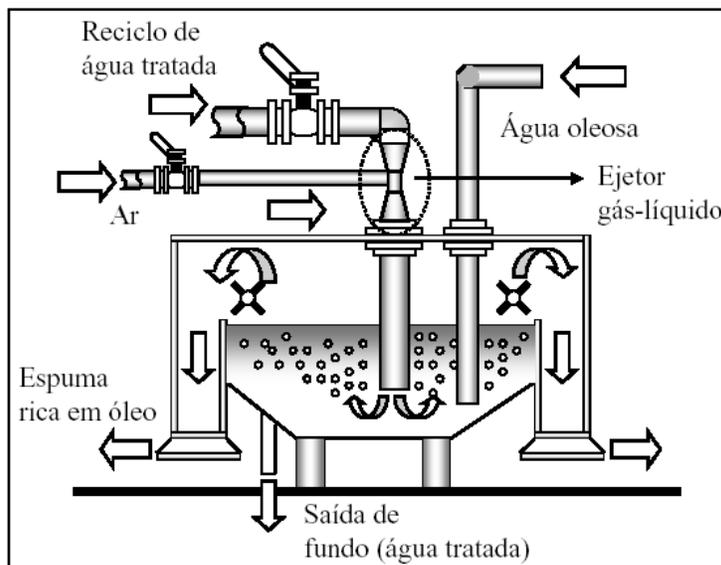


Figura 1.13: Flotador com indução de ar no sistema água/sólidos suspensos/óleo
Fonte: KUNERT et al, 2007.

Nos hidrociclones, a separação água e gotículas de óleo ocorrem devido à ação da força centrífuga sobre a mistura, onde as gotículas de óleo se deslocam para o centro do equipamento e a água desloca-se para a parede do mesmo. A separação física acontece graças à diferença de

densidade entre os líquidos. Neste sistema não há a necessidade de injeção de polieletrólitos em razão da elevada aceleração. Porém este processo não é tão eficiente, pois o teor de graxas e óleos não se enquadram no valor máximo definido pelo CONAMA; daí a necessidade do uso do sistema de flotação em alguns situações. (KUNERT et. al, 2007).

Os hidrociclones são muito empregados nas plataformas em decorrência do baixo consumo de energia, por serem compactos e quando em operação não sofrerem impactos com o balanço das ondas. (KUNERT et. al, 2007; SANTOS et. al, 2010).

Os estudos analisados até o momento, não enfatizaram a produção de biodesemulsificantes com a utilização de resíduos agroindustriais, a exemplo da manipueira, como matéria-prima para a produção do bioproduto desejado e sua aplicação em condições reais, ou seja, na quebra de emulsão água/óleo (emulsões de petróleo). Portanto, este trabalho apresentará condições de preparo e aplicação de biodesemulsificantes em sistemas água/querosene como também água/óleo.

CAPÍTULO II
MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Repicagem de Micro-organismos, Inóculo e Cultivo

Uma variedade de biodesemulsificantes tem sido produzida a partir de bactérias isoladas do meio ambiente contaminado por hidrocarbonetos, tais como *Acinetobactéria calcoaceticus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Nocardia amarae*, *Bacillus subtilis* entre outros.

Os experimentos desenvolvidos neste trabalho foram realizados no LABAM - Laboratório de Biotecnologia e Meio Ambiente em parceria com os laboratórios de Inovação Tecnológica e de Caracterização e Desenvolvimento de Materiais presentes na Universidade Federal de Sergipe. Os procedimentos para a repicagem, inóculo e cultivo dos micro-organismos serão descritos a seguir, assim como as análises de avaliação de produção de biodesemulsificante.

Os micro-organismos utilizados nos experimentos foram *Alcaligenes sp.* e *Bacillus subtilis* fornecidos pelo LABAM – Laboratório de Biotecnologia e Meio Ambiente (DEQ/UFS), os quais foram isolados em cultura pura separadamente. A semeadura ocorreu primeiramente em placas de petri em meio ágar nutriente - polissacarídeo extraído de algas, previamente esterilizado. A colônia de *Bacillus subtilis* levou 24 h para crescimento em quanto que a *Alcaligenes sp.* levou 48 h. Em seguida as melhores culturas de cada micro-organismo foram repicadas separadamente em tubos de ensaio, esterilizados previamente, contendo meio ágar nutriente e armazenados em geladeira a fim de reduzir o metabolismo microbiano para que pudessem ser conservados durante a fase de estudo. As figuras 2.1 e 2.2 apresentam imagens da semeadura com *Alcaligenes sp.* e *Bacillus subtilis* respectivamente.



Figura 2.1: *Alcaligenes sp.* semeada no LABAM

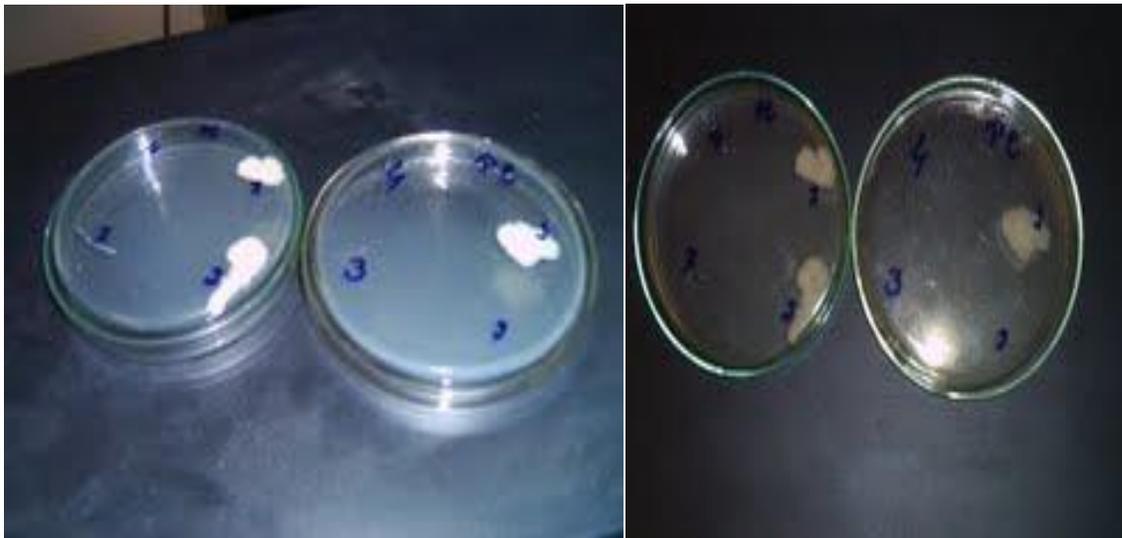


Figura 2.2: *Bacillus subtilis* semeado no LABAM

O meio de cultura, previamente esterilizado é utilizado para crescimento, manutenção e transporte empregado foi um meio basal, composto por peptona 10 g/L, extrato de carne 5 g/L, cloreto de sódio 5 g/L, sob condições apropriadas de oxigênio, temperatura (35⁰C), agitação (140 rpm) e pH (7,0) conforme descrito por Liu et al. (2009).

O período de incubação de cada micro-organismo em seu meio de cultura foi de 72 h com agitação de 140 rpm e temperatura constante de 35⁰C. Depois das 72 h de crescimento, 10 mL do caldo fermentado é transferido para 100 mL de um composto de sais minerais, contendo de parafina e manipueira como fontes de carbono, em pH = 7,0 e temperatura de 35⁰C para ser cultivado por mais 10 dias em erlenmeyer de 250 mL . O caldo fermentado antes de ser transferindo para este meio foi feita a esterilização do mesmo, bem como dos erlenmeyeres utilizados.

A velocidade de rotação e os percentuais em volume/volume (%v/v) de parafina e de manipueira estão estimadas conforme planejamento experimental.

Para cada micro-organismo eram preparados 10 erlenmeyers contendo 100 mL da solução de sais minerais, 10 mL do caldo fermentado e mais os %v/v de parafina e manipueira. O ajuste de pH para 7,0 era feito antes do início da fermentação por 10 dias.

O meio de sais empregado para o processo fermentativo de produção de biodesemulsificante tem a seguinte composição em (L⁻¹): 4,0 g de NH₄NO₃; 4,0 g de K₂HPO₄;

6,0 g KH_2PO_4 ; 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 1,0 mL de uma solução mineral, a qual é composta por: $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, EDTA em concentração (g/L).

Um meio de solução de sais minerais para a nutrição microbiana foi preparado, a fim de que os micro-organismos pudessem se desenvolver e produzir os biodesemulsificantes. Este meio de sais minerais é composto por fontes de carbono, nitrogênio e íons inorgânicos, como fonte de amido e carboidrato utilizou-se a manipueira e a parafina respectivamente. O nitrato de amônia empregado serviu como fonte de nitrogênio. Os fosfatos de potássio monobásico e dibásico serviram para o metabolismo energético. O sulfato de magnésio hidratado foi empregado para ativar as enzimas celulares, enquanto que o sulfato ferroso hidratado serviu para a síntese de citocromos. A água para a dissolução do meio de sais serviu também para a regulação da pressão osmótica através da membrana citoplasmática.

2.2 - Análises para Avaliação de Produção de Biodesemulsificante

Durante os 10 dias de produção do biodesemulsificante eram realizadas as seguintes análises: tensão superficial, a fim de avaliar o consumo de substrato pelos micro-organismos e conseqüentemente a produção do biodesemulsificante. Sabendo que uma menor tensão implica em uma maior produção de biodesemulsificante; absorvância para análise do crescimento microbiano, à medida que os micro-organismos se desenvolviam havia uma necessidade de diluição da amostra para análise no espectrofotômetro (SP 2000 UV, marca Bel Photonics); teor de massa seca para análise da quantidade de massa microbiana depositada nos tubos após a centrifugação.

As etapas desenvolvidas para as análises de tensão superficial, absorvância e massa seca foram as seguintes: primeiramente retirava dois erlenmeyeres do Shaker (fabricante B. Braun Biotech Internacional), um com o mosto de *Alcaligenes* e outro com *Bacillus*, recolhia-se uma amostra de 50 mL de cada caldo e centrifugava a 3400 rpm por 30 minutos, após centrifugação (centrífuga LS-3 plus, Celm), as amostras eram filtradas (bomba a vácuo, modelo TE 0581, marca Tecnal) separadamente com membranas (poro 0,45 μm , $\text{Ø} = 47$ mm, a base de nitrato de celulose), de modo a garantir uma quantidade mínima de sólidos suspensos na solução, conforme a figura 2.4. Após estas etapas, eram realizadas as análises no tensiômetro (KSV Instruments), a primeira leitura era sempre realizada com água destilada para o branco e em seguida configurava-

se o equipamento para realizar três leituras por amostra, a fim de poder construir os gráficos, os quais serão apresentados no item discussão dos resultados com a média das amostragens.

A análise de absorvância foi desenvolvida em espectrofotômetro em comprimento de onda de 600 nm e cubeta quartzo de 4 mL, caso a absorvância fosse acima de 1 eram realizadas diluições. A concentração celular para cada meio estudado foi determinada através da medida de absorvância, a qual foi convertida para concentração através das curvas de calibração obtidas por gravimetria (massa seca). Os equipamentos empregados em todas estas análises estão apresentados, conforme as figuras 2.3 a 2.7.

Para o teor de massa seca as etapas foram as seguintes: pesagem do papel de filtro antes de receber a massa a ser secada, lavagem da massa com água destilada, secagem do papel de filtro com a massa em cápsula de porcelana em estufa a 100⁰C por 3 horas, conforme descrito por Borzani et. al (2001), após secagem, as amostras eram resfriadas em dessecador a temperatura ambiente e então pesada.



Figura 2.3: Shaker empregado nas fermentações.



Figura 2.4: centrífuga para a separação das partículas sólidas do meio



Figura 2.5: Espectrofotômetro para análise de absorvância



Figura 2.6: Tensiômetro para análise de tensão superficial



Figura 2.7: Filtração a vácuo com membrana

A concentração da solução mãe de *Alcaligenes* sp. utilizada para a determinação da curva de calibração foi de 1,0015 g/L presente em balão de 50 mL, as diluições foram realizadas em balões de 25 mL, conforme tabela 2.1.

As equações obtidas foram empregadas para construção dos gráficos de crescimento microbiano tanto de *Alcaligenes* como de *Bacillus* que serão apresentadas nas tabelas 2.1 e 2.2 a seguir. As curvas de calibração para cada micro-organismo, também serão apresentadas nas figuras 2.8 e 2.9 respectivamente.

A concentração da solução mãe de *Bacillus subtilis* utilizada para a determinação da curva de calibração foi de 1,2770 g/L presente em balão de 50 mL, as diluições foram realizadas em balões de 25 mL, conforme tabela 2.2.

Tabela 2.1: Diluições para a curva de calibração da *Alcaligenes* sp.

Concentração (g/L)	Volume necessário da solução mãe (mL)	Volume corrigido (mL)	Absorbância
0,1	2,49	2,5	0,104
0,2	4,99	5,0	0,173
0,3	7,48	7,5	0,268
0,4	9,98	10,0	0,370
0,5	12,48	12,5	0,432
0,6	14,97	15,0	0,568
0,7	17,47	17,5	0,672
0,8	19,97	20,0	0,752
0,9	22,46	22,5	0,807
1,0	24,96	25,0	0,898

Equação de linearização obtida: $y = 0,0955x + 0,0179$

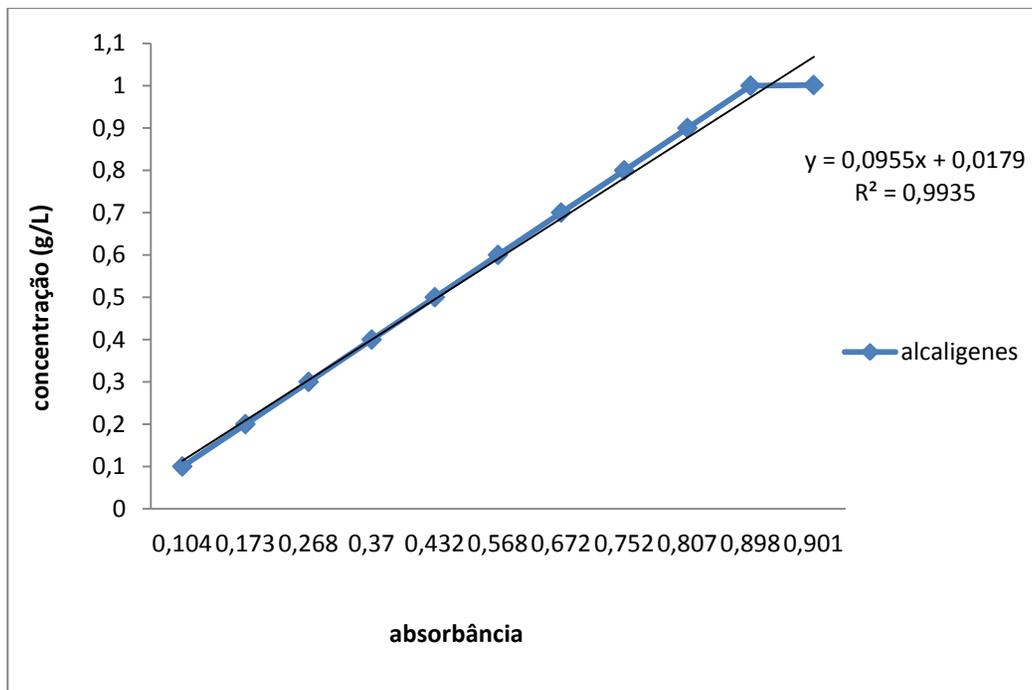


Figura 2.8: Curva de calibração para a *Alcaligenes* sp.

Tabela 2.2: Diluições para a curva de calibração da Bacillus subtilis

Concentração (g/L)	Volume necessário da solução mãe (mL)	Volume corrigido (mL)	Absorbância
0,1	1,95	2,0	0,153
0,2	3,91	4,0	0,202
0,3	5,87	6,0	0,303
0,4	7,83	8,0	0,402
0,5	9,79	10,0	0,502
0,6	11,75	12,0	0,607
0,7	13,7	14,0	0,693
0,8	15,66	16,0	0,787
0,9	17,62	18,0	0,877
1,0	19,57	20,0	0,975

Equação de linearização obtida: $y = 0,1077x + 0,031$

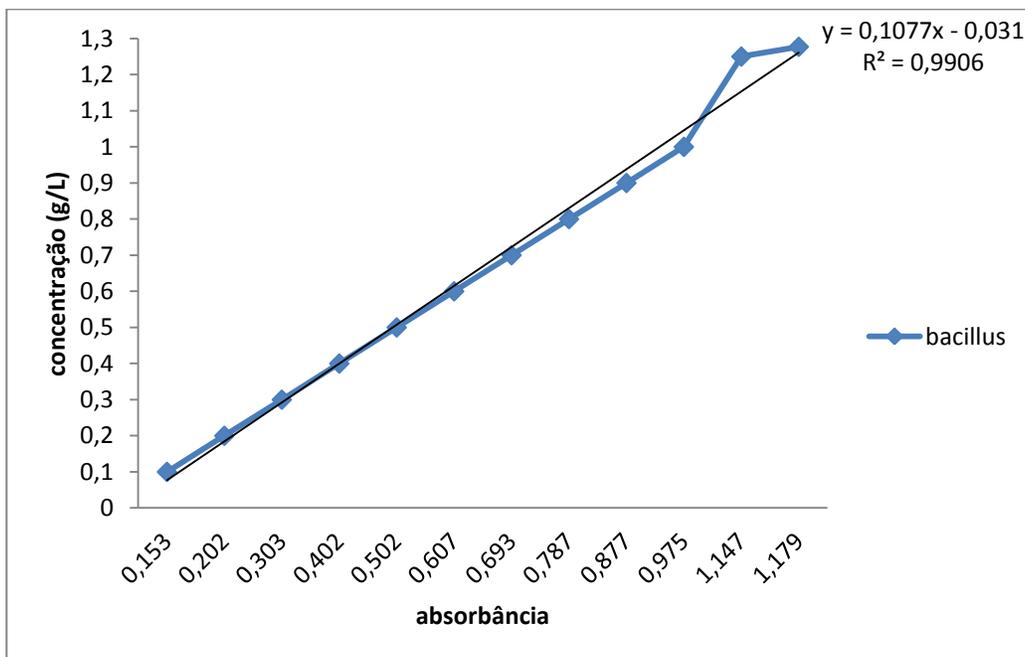


Figura 2.9: Curva de calibração para Bacillus subtilis

2.3 - Planejamento Experimental

A matriz de planejamento experimental foi construída por uso do software Statistica. O planejamento foi do tipo DCCR com três variáveis (manipueira, parafina, rotação), três réplicas no ponto central e dois níveis para cada variável. O planejamento contém um bloco ortogonal com oito experimentos, conforme a tabela 2.3. Este planejamento foi executado tanto para o micro-organismo *alcaligenes sp.* quanto para o *bacillus subtilis*.

As variáveis foram normalizadas sendo os níveis mínimo (-1), máximo (+1) e o ponto central (0), conforme a tabela 2.4.

Tabela 2.3: planejamento experimental tipo DCCR (Design 2**(3-0))

Planejamento	Volume de parafina (mL)	Volume de manipueira (mL)	Rotação (rpm)
1	2	4	90
2	6	4	90
3	2	12	90
4	6	12	90
5	2	4	150
6	6	4	150
7	2	12	150
8	6	12	150
9c	4	8	120
10c	4	8	120
11c	4	8	120

Tabela 2.4: Matriz normalizada

Planejamento	Volume de parafina (mL)	Volume de manipueira (mL)	Rotação (rpm)
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9c	0	0	0
10c	0	0	0
11c	0	0	0

2.4 - Preparo de Emulsão e Teste de Desemulsificação

A emulsão preparada foi do tipo água em óleo obtida pela mistura de 200 mL de água destilada, com 200 mL de querosene e 1,67 % em peso por volume de emulsificante Tween 80 U.S.P. (fabricante Oxiteno, distribuidor Synth).

A mistura foi preparada pela adição na água na mistura do querosene com o emulsificante e agitada a 4000 rpm por 20 min em Turrax. Após a agitação a emulsão foi colocada em provetas de 100 mL a 36 °C e deixada em repouso por 10 dias para análise da estabilização da emulsão. A metodologia para o preparo das emulsões foi adaptações dos estudos Huang et. al, 2009.

A emulsão do petróleo foi do tipo água/óleo, em que se empregou uma solução salina de carbonato de cálcio e magnésio contendo 40% de água e 1,0% de sais, sendo 0,5% de carbonato de cálcio e o restante de carbonato de magnésio. A metodologia para o preparo desta emulsão foi baseada nos estudos de Ghannan, 2005.

A solução salina foi adicionada lentamente ao petróleo em rotação de 300 rpm. Após a completa adição da solução, a rotação foi aumentada para 1650rpm, permanecendo assim por 10 minutos.

As análises reológicas tanto para as emulsões de querosene quanto para as de petróleo foram analisadas em Reômetro Brokielfield DV III-Ultra com spindle SC4-21, a uma taxa de cisalhamento de $5s^{-1}$ e temperatura de 30 °C. Estas análises demonstraram um comportamento de emulsão do tipo água/óleo.

O petróleo utilizado no preparo de emulsão é caracterizado como óleo pesado proveniente de campos maduros existente em Carmópolis-SE.

Os testes de desemulsificação foram realizados tanto com o biodesemulsificante produzido por *Alcaligenes* sp. como com o produzido pelo *Bacillus subtilis*.

As emulsões foram preparadas conforme descrição acima e então foi acrescido 2 mL do caldo fermentado a 18 mL de emulsão, a mistura foi agitada em um agitador a 2600 rpm (modelo 713D, Fisatom) por 15min e depois as provetas foram invertidas por 100 vezes de modo a garantir uma solução homogênea. Então as provetas foram deixadas em repouso em banho-maria a 36°C para avaliação da quebra de emulsão. Foram preparadas quatro provetas para cada tipo de biodesemulsificante e para cada tipo de emulsão.

A densidade, bem como algumas análises reológicas como viscosidade, taxa de cisalhamento e tensão foram realizadas para as emulsões água/querosene e água/petróleo. Para a determinação da densidade foram utilizados picnômetros de 25mL e banho termostático a 15°C, conforme figuras 2.10 e 2.11.



Figura 2.10: Picnômetro com emulsão de querosene



Figura 2.11: Banho termostático

As viscosidades de ambas as emulsões foram avaliadas em reômetro, marca Brookfield, modelo DV III – ultra software: Rheocalc V3.3, em velocidade de 200 rpm e temperatura de 36°C, temperatura utilizada para os testes de quebra de emulsão, conforme figura 2.12 A, B.



Figura 2.12 A: Reômetro, marca Brookfield, modelo DV III – ultra software: Rheocalc V3.3 – Analisador de tensão e taxa de cisalhamento, viscosidade dinâmica

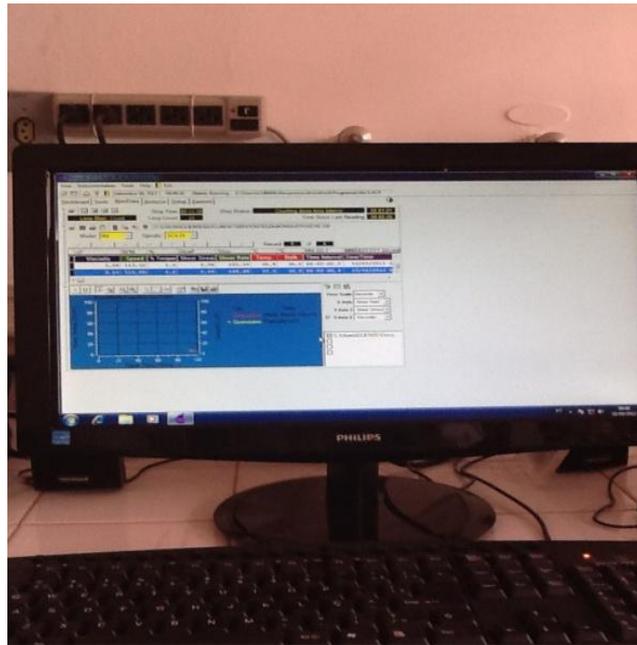


Figura 2.12 B: Reômetro, marca Brookfield, modelo DV III – ultra software: Rheocalc V3.3 – Registrador dos resultados.

CAPÍTULO III
RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo será mostrado os resultados referente a tensão de superfície, bem como a determinação de biomassa microbiana, do caldo fermentado no meio de sais, contendo como fonte de carbono, parafina e manipueira, em concentrações variadas conforme apresentadas no planejamento experimental foram avaliadas diariamente durante cada ensaio.

Os experimentos foram realizados para dois tipos de micro-organismos, *Alcaligenes sp.* e *Bacillus subtilis* visando a produção de biodesemulsificante e sua aplicação na quebra de emulsão, especialmente em sistema água-óleo.

3.1 – Crescimento Microbiano

Neste trabalho utilizou-se como micro-organismos *Alcaligenes sp.* e *Bacillus subtilis* e a escolha destes tomou como referência as características necessárias para o micro-organismo em processo industrial apresentado por Liu et. al (2010) que são: elevada eficiência na conversão do substrato em produto, não serem patogênicos, não exigirem condições de processos muita complexas, não exigirem meios de cultura dispendioso e permitirem rápida liberação do produto para o meio.

A escolha destes micro-organismos também levou em consideração a fonte de carbono a ser utilizada, pois neste estudo será utilizada a manipueira que é um resíduo da produção de farinha de mandioca, logo rico em amido e que não foi relatado em nenhuma referência da literatura como fonte de carbono, ao contrário de outras fontes como: milho, óleo de fritura, óleo de coco, olho de canola entre outros que foram descrito nos trabalhos de Huang et. al, 2009, Liu et. al (2010), Went et. al (2010).

O crescimento microbiano foi monitorado através de análises de biomassa microbiana e teor de massa seca, sendo as outras condições operacionais controladas tendo como referência os valores previstos no planejamento experimental desenvolvido para este trabalho.

O controle das variáveis concentração de oxigênio dissolvido, espuma gerada e controle de pH, também foram monitorados; uma vez que o meio necessitava de agitação e aeração, portanto verificou-se que nas rotações definidas de trabalho e nas condições de aeração do shaker, a geração de espuma foi mínima durante os processos fermentativos nas diversas condições de trabalho.

O extrato de carne que é responsável pela geração de espuma nos processos fermentativos, mas a sua utilização teve como objetivo fazer com que os micro-organismos não excretassem quantidades exageradas de proteínas no meio.

Com relação ao pH das fermentações, não houve reduções significativas em virtude do uso de fosfatos mono e dibásico de potássio.

A peptona (hidrolisado de proteínas) foi utilizada no meio de cultura para garantir as características nutricionais para o *Alcaligenes* sp. e para o *Bacillus subtilis*.

O acompanhamento do crescimento microbiano nas diversas condições operacionais prevista no planejamento experimental tem como finalidade definir a condição que propicie a maior produção do biodesemulsificante em menor tempo, pois resultará num menor custo de produção, possibilitando a inserção no mercado.

Na figura 3.1, temos as condições operacionais com rotação de 120 rpm, 4 % (v/v) de parafina e 8 % (v/v) de manipueira (pontos centrais do planejamento) percebe-se que a maior concentração celular de *Alcaligenes* foi com 96h, enquanto que para *Bacillus*, a concentração aumentou ao longo do tempo de fermentação definido do planejamento e em consonância com a literatura. O fato do *Bacillus* está sempre crescendo deve-se a seu poder de consumo do amido como fonte de nutriente, já descrito na literatura e em diversos trabalhos que relatam o seu potencial para a produção de surfactina, ao contrário do *Alcaligenes* que não consegue absorver o amido nas mesmas condições que parafina líquida.

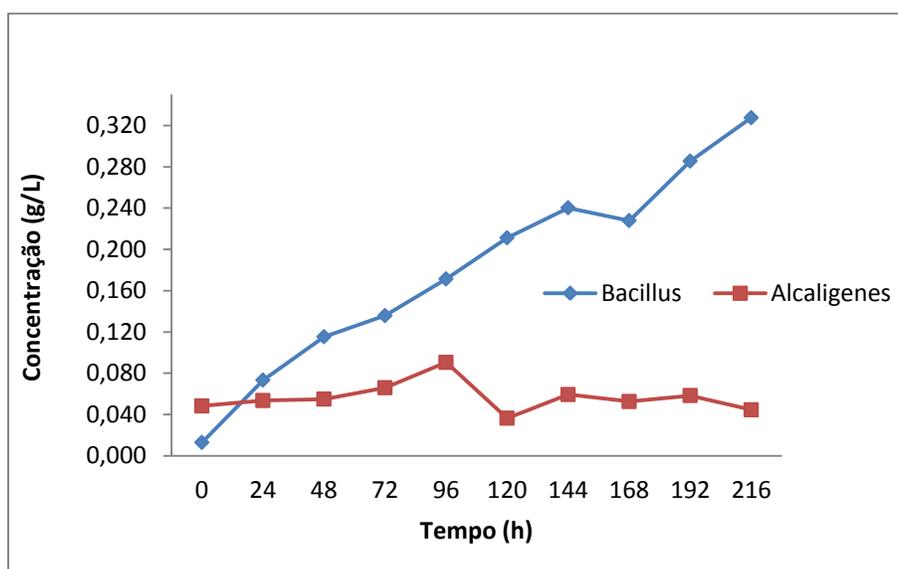


Figura 3.1 – Curva de Crescimento dos Micro-organismos (ponto central, rotação de 120rpm, 4% de parafina e 8% manipueira)

Para os experimentos conduzidos a 150 rpm, 6 % (v/v) de parafina e 4 % (v/v) de manipueira (figura 3.2) observa-se que o *Bacillus* teve um pequeno crescimento e durante o período de 24 a 96 h manteve-se praticamente constante a sua concentração de células no meio, havendo um outro pequeno pico de crescimento em 120 h e depois entrou em declínio, isto deve-se a interação entre as fontes de carbono (parafina e manipueira) que dificulta a assimilação e consequentemente o seu desenvolvimento.

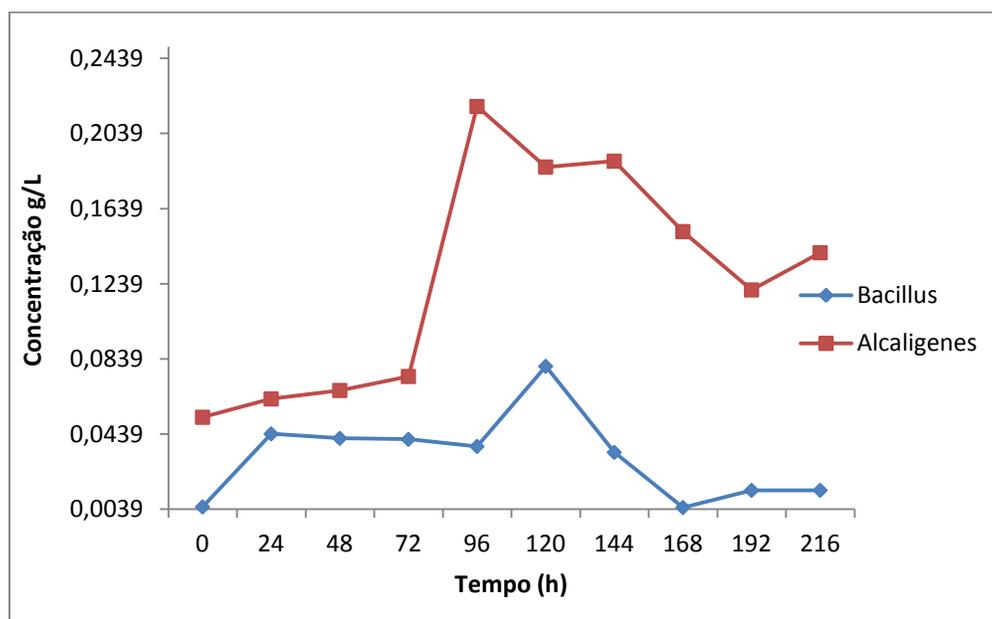


Figura 3.2 – Curva de Crescimento dos Micro-organismos (experimento 6, rotação de 150rpm, 6% de parafina e 4% manipueira)

O mesmo pode ser observado na figura 3.3 que tem como condição operacional 150 rpm, 6 % (v/v) de parafina e 12 % (v/v) de manipueira, onde mesmo com o aumento da concentração de manipueira que favorece o crescimento do *Bacillus*, conforme figura 3.1 (ponto central do planejamento) o crescimento é menor, mostrando que a interação da manipueira com a parafina diminui a disponibilidade do amido para o micro-organismo e consequentemente prejudica o seu crescimento.

No caso do *Alcaligenes* observa-se que a variação na concentração da manipueira não surte grandes efeitos no seu crescimento, logo, como já previsto na literatura, este micro-

organismo assimila fortemente a parafina mesmo em baixas concentrações, como pode ser observa também nas figuras 3.4 e 3.5, experimentos 5 e 7 respectivamente.

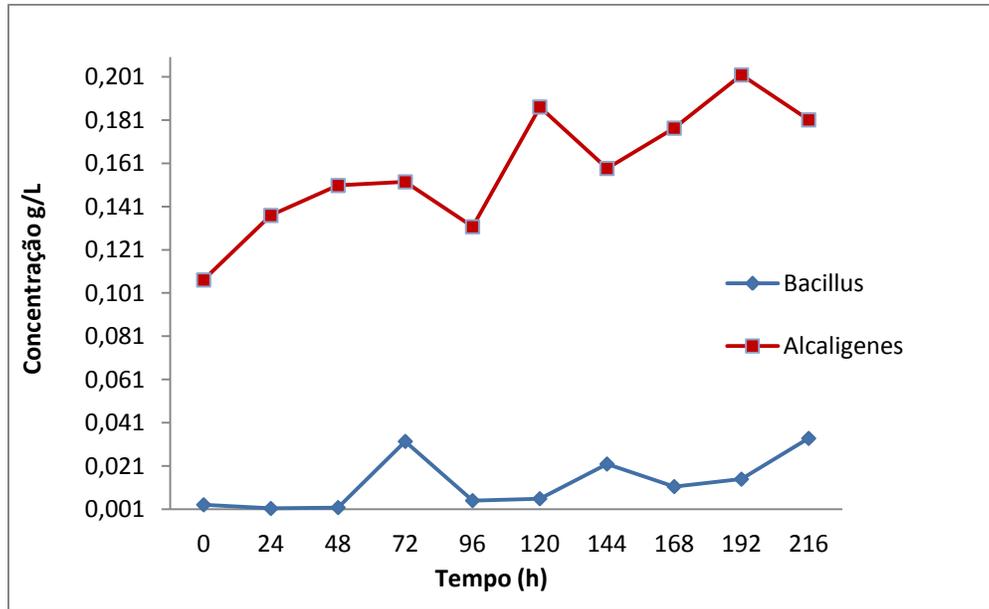


Figura 3.3 – Curva de Crescimento dos Micro-organismos (experimento 8, rotação de 150rpm, 6% de parafina e 12% manípueira)

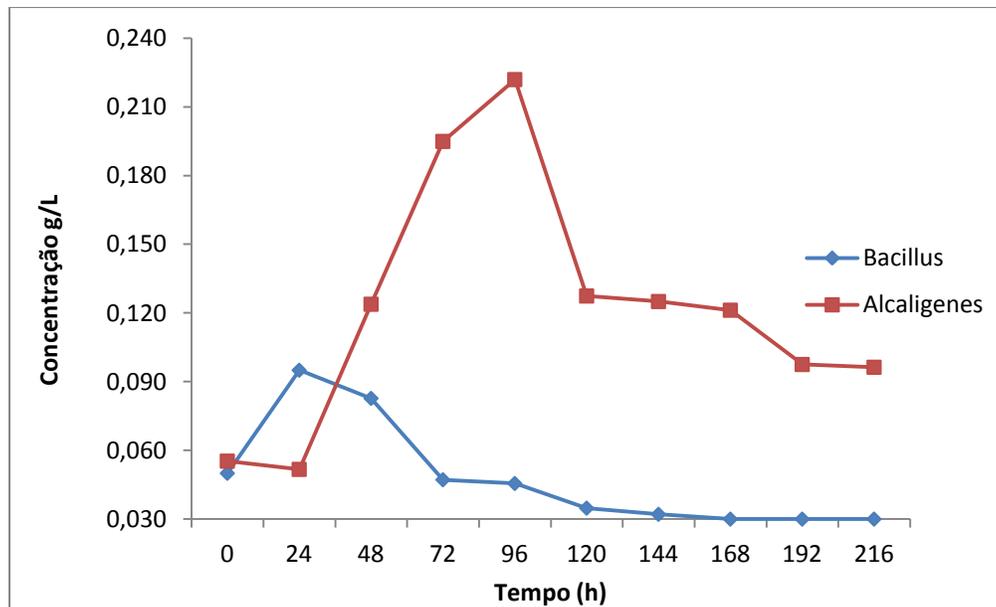


Figura 3.4 – Curva de Crescimento dos Micro-organismos (experimento 5, rotação de 150rpm, 2% de parafina e 4% manípueira).

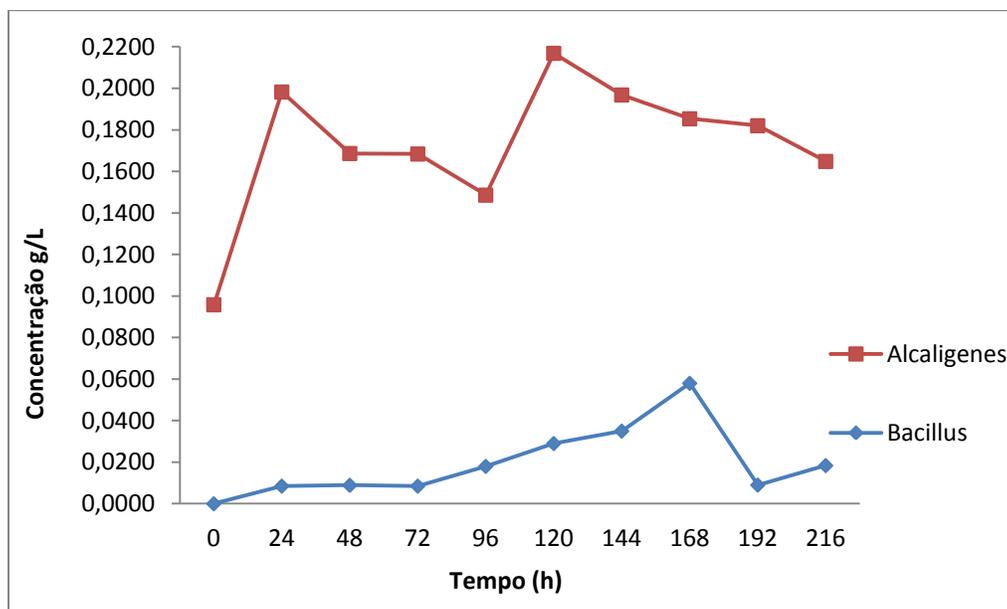


Figura 3.5 – Curva de Crescimento dos Micro-organismos (experimento 7, rotação de 150rpm, 2% de parafina e 12% manípueira).

Na figura 3.4, experimento 5, no crescimento do Bacillus e do Alcaligenes percebe-se claramente a fase de declínio, entretanto é mais acentuada para o Bacillus que chega ao declínio máximo representando uma autólise, ou seja, o rompimento dos micro-organismos provavelmente em razão da ação de algumas enzimas intracelulares; enquanto que o Alcaligenes consegue se manter numa concentração celular, ou seja, consegue manter praticamente constante a concentração celular ao longo do período de tempo estudado, mostrando que este consegue assimilar todo o carbono proveniente da parafina.

Nas condições experimentais de 150 rpm, 2 % (v/v) de parafina e 12 % (v/v) de manípueira e de 90 rpm, 6 % (v/v) de parafina e 12 % (v/v) de manípueira (figura 3.5 -experimento 7 e figura 3.6 - experimento 4), percebe-se o consumo do substrato não produziu o aumento proporcional de biomassa, em virtude da necessidade do Bacillus de manter as suas funções vitais que representam o trabalho osmótico para manter os gradientes de concentração das substâncias entre o interior da célula e o seu meio ambiente e mobilidade celular. Embora, a condição de 150 rpm, 2 % (v/v) de parafina e 12 % (v/v) de manípueira foi a mais favorável para a produção do biodesemulsificante, bem como nas análises de quebra de emulsão.

Para o Alcaligenes, o crescimento microbiano manteve-se nos mesmos patamares das condições anteriores, apenas algumas quedas ocorrem ao longo do tempo pelo fato de uma maior

concentração da manipueira dificultar o acesso à parafina. O efeito da menor rotação, ou seja, 90 rpm, conforme figura 3.6, também dificulta o crescimento da biomassa.

Os experimentos conduzidos a 90 rpm e com as concentrações volumétricas de 6%(v/v) de parafina, 4 %(v/v) de manipueira e 2%(v/v) de parafina, 4%(v/v) de manipueira para os dois micro-organismos não representaram valores expressivos de crescimento da biomassa, isto deve-se possivelmente ao fato da aeração que esta relacionada com a agitação, uma vez que os micro-organismos são aeróbicos e esta é uma variável de grande importância associado a disponibilidade do nutriente.

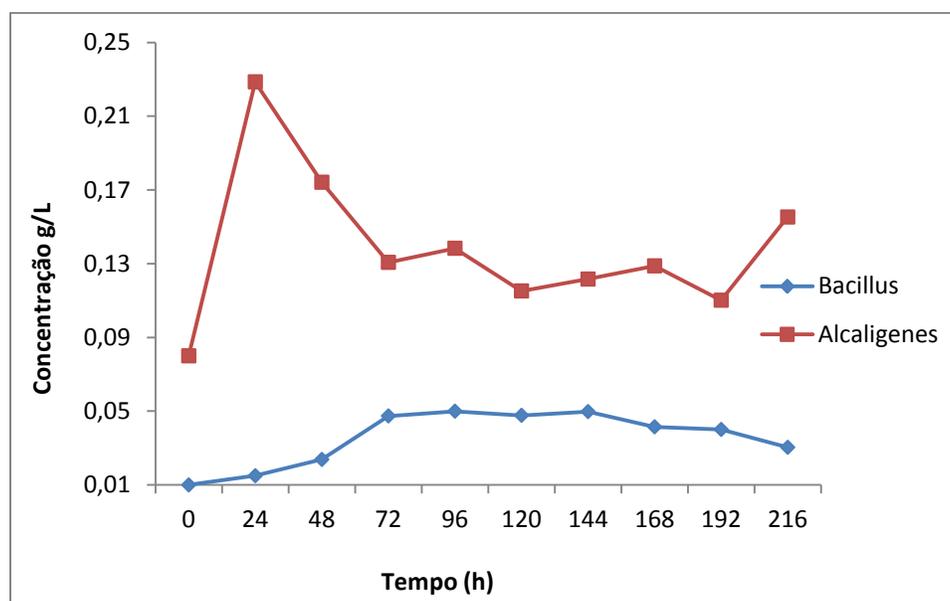


Figura 3.6 – Curva de Crescimento dos Micro-organismos (experimento 4, rotação de 90 rpm, 6% de parafina e 12% manipueira)

Com base nos dados apresentados observa-se que em termos de crescimento celular a melhor condição operacional para o Bacillus foi 120 rpm, 4 %(v/v) de parafina e 8 %(v/v) de manipueira e para o Alcaligenes foi 150 rpm, 6 %(v/v) de parafina e 4 %(v/v) de manipueira, mostrando que as variáveis estão interligadas e que a disponibilidade do substrato no meio associada com a agitação são preponderante para o crescimento dos micro-organismos neste estudo, estando em consonância com os resultados mostrado por Liu et. al (2010).

No trabalho de Liu et. al (2010), o micro-organismo de melhor resposta para a produção de biodesemulsificante foi a Alcaligenes sp., em virtude da fonte de carbono escolhida para trabalho ter sido a parafina líquida, com isso foi comprovado que pseudomonas têm preferência

por carboidratos, enquanto que os *Bacillus subtilis* por serem grans positivos não reproduziram uma resposta tão favorável quanto se utiliza apenas carboidratos; por isso os experimentos deste trabalho avaliaram o comportamento do *Bacillus subtilis* com o uso de parafina líquida, fonte de carboidrato, e com o uso de manipueira, fonte de amido; bem como o comportamento das *Alcaligenes sp.* com as duas fontes de carbono.

3.2 – Produção do Biodesemulsificante

Esta etapa da pesquisa foi realizada seguindo o planejamento experimental descrito na literatura, assim como utilizando como substrato a manipueira e a parafina líquida. Durante o período de produção dos biodesemulsificantes, obtidos a partir dos micro-organismos *Alcaligenes* e *Bacillus subtilis*, foram coletadas amostras para identificar o tempo necessário para a maior produção do bioproduto desejado e posteriormente aplicada cada um na quebra da emulsão do tipo água/óleo.

No início do processo de produção do biodesemulsificante foram realizados testes operacionais visando analisar a tensão superficial da solução de sais que serviram como nutrientes, sem a presença da fonte de carbono (manipueira e parafina), do inóculo de cada micro-organismo (peptona + extrato de carne + cloreto de sódio + micro-organismo) e do meio de utilizado para a fermentação (neste contém a manipueira e a parafina + solução de sais minerais + inóculo do micro-organismo) para que fosse verificada como se comportava a tensão superficial em cada uma das situações ao longo do período de produção de 10 dias, nas condições de 150 rpm, pH = 7,0, 2% de parafina (%v/v) e 4% de manipueira (%v/v), conforme mostra a tabela 3.1.

Com base na tabela 3.1 verificamos que não há uma variação significativa da tensão superficial para o meio de sais minerais, logo, mostra que não há uma produção do biodesemulsificante como já esperando pela falta do micro-organismo e da fonte de carbono. Já para os inóculos, mesmo sem a fonte de carbono e a solução com nutrientes verifica-se que há uma variação, mesmo pequena, dando indicio de que os micro-organismos são capazes de produzir o bioproduto desejado neste trabalho.

O período de duração de cada ensaio foi de 13 dias, ou seja, 3 dias para o enriquecimento (crescimento) dos micro-organismos, em solução aquosa de extrato de carne, peptona e cloreto de sódio. Após 72h, uma alíquota do caldo fermentado foi transferida para o meio de sais, contendo parafina e manípueira, para mais 10 dias de cultivo, mantendo a temperatura e a agitação constantes.

Durante os 10 dias, a tensão superficial e a biomassa microbiana foram analisadas em cada caldo fermentado, onde o tempo zero representa o momento em que o caldo fermentado entra em contato com o meio de sais e o tempo de 216h representa o último dia de fermentação. A temperatura para os 13 dias de ensaio para cada ponto do planejamento foi mantida em 35⁰C e o pH inicial do meio de sais com as fontes de carbono foi 7,0.

Tabela 3.1: Tensão superficial na condição de 150 rpm, pH = 7,0, 2% de parafina (%v/v) e 4% de manípueira (%v/v)

Tempo (h)	Tensão Superficial em mN/m				
	Nutrientes (solução de sais)	Inóculo de Alcaligenes sp.	Inóculo de Bacillus subtilis	Nutrientes com fonte de carbono e inoculo de Alcaligenes sp.	Nutrientes com fonte de carbono e inoculo de Bacillus subtilis
24	27,963	31,301	31,190	32,483	28,652
48	27,936	31,290	31,090	31,091	28,597
72	27,950	31,298	30,370	30,976	28,422
96	27,951	30,898	30,340	30,047	26,724
120	27,949	30,846	30,311	28,357	26,546
144	27,899	30,682	30,200	26,952	26,083
168	27,880	30,579	29,787	25,528	25,793
192	27,889	30,490	29,531	25,317	25,658
216	27,895	29,898	28,819	23,495	24,809

A condição experimental apresentada na figura 3.7, que representa os pontos centrais do planejamento experimental, ou seja, nas condições operacionais de 120 rpm de rotação, 4 %(v/v)

de parafina e 8 % (v/v) de manipeira, observa-se que para o *Alcaligenes* há uma instabilidade de produção do biodesemulsificante, representado pelo aumento e declínio dos valores da tensão superficial de um dia para o outro. Este fato ocorre devido à dificuldade que o micro-organismo encontra em assimilar a parafina líquida, uma vez que existe uma grande dependência do micro-organismo pela parafina e esta possui uma forte interação com a manipeira, conforme já mostrado no item de crescimento do micro-organismo.

Apesar desta dificuldade de assimilação do substrato pelo *Alcaligenes*, este consegue reduzir a tensão superficial significativamente em 96 horas, ou seja, sai de um valor inicial de 39,676 mN/m e atinge o valor de 26,165 mN/m, e ao final do tempo de experimentação (216 horas) obteve-se 29,207 mN/m, confirmando que a dificuldade de assimilar a fonte de carbono leva ao micro-organismo consumir a próprio bioproduto (biodesemulsificante de raminolípideo) em preferência a manipeira.

Já para o *Bacillus subtilis* percebe-se que a um decaimento da tensão superficial ao longo do tempo de produção, saindo de 35,997 mN/m para 28,754 mN/m após 216 horas, mostrando que este não tem dificuldade de assimilar o resíduo da produção de farinha, a manipeira, utilizado como uma das fontes de carbono, bem como a interação entre os substratos não interfere na produção do bioproduto.

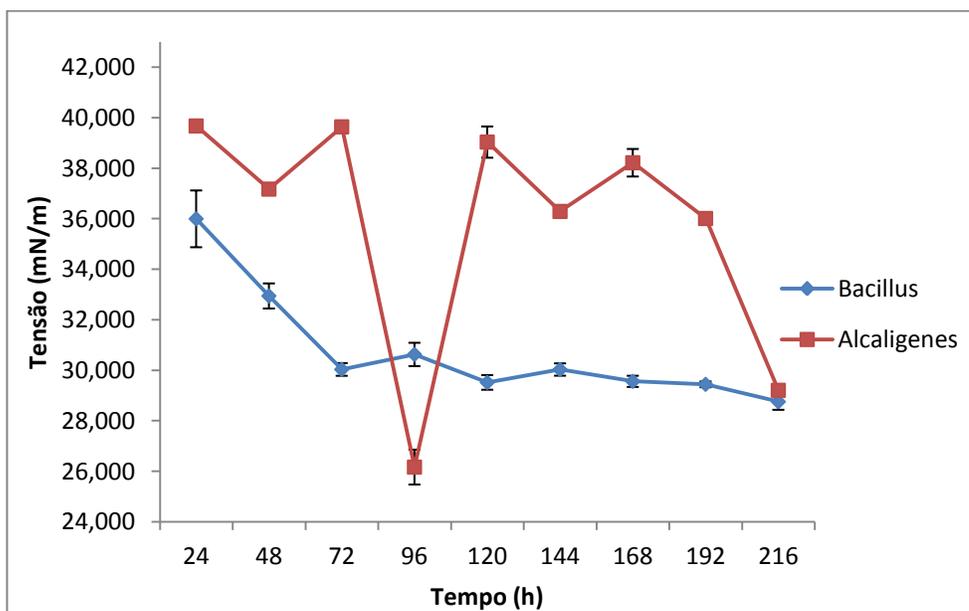


Figura 3.7: Acompanhamento da tensão superficial no ponto central, rotação de 120rpm, 4% de parafina e 8% manipeira.

Na condição de rotação igual a 150 rpm, 6 % (v/v) de parafina e 4 % (v/v) de manipueira, conforme mostrado na figura 3.8, verifica-se que o desempenho do *Bacillus* para a produção do biodesemulsificante é continuada e pode ser determinada pela diminuição da tensão superficial que passa de 26,049 mN/m para 24,771 mN/m, ou seja, há queda da tensão superficial ao longo dos 10 dias de produção foi de $\pm 1,28$ mN/m, sendo que durante este tempo de produção, o sétimo, oitavo e nono dias (144, 168 e 192h respectivamente) representaram uma produção mínima. Mesmo com o aumento da concentração da parafina e diminuição da manipueira, quando comparado com o ponto central, conforme apresentado na Figura 3.7, este micro-organismo consegue assimilar diferentes fontes de carbono, como já descrito na literatura para a produção de outros bioprodutos.

Avaliando a tensão superficial para o *Alcaligenes*, figura 3.8, percebe-se uma queda maior que para o *Bacillus*, ou seja, de $\pm 2,20$ mN/m para o *Alcaligenes* e de $\pm 1,28$ mN/m para o *Bacillus* ao longo das 216 h. Mostrando que com o aumento da concentração da parafina, o *Alcaligenes* consegue um maior rendimento que o *Bacillus*.

Esta constatação do desempenho do *Alcaligenes* com a fonte de carbono parafina líquida está em consonância com a literatura, a exemplo do trabalho desenvolvido por Liu et. al. (2010), onde relata que a tensão superficial caiu rapidamente em dois dias e permaneceram constantes durante os sete dias de produção, sugerindo uma habilidade desmulsificante do caldo fermentado.

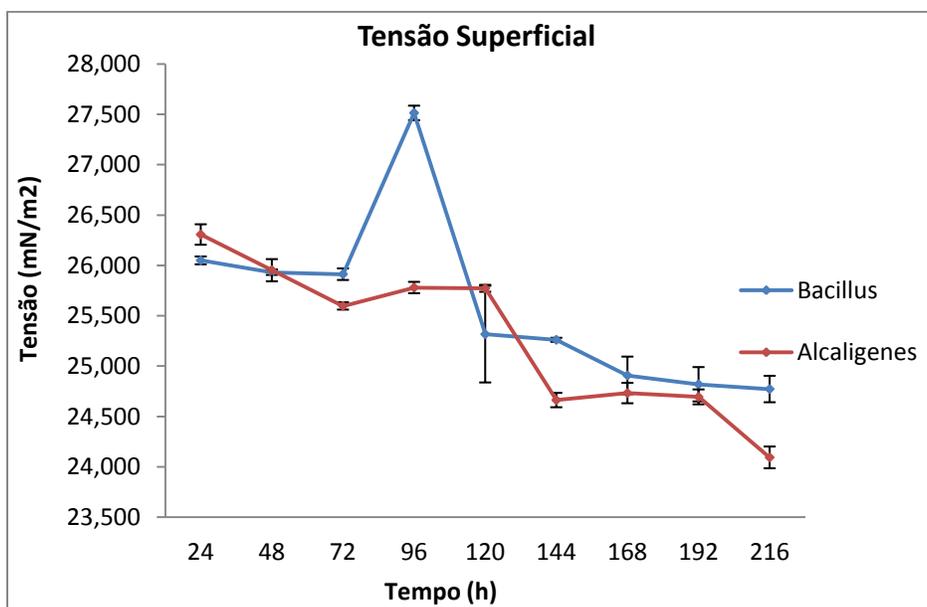


Figura 3.8: Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 150 rpm, 6% de parafina e 4% manipueira.

Continuando o estudo da produção do biodesemulsificante, seguimos o planejamento experimental, agora alterando apenas a concentração de manípueira para 12 % (v/v) em relação ao apresentado na figura 3.8, verifica-se na figura 3.9 que o *Bacillus* apresentou um melhor desempenho que o *Alcaligenes*, ou seja, obteve-se uma tensão superficial de 23,823 mN/m e 24,435 mN/m respectivamente. Com isto, reafirma a afinidade do *Bacillus* com a manípueira como fonte de carbono, reduzindo assim os custos operacionais num processo, uma vez que a manípueira é um rejeito da agroindústria de farinha e que atualmente não tem nenhum valor agregado, sendo uma das contribuições deste trabalho.

De acordo com a figura 3.9 avalia-se uma melhor condição de produção de biodesemulsificante, em virtude de uma melhor rota de produção do *Bacillus* com a manípueira do que com a parafina; além disso, se observa que os melhores tempos de produção estão entre o sexto e o nono dia. Enquanto que para a *Alcaligenes*, os melhores tempos ficaram entre o sétimo e nono dia. Conforme as literaturas de base empregadas nesta pesquisa (Lui et al, 2009 e 2010), o melhor período para a produção de biodesemulsificante produzido a partir de *Alcaligenes* é de 7 dias e através dos resultados obtidos neste trabalho percebe-se que tanto para a *Alcaligenes* quanto para o *Bacillus* as melhores respostas estão a partir do sexto ou sétimo dia de produção.

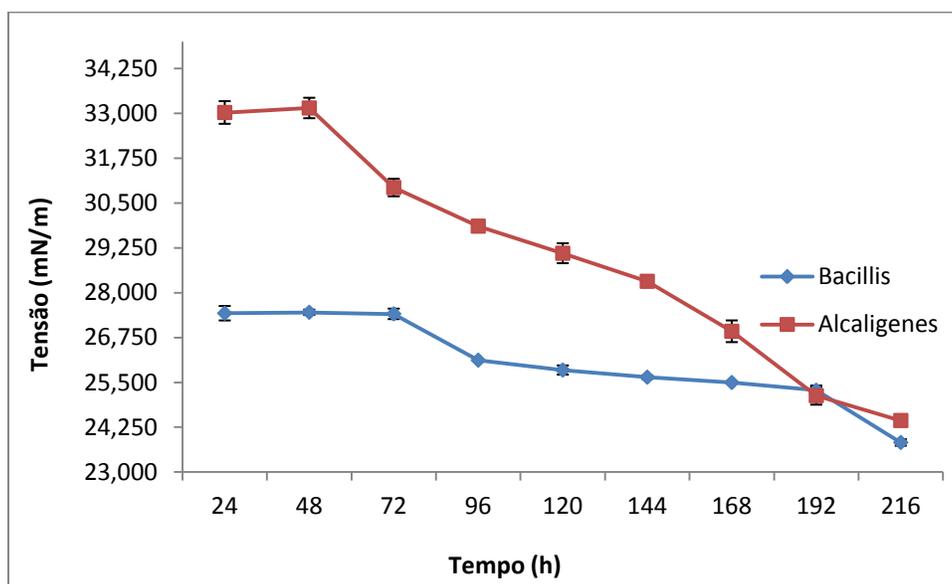


Figura 3.9: Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 150 rpm, 6% de parafina e 12% manípueira.

Nos experimentos em que a concentração de (%v/v) manípueira é o dobro da de parafina; porém em termos do volume no meio, os substratos apresentam volume total menor. Na figura

3.10 verifica-se que o *Alcaligenes* apresentou a melhor produção de biodesemulsificante em relação ao *Bacillus*, isto ocorre devido ao substrato está mais diluído; logo o bioproduto a partir do *Alcaligenes* sp. que tem preferência pela parafina, como descrito por Liu et. al. (2009), consegue um melhor desempenho, enquanto que o *Bacillus*, devido à maior interação entre a parafina e a manipueira, isto dificultou a assimilação da manipueira para a produção do biodesemulsificante.

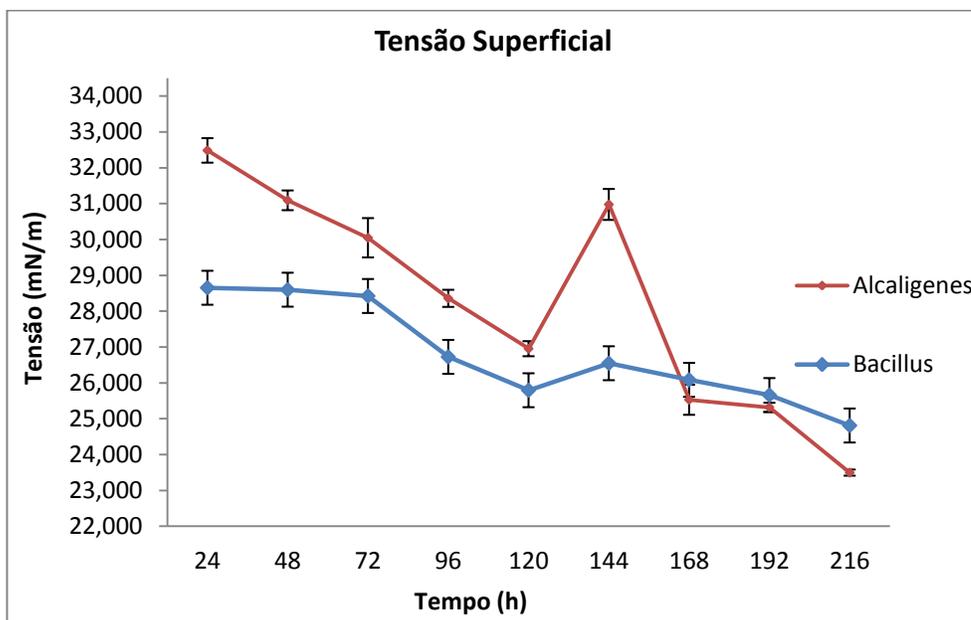


Figura 3.10: Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 150 rpm, 2% de parafina e 4% manipueira.

Mantendo a condição de rotação de 150rpm e adotando uma concentração (%v/v) de parafina muito menor que a de manipueira, ou seja, na condição do experimento 7 com 2% de parafina e 12% manipueira, o *Bacillus* apresentou uma resposta muito melhor, isto quer dizer que a rota de produção de biodesemulsificante em concentrações (%v/v) altas de manipueira (fonte de carbono), a produção é maior. De acordo com a figura 3.11, analisa-se que a fonte de carbono principal para o *Bacillus* não foi a parafina e sim a manipueira. Por isso, os experimentos conduzidos segundo a literatura apresentada por Liu et. al (2010) e por Wen et. al (2010), com cepas de *Bacillus* utilizando a parafina, como carboidrato, não foram bons, quando comparados com as cepas de *Alcaligenes*.

Na figura 3.11 observa-se que a queda de tensão foi aumentando à medida que os dias de produção iam passando, demonstrando que a tensão que era de 28,554 mN/m caiu para 24,375

mN/m ao final do nono dia para o bioproduto oriundo da *Bacillus subtilis*. Esta foi a produção que evidenciou melhor o resultado na quebra da emulsão querosene/água bem como na emulsão óleo cru/água. Análise será exposta mais adiante. Enquanto que para a *Alcaligenes* sp. a tensão caiu de 28,278 mN/m para 25,637 mN/m.

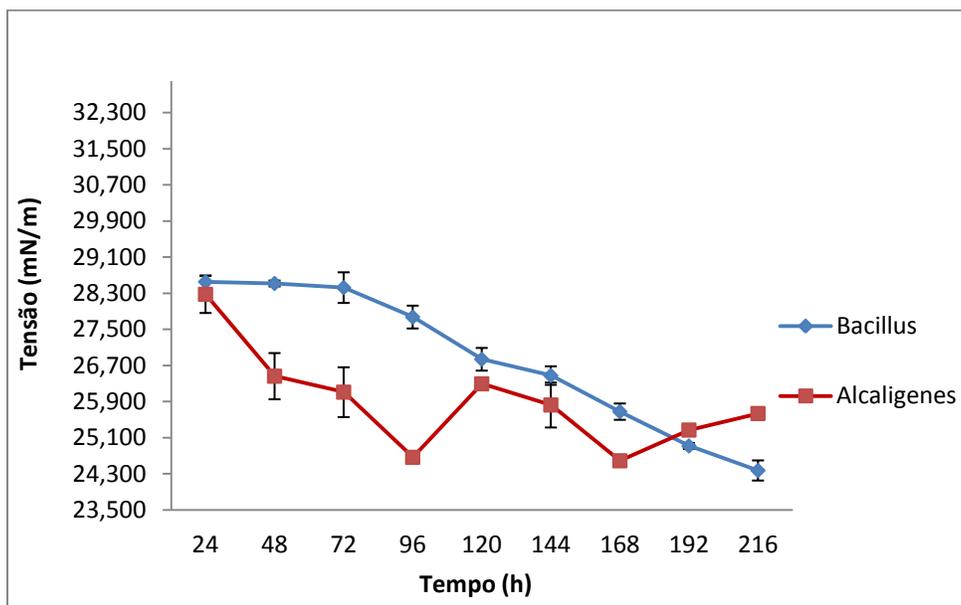


Figura 3.11: Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 150rpm, 2% de parafina e 12% manipeira.

Nos experimentos conduzidos com a rotação de 90 rpm e concentrações da parafina e manipeira conforme descrito na planejamento experimental, verificou-se que ao valores de tensão superficial tiveram uma grande instabilidade, bem como não evidenciou uma produção melhor que as condições apresentadas anteriormente, exceto para o experimento em que a concentração de parafina foi de 6 %(v/v) e a manipeira de 12 %(v/v), conforme mostrado na Figura 3.12.

Desta forma, percebe-se que para as cepas de *Bacillus subtilis*, a rotação e a concentração (%v/v) de manipeira são condições importantes na produção do biodesemulsificante. Com relação a *Alcaligenes* sp. percebe-se uma condição não favorável para a produção do biodesemulsificante.; em virtude da baixa rotação e concentração de parafina.

Os experimentos conduzidos a 90 rpm, em que as concentrações de manipeira eram o dobro da de parafina, condições das figuras 3.12 e 3.13, onde as concentrações (%v/v) foram 6% de parafina com 12% de manipeira e 2% de parafina com 4% de manipeira respectivamente.

Evidencia-se na figura 3.12 que do segundo ao quarto dia o micro-organismo *Bacillus* não produziu, a produção ocorreu somente a partir do quinto dia, resultando em uma queda de tensão de $\pm 4,7\text{mN/m}$ ao longo de 168 horas de experimento, sendo que após este tempo a tensão voltou a crescer. Com relação à bactéria *Alcaligenes sp.* houve uma queda de tensão a partir do terceiro dia chegando ao final dos experimentos com uma tensão de $23,700\text{mN/m}$. do biodesemulsificante.; em virtude da baixa rotação e concentração de parafina.

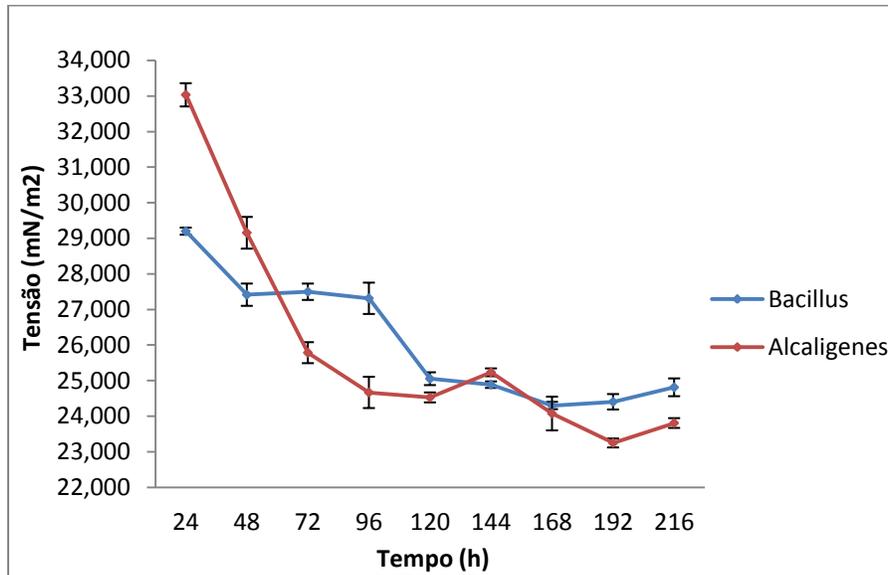


Figura 3.12: Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 90 rpm, 6% de parafina e 12% manipueira.

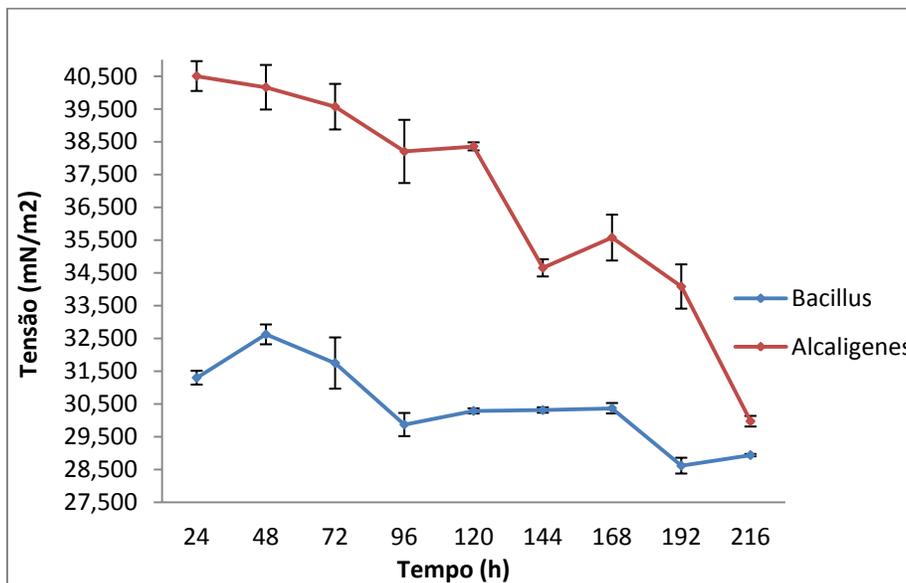


Figura 3.13: Acompanhamento da tensão superficial na rotação de 90 rpm, 2% de parafina e 4% manipueira.

Com base nos dados obtidos verificou-se que o desempenho da produção do biodesemulsificante para cada microorganismo (*Bacillus* e *Alcaligenes*) foi dependente da rotação e principalmente da fonte de carbono, sendo que para o *Bacillus* a manipueira apresentou uma forte alternativa de substrato a ser utilizada e com um bom desempenho. Já para o *Alcaligenes*, o melhor substrato é a parafina, em consonância com trabalho apresentados na literatura, a exemplo de Liu et. al. (2010) que realizou experimentos com meio contendo sais minerais como fonte de carbono, somente parafina, a rotação de 140 rpm e a temperatura de 35 °C, onde verificou que a *Alcaligenes* apresentava uma alta atividade superficial durante dois dias de cultivo, período necessário para a queda de tensão superficial.

Segundo Liu et. al (2010) e Wen et. al (2010) afirmam que a parafina é a fonte de carbono essencial para *Alcaligenes* produzir o biodesemulsificante em maior proporção que outras cepas, como o *Bacillus*. Isto pôde ser comprovado nos experimentos conduzidos a 150 rpm, onde as concentrações (%v/v) de parafina e manipueira foram 6% (v/v) de parafina e 12% (v/v) de manipueira e 2% e 12% respectivamente. De acordo com os resultados apresentados nas figuras 3.9 e 3.11 percebe-se que a queda de tensão foi maior no experimento apresentado na figura 3.9, onde a tensão inicial foi de 33,021 mN/m e ao final da produção atingiu um valor de 24,435 mN/m, ou seja, uma queda de tensão de $\pm 8,586$ mN/m. Enquanto que para a concentração de 2% (v/v) de parafina e 12% (v/v) de manipueira, a queda de tensão foi evidenciada até o quarto dia de produção, conforme a figura 3.11, e então a tensão voltou a subir novamente. Isto pode ser explicado pela baixa concentração de parafina, o que resultou no baixo crescimento celular em razão do início do metabolismo endógeno ter sido dominante. Possivelmente, o micro-organismo começou a consumir o biodesemulsificante, caracterizando a fase endógena.

No experimento conduzido à mesma rotação de 150 rpm e às concentrações (%v/v) de 6% de parafina e 4% de manipueira percebe-se uma queda de $\pm 2,20$ mN/m para o biodesemulsificante produzido a partir da *Alcaligenes* sp. ao longo das 216 h, embora a partir do sexto dia a mudança de tensão foi mínima permanecendo constante, conforme a Figura 31. Segundo Liu et al. (2010), uma queda rápida tensão superficial sugere uma habilidade desmulsificante do caldo fermentado. Os experimentos de Liu et. al. (2010) foram desenvolvidos em meio de sais minerais contendo como fonte de carbono, somente parafina, a rotação foi de 140rpm e a temperatura de 35°C, após os setes dias de produção, avaliou-se que a *Alcaligenes* sp. apresentava uma alta atividade superficial durante dois dias de cultivo, período necessário para a queda de tensão superficial.

Neste trabalho, a fonte de carbono utilizada para a produção dos biodesemulsificantes foi a maniveira que tem como um dos constituintes o amido; por isso, logo apresentou uma interação com a parafina que por sua vez tem como constituinte o carboidrato. Portanto, nos experimentos deste trabalho percebe-se que em determinadas concentrações a interação entre as duas fontes de carbono dificultou a produção do bioproduto pelo *Bacillus subtilis*, já para a *Alcaligenes sp.* percebeu-se que a produção do bioproduto depende diretamente da concentração da parafina e da rotação dos experimentos, conforme observação nos gráficos apresentados. Estas produções de biodesemulsificantes, para Liu et al. (2010), é garantida quando os micro-organismos apresentam uma alta atividade da superfície, fato que pode ser verificado quando a tensão superficial é reduzida e permanece baixa.

3.3 – Aplicações dos Biodesemulsificantes

Nos processos industriais algumas operações geram emulsões e a presença destas oferecem dificuldades para o processamento e aproveitamento dos produtos resultantes de determinada operação, a exemplo da produção de petróleo em que o óleo emulsionado com a água acarreta uma dificuldade operacional para as refinarias, além de problemas como corrosão e incrustação, entre outros.

Nesta etapa do trabalho, a estabilidade da emulsão água/querosene foi acompanhada pela não separação das fases água destilada e querosene na presença do emulsionante Tween 80. Assim como, a estabilidade da emulsão água/petróleo gerada pela mistura de uma solução salina e petróleo, cuja metodologia de preparação já foi descrita anteriormente, também, foi avaliada pela não separação das fases solução salina e petróleo. As emulsões, separadamente, foram colocadas em repouso em proveta por 10 dias a 36°C e durante este tempo não foi evidenciada a separação das fases.

A capacidade de desemulsificação foi testada através das emulsões água/querosene e água/petróleo tanto para o biodesemulsificante produzido pelo micro-organismo *Alcaligenes sp.* como também pelo produzido pelo *Bacillus subtilis*.

Após comprovada a estabilidade da emulsão. Novas emulsões foram preparadas para serem testadas com os dois tipos de biodesemulsificantes, produzidos por *Alcaligenes sp.* e

Bacillus subtilis, nas seguintes condições do experimento 8, ou seja, 150 rpm, 6% (v/v) de parafina e 12% (v/v) de manípueira.

Os testes de desemulsificação foram adaptações dos estudos de Huang et. al, 2009. Cada proveta apresentava 18 mL da emulsão com 2 mL do biodesemulsificante. O teste de desemulsificação foi realizado em oito provetas, sendo quatro provetas para teste com biodesemulsificante produzido a partir de *Alcaligenes sp.* e as outras quatro provetas para teste com biodesemulsificante produzido a partir de *Bacillus subtilis*.

Todas as provetas foram deixadas em repouso em banho-maria a 36°C e após 24 h de repouso percebeu-se uma quebra de emulsão em todos os testes, ou seja, 8 mL de água foram separadas da emulsão e com 48 h, as provetas com o biodesemulsificante a partir de *Alcaligenes* obtiveram mais 1 ml de quebra de emulsão e ao final de quatro dias de análise a quebra da emulsão foi estabilizada, ou seja, o volume máximo de água separada da emulsão foi de 9 mL.

Com relação ao biodesemulsificante a partir do *Bacillus* após 48 h mais 1,5 mL de quebra de emulsão foi evidenciada e ao final de quatro dias de análise, a quebra da emulsão, também, foi estabilizada, ou seja, o volume máximo de água separada da emulsão foi 9,5 mL. Durante estes testes, uma proveta contendo somente a emulsão água/querosene foi deixada como branco, a fim de comprovar a estabilidade da mesma. Os resultados destes testes serão apresentados na tabela 3.2.

O experimento número 7 – rotação de 150 rpm, 2% (v/v) de parafina e 12% (v/v) de manípueira, também, foi testado, porém somente para o biodesemulsificante produzido por *Bacillus*. A quebra de emulsão ocorreu com 48 h, ou seja, 7 mL de água separou-se do restante da emulsão e então não houve mais separação.

A capacidade de desemulsificação das cepas de *Alcaligenes sp.* e de *Bacillus subtilis* empregadas na produção de biodesemulsificantes foi testada na emulsão do querosene do tipo água em óleo; assim como na emulsão do petróleo foi do tipo água em óleo. Esta capacidade foi avaliada para cada biodesemulsificante tendo como base as alterações no volume da fase oleosa (topo), da fase de água (parte inferior) e da fase de emulsão (no meio) em intervalos de tempo. A equação 3.1 utilizada para estas análises é descrita por Huang et al, (2009):

Razão de quebra de emulsão

$$= \left(1 - \frac{\text{volume de emulsão remanescente}}{\text{volume de emulsão original} + \text{volume de biodesemulsificante}} \right) \times 100\% \quad (\text{equação 3.1})$$

Tabela 3.2: Volumes de quebra de emulsão água/querosene

Tempo (h)	Volume de quebra (mL) Alcaligenes sp.	Volume de quebra (mL) Bacillus subtilis
0	-	-
24	8	8
48	9	9,5
% de razão de quebra de emulsão	50%	57,5%

A tabela apresenta os volumes de quebra das emulsões para os biodesemulsificantes produzidos a partir dos micro-organismos *Alcaligenes sp.* e *Bacillus subtilis*, bem como os percentuais de razão de quebra de emulsão após 48h de análise.

Após 48h a razão de quebra de emulsão para o biodesemulsificante produzido por *Alcaligenes* foi de 50% e para os biodesemulsificantes produzidos por *Bacillus* foi de 57,5% e 45% respectivamente. Desta forma pode-se considerar que as bactérias utilizadas na produção destes produtos são potenciais bactérias desemulsificantes.

Nas pesquisas desenvolvidas por Huang et. al, 2009, dezessete cepas apresentaram uma razão de quebra de emulsão de 50% para a emulsão de querosene, portanto estas bactérias foram consideradas como potenciais para a produção de biodesemulsificantes, dentre as cepas estudadas estão a de *Alcaligenes*, com as quais a quebra de emulsão foi superior a 50%.

Em nossos estudos a bactéria do tipo *Alcaligenes sp* tendo como fontes de carbono a manipueira e parafina foi de 50% em 48 h de teste, demonstrando que este tipo de biodesemulsificante tem uma relevância na quebra de emulsões de querosene, ou seja, houve a produção do biodesemulsificante e por conseguinte a quebra de emulsão. Este resultado está relacionado com a medida de tensão superficial que inicialmente foi de 33,021 mN/m e ao final da produção atingiu um valor de 24,435 mN/m.

Pode se afirmar que a habilidade de um biodesemulsificante está relacionada com a capacidade de quebra da camada de óleo, da mesma forma com a alta atividade de superfície (baixa tensão superficial). Tendo em vista que bactérias desemulsificantes eficientes apresentam elevada atividade de superfície. Para alguns autores, quanto maior a facilidade das cepas em reduzir a tensão superficial, valores abaixo de 30 mN/m, maior será a possibilidade de produção de bioproduto considerado como biossurfactante.

Biodesemulsificantes produzidos por *Alcaligenes sp.* demonstram maior eficiência e eficácia na quebra de emulsão água/óleo que na emulsão óleo/água. Isto está relacionado com a hidrofobicidade da superfície celular, ou seja, o componente desemulsificante para o tipo de

emulsão óleo/água está associado com a hidrofobicidade da superfície celular, a qual é desenvolvida durante o estágio de cultivo endógeno. Enquanto que o componente desemulsificante para o tipo de emulsão água/óleo está associado com a superfície celular hidrofílica, a qual é desenvolvida no estágio inicial de cultivo do micro-organismo. (HUANG et al, 2009).

Recentes pesquisas para a produção de biodesemulsificantes sintetizados a partir de fontes de carbonos hidrofóbicas são superiores que as produzidas por fontes de carbonos hidrofílicas; isto em termos de atividade de superfície e produtividade. Por outro lado, a extração de biodesemulsificantes a partir de fontes de carbonos hidrofílicos reduzem substancialmente os custos de produção. (LIU et al, 2010). Nos resultados desta pesquisa comprovou-se que os micro-organismos *Alcaligenes* e *Bacillus* tiveram uma boa aceitação da manipueira, fonte de carbono hidrofílica, para a produção de biodesemulsificantes, conforme resultados já apresentados na quebra de emulsão água/querosene. Os testes para a produção dos biodesemulsificantes foram realizados com fontes de carbono, hidrofílicas (manipueira) e hidrofóbicas (parafina líquida) em concentrações variadas conforme planejamento experimental. Porém, os teste de aplicação aconteceram somente com os melhores resultados, ou seja, experimentos 7 (fontes de carbono – 2% (v/v) de parafina, 12% (v/v) de manipueira, rotação - 150rpm) e 8 (fontes de carbono - 6% (v/v) de parafina, 12% (v/v) de manipueira, rotação - 150rpm). Com relação à fonte de nitrogênio foi empregado o nitrato de amônio que é uma fonte excelente para uma boa produção de biodesemulsificante de lipopeptídeos e de ramnolipídeos. Lembrando que o micro-organismo responsável para a produção de ramnolipídeos é a *Alcaligenes* sp., enquanto que o *Bacillus subtilis* é responsável pela produção de lipopeptídeos.

Para a emulsão com o petróleo, o desempenho da desemulsificação foi avaliado em termos da razão de proporção de separação de água, em decorrência da coloração escura da emulsão. A equação 3.2 foi descrita por Huang et al, (2009). para estas análises:

Proporção de razão de água

$$= \frac{\text{volume de água no fundo}}{\text{volume de água na emulsão original} + \text{volume do biodesemulsificante}} \quad (\text{equação 3.2})$$

Os mesmos biodesemulsificantes empregados na quebra de emulsão de querosene, também, foram avaliados na quebra de emulsão do petróleo, o resultado demonstrou uma eficiência menor que 50%. Isto pode ser explicado, em razão da emulsão de petróleo ter sido preparada com o petróleo cru extraído do poço, cuja composição ser mais complexa que a do querosene (HUANG et. al, 2009). Estes resultados serão apresentados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3: Volumes de quebra de emulsão água/petróleo com biodesemulsificante a partir do *Bacillus subtilis*

Proveta	Volume de quebra (mL)	% Proporção de razão de água
50 mL	26	52
50 mL	21	42
25 mL	12	24
25 mL	10	20

A tabela apresenta os volumes de quebra das emulsões para o biodesemulsificante produzido a partir do micro-organismo *Bacillus subtilis*, bem como os percentuais de razão de quebra de emulsão após 48h de análise.

Para os testes de desemulsificação da emulsão do petróleo, primeiramente, foram repetidos os mesmos volumes de emulsão que foi de 18 mL e de desemulsificante que foi de 2 mL nas provetas empregados nos testes de quebra de emulsão do querosene; porém não evidenciou-se nenhuma quebra de emulsão; em virtude de uma maior viscosidade e da presença de moléculas de cadeias mais complexas evidenciadas no petróleo cru empregado nos testes. Então foram adicionados 75 mL de biodesemulsificante produzidos por *Bacillus* a 300 mL de emulsão em um bécker, a agitação foi mantida em 3600 rpm por 15 min, depois os volumes foram distribuídos em quatro provetas de 25 mL e mais quatro provetas de 50 mL, as quais foram deixadas em repouso em banho-maria a 36°C, a quebra de emulsão nas provetas foram evidenciadas após 48 h, onde na primeira proveta de 50 mL houve uma quebra de 26 mL e na última proveta de 50 mL a quebra foi de 21 mL; já na segunda proveta de 25 mL houve quebra de 12 mL e na terceira proveta de 25 mL a quebra foi de 10 mL conforme a figura 3.14.

A figura 3.15 demonstra a quebra de emulsão da água/petróleo na segunda proveta com o bioproduto obtido do *Bacillus subtilis* e na terceira proveta com o bioproduto obtido da *Alcaligenes sp.* Sendo a primeira e quarta provetas, sem biodesemulsificantes para provar a estabilidade da emulsão durante os testes de desemulsificação. Todas provetas, também, foram mantidas em banho-maria a 36°C.



Figura 3.14: Acompanhamento da quebra de emulsão água/petróleo com o biodesemulsificante produzido a partir do *Bacillus subtilis*.



Figura 3.15: Acompanhamento da quebra de emulsão água/petróleo com a primeira e a quarta provetas sem biodesemulsificantes.

Aplicando a equação de proporção de razão de água proposta nos estudos de Huang et al, (2009) para a quebra de emulsão água/petróleo com o biodesemulsificante produzido a partir de *Bacillus subtilis* obtêm os seguintes resultados: 52%, 42%, 24%, 20% respectivamente às quebras de 26mL, 21mL, 12mL, 10mL, conforme apresentado na tabela 3.3.

Apesar da necessidade em aumentar a quantidade de biodesemulsificante para que houvesse quebra da emulsão, pode-se afirmar que o biodesemulsificante produzido por *Bacillus subtilis* tendo a manipueira, como fonte de carbono, juntamente com a parafina líquida, é um potencial tipo de biosulfactante capaz de produzir quebra de emulsões, reduzindo-se desta forma os custos no processamento primário em relação ao uso de desemulsificantes químicos.

A escolha da manipueira como fonte de carbono deve-se ao fato de ser um rejeito oriundo das etapas moagem e prensagem da mandioca, para que a mesma possa ser processada em farinha. Este rejeito por ser rico em amido, açúcar, necessário para que as bactérias de *Bacillus subtilis* possam produzir sulfactinas. Embora as bactérias *Alcaligenes sp.* que são pseudomonas necessitem de carboidratos, os quais podem ser encontrados na parafina líquida, também foi empregada a manipueira como fonte de açúcar, afim de avaliar se este tipo de pseudomonas seriam capazes de produzir ramnolipídeos.

Os testes para o biodesemulsificante a partir de *Alcaligenes* foram conduzidos da mesma maneira e na mesma quantidade, ou seja, 75 mL de biodesemulsificante de ramnolipídeos em 300 mL de emulsão de petróleo, nas primeiras 24h não houve quebra de emulsão e após 48h houve uma quebra de 14 mL, conforme figura 3.15, terceira proveta, já que a segunda proveta refere-se ao biodesemulsificante de sulfactinas. Aplicando a equação proposta por Huang et. al, 2009, percebe-se uma quebra de 28% admitindo um volume de 50 mL – 40 mL de emulsão com 10 mL de biodesemulsificante. Nas duas provetas em que não foram evidenciadas as quebras de emulsão referem-se a apenas emulsões de petróleo sem biodesemulsificantes, como uma prova de que a emulsão preparada sob as mesmas condições manteve-se intacta.

Comparando os resultados de quebra de emulsão água/querosene e água/petróleo percebe-se uma melhor eficiência de quebra de ambos os biodesemulsificantes no primeiro tipo de emulsão em razão da densidade e da viscosidade das emulsões. As densidades foram 24,591 g/mL para emulsão água/querosene e 25,789 g/mL para emulsão água/petróleo. Com relação à classificação do comportamento reológico das emulsões tem-se para a emulsão do tipo água/querosene um comportamento de um fluido pseudoplástico em que a viscosidade foi

reduzida com o aumento da tensão de cisalhamento, além da tensão de cisalhamento não ser diretamente proporcional à taxa de deformação, conforme observado nos gráficos representados nas figuras 3.16 e 3.17.

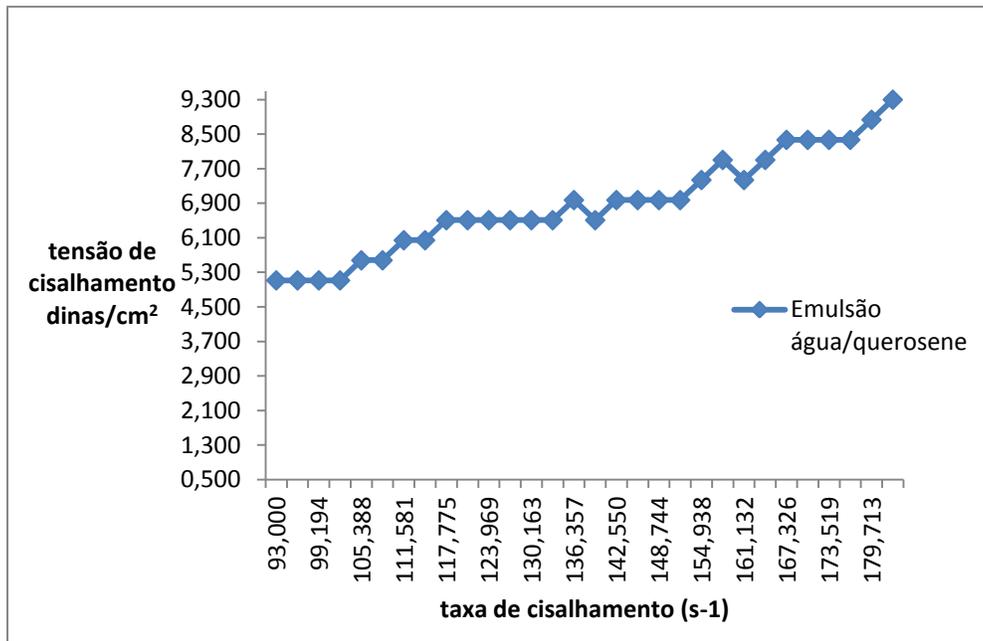


Figura 3.16: Acompanhamento da tensão de cisalhamento versus a taxa de cisalhamento na emulsão água/querosene

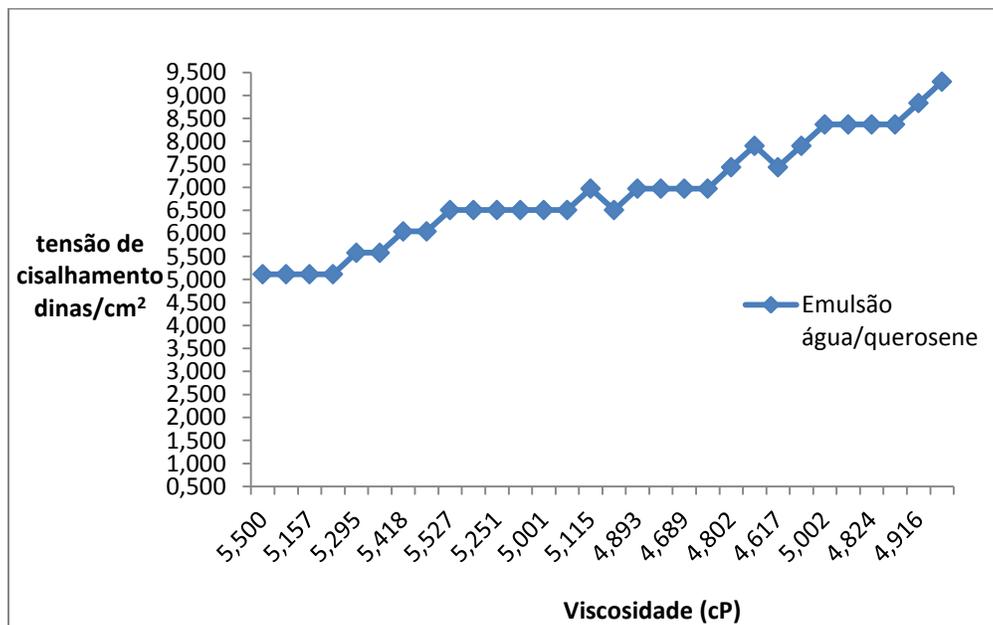


Figura 3.17: Acompanhamento da tensão de cisalhamento versus a viscosidade na emulsão água/querosene

A emulsão de água/petróleo apresentou maior viscosidade e maior tensão de cisalhamento, quando comparada com a emulsão água/querosene. Isto explica um melhor desempenho dos biodesemulsificantes com o segundo tipo de emulsão do que com o primeiro tipo de emulsão. Os gráficos apresentados nas figuras 3.18 e 3.19 demonstram um comportamento de fluido newtoniano para a emulsão água/petróleo, quando em temperatura de 36°C, onde percebe-se que à medida que a taxa de cisalhamento aumenta a tensão de cisalhamento também aumenta; assim como o gráfico da tensão de cisalhamento versus viscosidade.

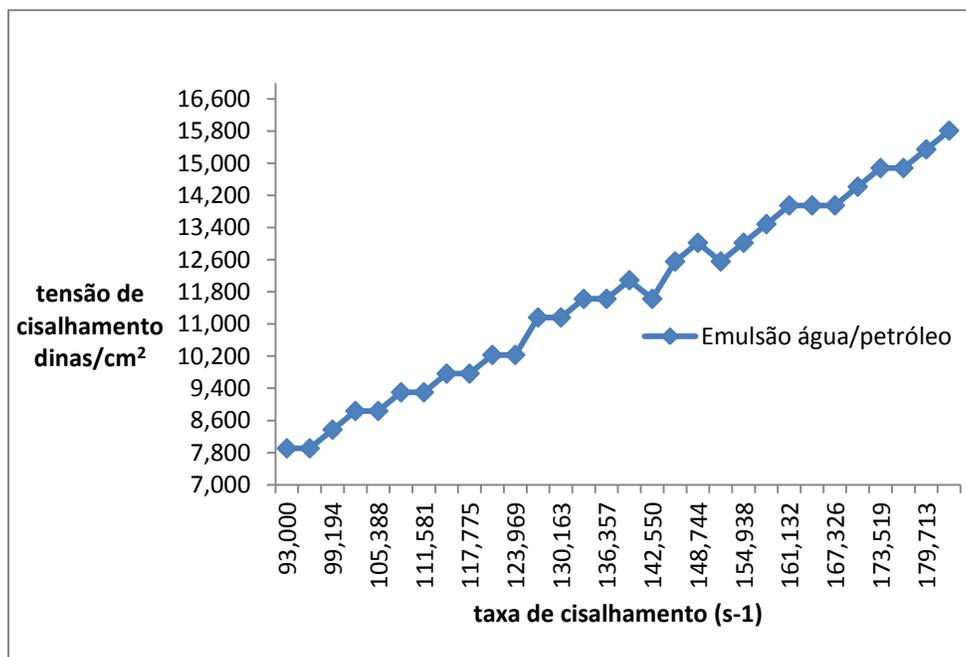


Figura 3.18 : Acompanhamento da tensão de cisalhamento versus a taxa de cisalhamento na emulsão água/petróleo

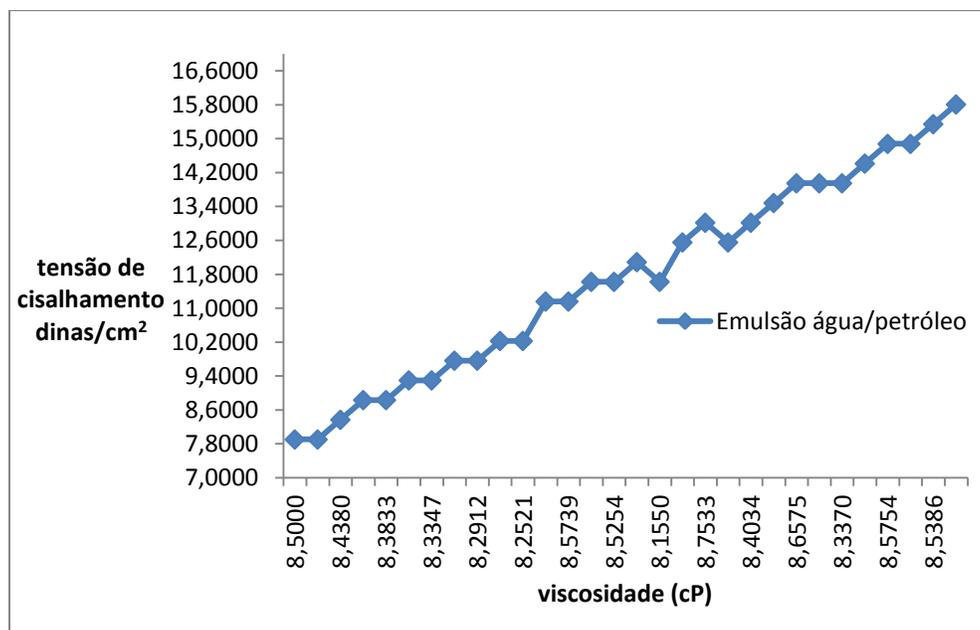


Figura 3.19: Acompanhamento da tensão de cisalhamento versus a viscosidade na emulsão água/petróleo

3.4 – Planejamento Experimental – Tratamento de Dados

O tratamento dos dados de tensão superficial, concentração de parafina e concentração de manipueira para os dois tipos de micro-organismos utilizados neste estudo foram avaliados no programa Statistica.

De acordo com o Diagrama de Pareto para o micro-organismo *Bacillus subtilis* a variável parafina tem influencia relevante para a queda da tensão superficial, a interação concentração de parafina e rotação também apresentou importância; porém as variáveis rotação e concentração de manipueira analisadas separadamente não evidenciam relevância na queda da tensão para este tipo de micro-organismo, como também as interações concentração de manipueira/rotação e concentração de manipueira/concentração de parafina, conforme a figura 3.20.

Diversos autores afirmam que uma alta capacidade desmulsificante não necessariamente tem que sugerir uma elevada atividade de superfície, ou seja, uma baixa tensão de superfície. Em outras palavras pode-se afirmar que o *Bacillus subtilis* trabalhando com uma fonte alternativa de carbono, a manipueira, foi capaz de produzir quebra de emulsão.

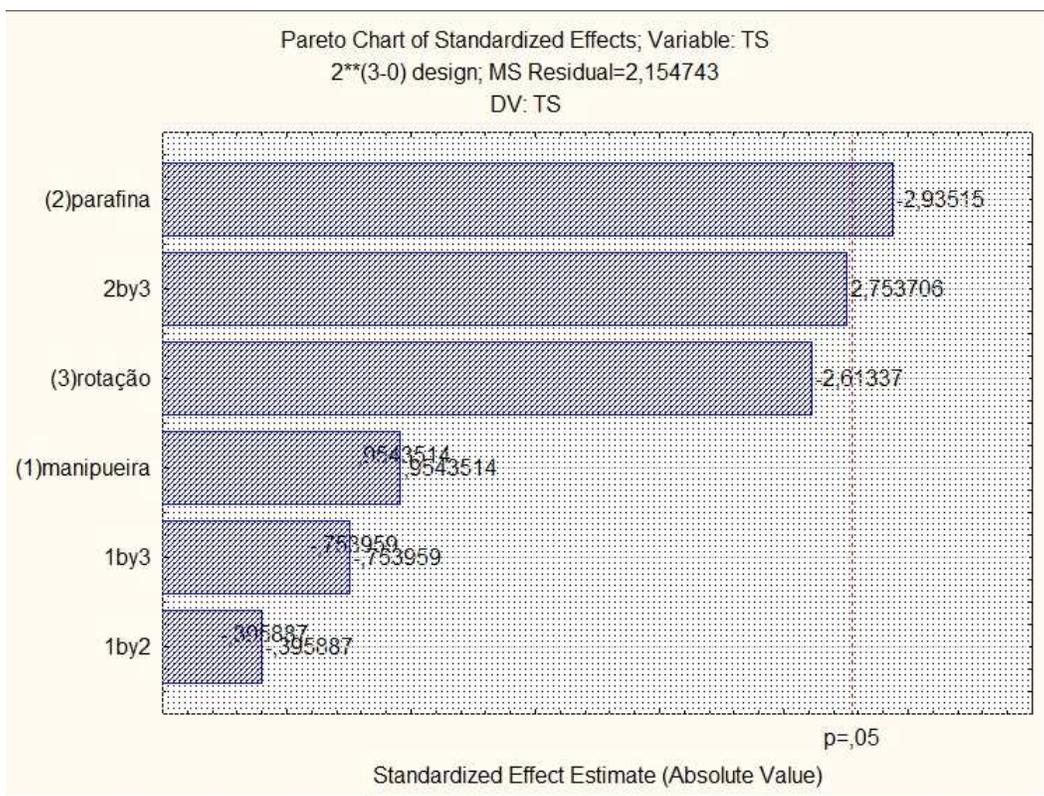


Figura 3.20: Diagrama de Pareto para o bioproduto obtido a partir do Bacillus subtilis

Com relação à área de superfície para o Bacillus subtilis, a mesma analogia pode ser feita, ou seja, os menores valores de tensão superficial são alcançados quando se tem maior concentração de parafina e menor concentração de manipueira, conforme a figura 3.21.

O Diagrama de Pareto obtido para a Alcaligenes sp. sugere que nenhuma das interações rotação/concentração de manipueira, com concentração de manipueira/concentração de parafina e rotação/concentração de parafina foram tão expressivas para a queda da tensão de superfície, quando comparada com a do Bacillus subtilis, conforme a figura 3.22. Já com relação à área de superfície percebe-se os valores de menores tensão são alcançados quando se tem maiores concentrações (% v/v) de parafiana e de manipueira, conforme a figura 3.23.

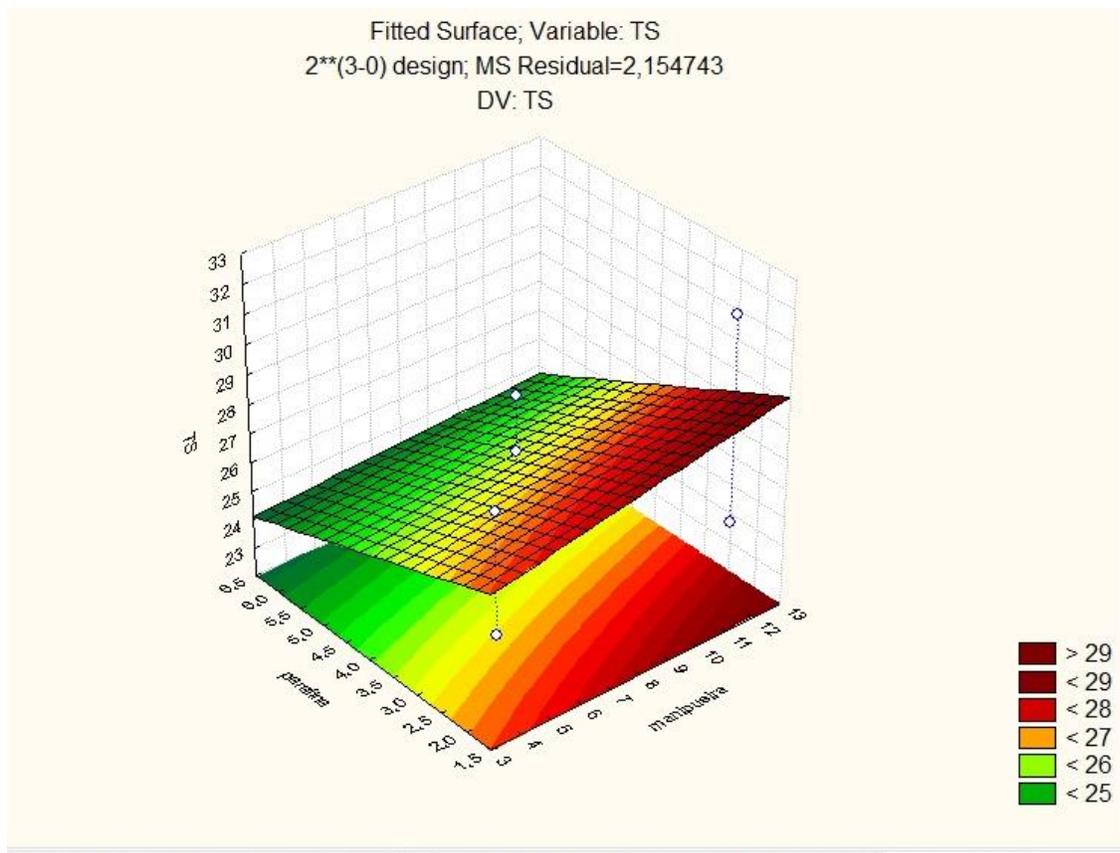


Figura 3.21: Área de superfície para o bioproduto obtido a partir do *Bacillus subtilis*

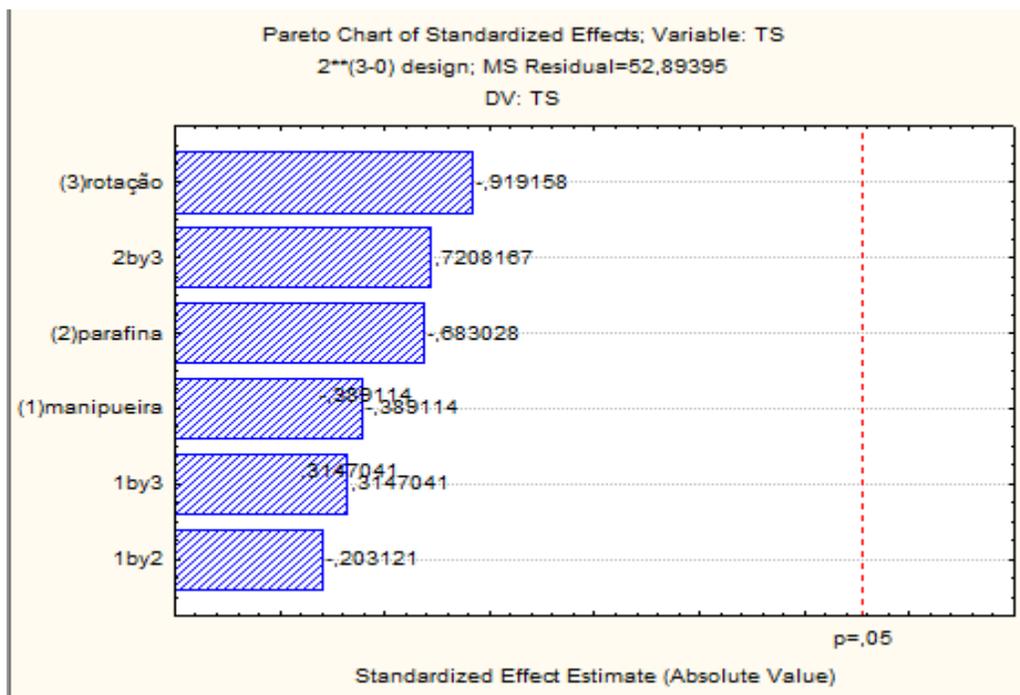


Figura 3.22: Diagrama de Pareto para o bioproduto obtido a partir da *Alcaligenes sp.*

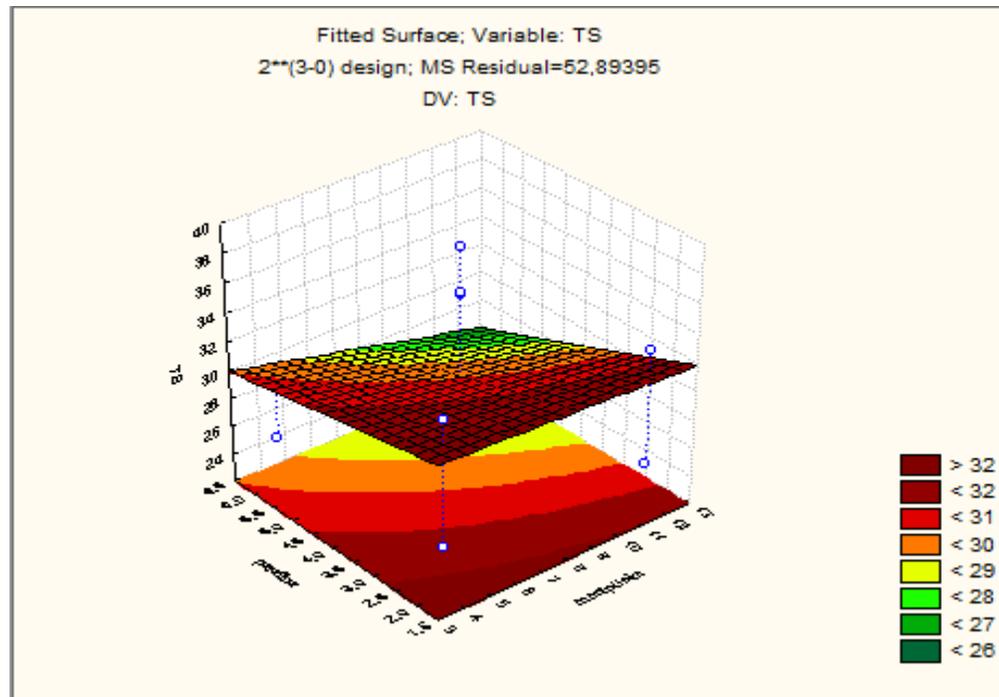


Figura 3.23: Área de superfície para o bioproduto obtido a partir da *Alcaligenes sp.*

Neste estudo comparativo de produção de biodesemulsificantes resultantes do processo fermentativo de bactérias oriundas do meio ambiente contaminado com petróleo, *alcaligenes sp* e *bacillus subtilis*, percebeu-se que as análises de atividade de superfície não puderam substituir as análises de quebra de emulsão, mas somente auxiliar na seleção de bactérias com potenciais capacidades desemulsificantes. Isto porque, a capacidade destes desemulsificantes em quebrar as emulsões água/querosene e água/petróleo não demonstraram através do tratamento dos dados via o Statistica uma elevada atividade de superfície pelo uso da manipueira empregada como fonte de carbono, quando a sua concentração era superior à de parafina. Por isso, Huang et. al, 2009, em seus estudos afirma que nem sempre a medida de tensão superficial está correlacionada com a habilidade de desemulsificação. Porém, quando as cepas de bactérias pontencialmente desemulsificantes são capazes de reduzir bastante a tensão superficial, a taxa de quebra de emulsão geralmente é superior a 70%.

3.5 - Estimativa dos Custos de Produção

Avaliando os custos de produção dos biodesemulsificantes pondera-se que para a produção de 1L de cada bioproduto são necessárias as quantidades com respectivos valores, que se encontram representados na Tabela 3.4 que se segue.

Tabela 3.4: Custo de cada reagente empregado na produção do biodesemulsificante

Reagentes	Quantidades	Valor (R\$)
Extrato de carne	1,25g	0,38
Peptona	2,5g	1,25
Cloreto de sódio	1,25g	0,10
Nitrato de amônio	4,0g	0,28
Fosfato de potássio monobásico	6g	0,48
Fosfato de potássio dibásico	4g	0,64
Sulfato de magnésio hidratado	0,2g	0,01
Cloreto de cálcio hidratado	0,01g	0,01
Sulfato ferroso hidratado	0,01g	0,01
EDTA	0,014g	0,02

O estabelecimento monetário destes valores foi obtido da cotação de produtos em embalagens de 500g. Tais produtos foram cotados na empresa SERGILAB – Aracaju-Se.

Da análise dos valores da Tabela 3.4, acima apresentada, pode-se extrair que o custo total com reagentes é de R\$ 3,18 (três reais e dezoito centavos) e custo de consumo de energia de R\$ 90,48 (noventa reais e quarenta e oito centavos) para os 13 dias de reação, admitindo que 1Kwh é de R\$ 0,29 (vinte e nove centavos).

Resalta que não foi levado em consideração os custos com mão-de-obra e depreciação do equipamento.

Comparando a quantidade de biodesemulsificante empregada na quebra de emulsão água/petróleo do trabalho aqui apresentado, que foi de 75 mL para 300 mL de emulsão, com a quantidade do desmulsificante químico Dissolvan empregada no processamento primário da

Petrobras que é de 94 ppm (mg/L) para cada L de emulsão água/petróleo com densidade de 0,9g/mL. Tem-se as seguintes considerações: o tempo de residência do desemulsificante químico com a emulsão de petróleo é de aproximadamente 30 min a uma faixa de temperatura de 55 a 60°C e que o seu custo é de R\$ 22,75 (vinte e dois reais e setenta e cinco centavos) por cada Kg do produto, enquanto que para o biodesemulsificante, a temperatura de trabalho foi de 36°C e o tempo de residência de 48h.

Apesar do maior tempo de residência que o biodesemulsificante necessita com a emulsão para que ocorra a quebra, verifica-se que os custos com reagentes são menores; isto decorre do fato dos custos para a produção dos desemulsificantes químicos oscilarem de acordo com o preço do barril de petróleo, vez que um dos componentes que serve como matéria-prima para a produção dos mesmos é o xileno, produto obtido a partir do processo de refino do petróleo e que é altamente tóxico, apresenta baixa biodegradabilidade, insolúvel em água, porém solúvel em solvente orgânico, conforme ficha de informações de segurança presente no apêndice A e B

**CONCLUSÕES GERAIS E
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Convém mencionar que a escolha dos micro-organismos extraídos do meio ambiente, ou seja, de solo contaminado de petróleo representa um ponto positivo deste trabalho quanto se compara com processos que utilizam meios de cultura onerosos.

O meio de cultura utilizado para crescimento dos micro-organismos, não contribuiu para a formação de espumas e nem para reduções significativas de pH, evitando desta forma o uso de antiespumantes e um controle rigoroso do pH.

Para o crescimento da biomassa não foi evidenciada a necessidade do uso de aminoácidos específicos ou vitaminas, o que também iria contribuir para elevar o custo de produção; além disso, procurou-se trabalhar com a manipueira que é um rejeito líquido extraído da mandioca, rico em amido, fonte de carboidrato alternativa tanto para as *Alcaligenes sp.* produzirem ramnolipídeos, quanto para o *Bacillus subtilis* produzirem as sulfactinas.

Nos testes de biodesemulsificação empregando biodesemulsificantes de ramnolipídeos e de sulfactinas, percebe-se que as bactérias sugerem uma habilidade potencial para a quebra de emulsão do tipo água/óleo, o que poderiam ser empregados no processamento primário do petróleo bruto, desde que as características reológicas do óleo fossem semelhantes às características apresentadas neste trabalho, minimizando desta forma os custos com desemulsificantes químicos. Além disto, estes apresentam elevada toxicidade e baixa biodegradabilidade, como pode ser observado nas fichas de informação de segurança (apêndices A e B).

O bioproduto obtido mostrou ser eficaz na quebra de emulsões água/óleo atingindo valores da ordem de 28% para o de *Alcaligenes sp.* e de 52% para o de *Bacillus subtilis*. Logo, o conhecimento das condições de produção e de aplicação em sistemas real (emulsão de petróleo) é de fundamental importância para os processos que envolvem o fenômeno de formação de emulsões; sendo a grande contribuição deste estudo.

Diante dos resultados e conclusões apresentados, nota-se que existem alguns aspectos que precisam ser estudados com maiores detalhes, com a finalidade de ampliar substancialmente o conhecimento a respeito de produção e aplicação dos biodesemulsificantes obtidos a partir de micro-organismos, a exemplo do *Bacillus subtilis* e da *Alcaligenes sp.* em emulsões de óleo. O primeiro aspecto é determinar o percentual de ramnolipídeos presentes no biodesemulsificante obtido a partir da *Alcaligenes sp.*, bem como o percentual de sulfactinas presentes no biodesemulsificante obtido a partir do *Bacillus subtilis*. O segundo aspecto é determinar a

validade de ambos os desemulsificantes estudados, assim como a melhor condição em termos de temperatura de acondicionamento dos mesmos. O terceiro aspecto é a sua aplicação direta nos separadores terciários entre a faixa de temperatura de 55 a 60°C.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BASTOW, T. P.; LANG, D. [et al.]. Rapid Small-Scale of Saturate, Aromatic and Polar Components in Petroleum.

BORZANI, Walter [et al.]. *Biotecnologia Industrial*. vol1. São Paulo: Blucher, 2001.

DAVID, D.; PEZRON, I.; DALMAZZONE, C. Elastic properties of crude oil/water interface in presence of polymeric emulsion breakers. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* n.270–271, p. 257–262, 2005.

DRELICH, A.; GOMEZ, F. [et al.]. Evolution of water-in-oil emulsions stabilized with solid particles Influence of added emulsifier. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, n.365, p. 171–177, 2010.

FINGAS, M.; FIELDHOUSE, B. Studies of the formation process of water-in-oil emulsions. *Marine Pollution Bulletin*, v.47, p.369-396, 2003.

GHANNAN, M. T. Water-in-crude oil emulsion stability investigation. *Petroleum Science and Technology*, v. 23, p. 649-667, 2005.

GUO, J. [et. al.]. The effect of alkali on crude oil/water interfacial properties and the stability of crude oil emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. v. 273, p. 213–218, 2006.

HAMME, J. D.V.; SINGH, A.; WARD, O. P. Recent Advances in Petroleum Microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, p. 503–549, 2003.

HUANG, X. [et. al.]. Evaluation of screening methods for demulsifying bacteria and characterization of lipopeptide bio-demulsifier produced by *Alcaligenes* sp. *Bioresource Technology*, n.100, p.1358–1365, 2009.

HUANG, X. [et. al.]. Characterization and phylogenetic analysis of biodemulsifier-producing bacteria. *Bioresource Technology*, n.101, p.317–323, 2010.

HWANG, J.; DEO, M. D.; HANSON, F. V.; Dynamic Behaviour of Supercritical Fluid Extractions of a Crude Oil and Its Cacuum Residue. *Fuel*, v.75 ,n. 13, p. 1591-1595, 1996.

ICHIKAWA, T. [et. al.]. Rapid demulsification of dense oil-in-water emulsion by low external electric field. I. Experimental evidence. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspect*, v. 242, p.21–26, 2004.

KUNERT, R. [et. al.]. Processamento Primário de Petróleo. *Universidade Petrobras. Escola de Ciências e Tecnologias E&P. Rio de Janeiro, 2007.*

LIU, H.; YU, J. [et al.]. Identification of Key Oil Refining Technology for China National Petroleum Co. *Energy Policy*, n. 35, p.2615-2647, 2007.

LIU, J.; HUANG, X. [et al.]. Comparison between waste frying oil and paraffin as carbon source in the production of biodemulsifier by *Dietzia* sp. S-JS-1. *Bioresource Technology*, n.100, p.6481–6487, 2009.

LIU, J.; HUANG, X. [et al.]. Optimization of biodemulsifier production from *Alcaligenes* sp. S-XJ-1 and its application in breaking crude oil emulsion. *Journal of Hazardous Materials*, n.183, p.466–473, 2010.

MARIANO, J. B. Impactos Ambientais do Refino de Petróleo – Rio de Janeiro: Interciência, 2005.

OLIVEIRA, A. [et. al.]. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. *Química Nova*, vol.27, no.1, São Paulo Jan./Feb. 2004.

RAMALHO, J.; LECHUGA, F.; LUCAS, E. Effect of the structure of commercial poly(ethylene oxide-b-propylene oxide) demulsifier bases on the demulsification of water-in-crude oil emulsions: elucidation of the demulsification mechanism. *Química Nova*, vol.33, no.8, p. 1664-1670. São Paulo: 2010.

SANTOS, A. X. [et. al.]. Tratamento de Emulsões de Água em Óleo no Processamento Primário do Petróleo. *Universo do Petróleo e Gás*, vol. 01, n. 2, 2010.

SJÖBLOM, J. [et. al.]. *Emulsions and Emulsion Stability*, 2 ed. New York: Taylor & Francis Group, 2006.

SPEIGHT, J. G. The Chemistry and Technology of Petroleum, 3 ed. – United States of America: Marcel Dekker, 1999.

TESFAI, J. T.; PERRY, R. N.; JABLONSKI, E. L. Water-in-oil emulsion separation within a milli-fluidic device. *Journal of Colloid and Interface Science*, n. 354, p.895–899, 2011

TRIGGIA, A. A.; CORREIA, C. A...[et al.]. Fundamentos de Engenharia de Petróleo, 2 ed. – Rio de Janeiro: Interciência, 2001.

WEN, Y.; CHENG, H. [et al.]. Analysis of biological demulsification process of water-in-oil emulsion by *Alcaligenes* sp. S-XJ-1. *Bioresource Technology* v.101, p. 8315–8322, 2010.

APÊNDICES A, B

Produto: DISSOLVAN 040

Página 1 de 7

Data revisão: 18/08/2003

1 - IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO E DA EMPRESA

Nome do Produto: DISSOLVAN 040
Nome da Empresa: CLARIANT S/A
Endereço: Av. das Nações Unidas, 18001
Complemento: Sto Amaro 04795-000 São Paulo
Telefone: (11)- 5683-7233
Tel. de Emergência: 0800-193190
FAX: (11) 5642-1654
E-mail:
Site:

2 - COMPOSIÇÃO E INFORMAÇÃO SOBRE OS INGREDIENTES

Sinônimos:
Natureza química: Resina Policondensada dissolvido em solventes orgânicos.
Ingredientes ou impurezas que contribuem para o perigo: Xileno Conc: >=15-<=25% N° CAS: 1330-20-7
N° EINECS: 215-535-7
Etanol Conc: >=10-<=20% N° CAS: 64-17-5
N° EINECS: 200-578-6
Classif. e rotulagem de perigo: Xileno
Símbolo de Perigo: Xn
Frases R: 10 20/21 38
Etanol
Símbolo de Perigo: F
Frases R: 11

3 - IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS

Perigos mais importantes: Inflamável. Contato com a pele e inspiração de Aerossóis/Vapores da preparação deve ser evitado.
-Efeitos a saúde humana:
-Efeitos ambientais:
-Perigos físicos e químicos:
Perigos específicos:
Principais sintomas:
Classif. do produto químico:
Visão geral de emergências:

4 - MEDIDAS DE PRIMEIROS SOCORROS

Ações a evitar: Recomendações em Geral: Tirar imediatamente roupa suja ou embebida e dispor adequadamente.
-Inalação: Se inalado transportar para o ar fresco. Consulte o médico se aparecer ou persistirem sintomas irritativos.
-Ingestão: Enxaguar a boca com água em abundância. Providenciar tratamento médico.
-Contato com os olhos: Em caso de contato com os olhos, lavar profundamente com muita água e consultar um médico.
-Contato com a pele: Em caso de contato com a pele lavar imediatamente com muita água. Se persistirem as perturbações cutâneas, consultar um médico.
Principais sintomas/efeitos:
Notas para o médico: Tratamento: Em caso de ingestão, lavagem estomacal sob adição de Dimeticon (anti-espumante). Em caso de ingestão, lavagem estomacal. Antídoto não

específico. Tratar sintomaticamente.

5 - MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

Meios de extinção apropriados: Espuma Pó de extinção de fogo Dióxido de Carbono Névoa de Água

Meios de extinção NÃO apropriados:

Perigos específicos:

Métodos especiais: Irrigar e arrefecer o contentor e as partes metálicas com um jato de água em spray. A água proveniente do combate ao fogo não pode ser lançada diretamente em rios ou lagos.

Proteção dos bombeiros: Utilizar aparelho de proteção respiratória independente da atmosfera.

6 - MEDIDAS DE CONTROLE PARA DERRAMAMENTO OU VAZAMENTO

Precauções Pessoais

-Remoção de fontes de ignição: Manter afastado de fontes de ignição.

-Controle de Poeira: Não disponível.

-Inalação e contato: Manter pessoas afastadas e permanecer no lado de onde sopra o vento.

Precauções ao meio ambiente: Não permitir que o produto vazado penetre no solo nem escoe para cursos d' água (rede de esgoto, por exemplo).

Sistemas de alarme:

Métodos de Limpeza

-Métodos de limpeza: Recolher com material ligante de líquido (p.ex. Areia, ligante universal). Recolher mecanicamente. Enxaguar o restante com água.

-Neutralização: Não disponível.

-Disposição: Não drenar para rede de esgoto.

Perigos secundários:

7 - MANUSEIO E ARMAZENAMENTO

MANUSEIO:

Medidas técnicas apropriadas: Abrir e manusear recipiente com cuidado.

-Prevenção da exposição do trabalhador:

-Prevenção de incêndio e explosão:

Tomar medidas contra carregamento eletrostático (aterramento durante transferência).

Manter afastado de substâncias combustíveis.

Utilizar apenas aparelhos a prova de explosão.

Vapores podem formar misturas explosivas com o Ar.

Precauções para o manuseio seguro:

Orientações para o manuseio seguro:

ARMAZENAMENTO:

Medidas técnicas apropriadas:

Condições de armazenamento

-Adequadas:

-A evitar:

Manter recipiente hermeticamente fechado e conservar em um local fresco e bem ventilado. Abrir e manusear com cuidado.

-Sinalização de risco para armazenamento:

Materiais seguros para embalagem:

8 - CONTROLE DE EXPOSIÇÃO E PROTEÇÃO INDIVIDUAL

Medidas de controle de engenharia:

Componentes com valores limite a controlar no local de trabalho
Xileno (o,m& p isômeros)
Nº CAS: 1330-20-7
Brasil-Segurança e Medicina do Trabalho
Lei Nº 6.514, de 22 de dezembro 1977 (Valor limite de exposição (TLV))
Revisão: 12 1977
STEL/Superior (C)
Valores: 150ppm
A4- Não classificável como carcinogénico humano
BEI- Valor-limite biológico

Etanol
Nº CAS: 64-17-5
Brasil-Segurança e Medicina do Trabalho
Lei Nº 6.514, de 22 de dezembro 1977 (Valor limite de exposição (TLV))
Revisão: 12 1977
Valor limite de exposição de longa duração (TWA)
Valores: 1000ppm
A4- Não classificável como carcinogénico humano

Parâmetros de controle específicos:

-Limites de exposição ocupacional:

-Indicadores biológicos:

-Outros limites e valores:

Procedimentos para monitoramento:

Equipamento de proteção individual:

-Proteção respiratória: Em caso de ventilação insuficiente, colocar aparelho de proteção respiratória. Máscara completa.

-Proteção das mãos: Luvas de PVC.

-Proteção dos olhos: Óculos de proteção.

-Proteção da pele e do corpo: Vestuário de trabalho botas de PVC avental de PVC.

Precauções especiais:

Medidas de higiene: Não fumar, comer ou beber durante o trabalho.
Lavar as mãos antes das pausas e no final do trabalho.
Devem ser observados os cuidados usuais de Produtos Químicos.

9 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Aspecto

-Estado físico:	LIQUIDO
-Forma:	Líquido
-Cor:	Amarelo
-Odor:	Característico
-ph:	10,8 (10g/l)

-Ponto de Ebulição: 79°C

-Ponto de Fusão:

-Ponto de decomposição:

-Ponto de Fulgor: 200°C

Temperatura de auto-ignição:

Limites de explosividade no ar

-Inferior(LIE):

-Superior(LSE):

Pressão de valor:

Densidade de vapor:

Densidade: 0,953 g/cm³

Solubilidade: insolúvel em água (20°C), / em etanol > 1000 g/l (25°C)

Coefficiente de partição
octanol/água:

Taxa de evaporação:

Outras informações: Ponto de Inflamação:cerca 11 °C Método:ASTM D 93 (copo fechado)
Ponto de solidificação:cerca < -5 °C Método: ASTM D 2386

10 - ESTABILIDADE E REATIVIDADE

Condições específicas

-Pode se tornar instável:

-Pode reagir perigosamente:

-Condições a evitar:

-Materiais e/ou substancias
incompatíveis:

-Necessidade de aditivos e
inibidores:

-Perigos da decomposição: Não ocorre decomposição se usado de forma prescrita.

11 - INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS

Toxicidade aguda

-Inalação:

-Ingestão: DL 50 5.000 mg/kg (Ratazana)
Método: OECD 401.

-Contato com a pele: Não irritante (Coelho).
Método: OECD, Guideline 404.

-Contato com os olhos: Irritante aos olhos: Não irritante (Coelho)
Método: OCDE, Guideline 405

Efeitos locais:

Sensibilização:

Toxicidade crônica

-Inalação:

-Ingestão:

-Contato com a pele:

-Contato com os olhos:

Efeitos sinérgicos:

Possíveis efeitos específicos:

Substâncias que podem causar efeitos aditivos:

Substâncias que podem causar efeitos de potencialização:

12 - INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS

Possíveis efeitos ambientais:

-Mobilidade: Não disponível.

-Persistência/degradabilidade: Biodegradabilidade: 23% (28d) Fracamente degradável
Método: OECD 301 D

-Bioacumulação: Não disponível.

-Comportamento esperado no meio ambiente: Toxicidade em peixes: CL 50 903,1 mg/l (96 h, Brachydanio rerio)
Método: OECD 203
Toxicidade em bactérias: CI50 220 mg/l (3h, Lodo biológico)
Método: OECD 209

Informações adicionais:

13 - INFORMAÇÕES SOBRE TRATAMENTO E DISPOSIÇÃO

Métodos de tratamento e disposição

-Do produto: Mediante observações das normas válidas e, conforme o caso, após conversa com o responsável pela disposição e/ou a autoridade responsável pode ser encaminhado para uma instalação de incineração.

-Dos resíduos:

-Das embalagens usadas: Embalagens que não possam ser limpas devem ser dispostas da mesma maneira que a substância.
Embalagens não contaminadas podem ser enviadas para reciclagem.

14 - INFORMAÇÕES SOBRE TRANSPORTE

Regulamentações nacionais

-Número ONU:	1866
-Nome Adequado p/	RESINA,SOLUÇÃO,inflamável
-Grupo de embalagem:	II
-Número de risco:	33
-Classe de risco:	3

15 - REGULAMENTAÇÕES

Especificamente aplicadas ao produto:

Informações sobre risco e segurança conforme o rótulo:

Etiquetagem Brasileira de acordo com a Norma Reguladora nº26 do Ministério do Trabalho

Frases de risco

Inflamável.

Pode formar mistura vapor-ar explosiva/inflamável durante a utilização. Evitar o contato com a pele e os olhos.

Conduzir a uma Unidade de Incineração, observando as normas das autoridades locais.

Frases de segurança

Conservar em recipiente bem fechado em lugar fresco e ventilado.

Em caso de contato com os olhos, lavar abundantemente com azeite de mesa e consultar um médico.

Após contato com a pele, lavar imediatamente e abundantemente com água e sabão. Quando spray em neblina é inalado, procurar ajuda e mostrar a embalagem do produto ou o rótulo ao médico. Em caso de ingestão solicitar aconselhamento médico imediatamente e apresentar embalagem ou etiqueta.

16 - OUTRAS INFORMAÇÕES

Outras informações:

Observar as normas legais locais e nacionais. A classificação do produto para manuseio foi baseada nas Diretrizes da Comunidade Européia 67/548 e 45/1999. As informações baseiam-se nos nossos conhecimentos atuais. Elas descrevem os nossos produtos com relação a exigências de segurança e não tem o objetivo de assegurar características específicas.

Função:

DESEMULSIFICANTE

Classificação conforme NFPA:

-Danos a saúde:

-Inflamabilidade:

-Perigo específico:

-Reatividade:



Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: **XILENO**

Página 1 de 10

Data: 11/12/2011

Nº FISPQ: **BR612**

Versão: 1

Anula e substitui versão: todas anteriores

1 - IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO E DA EMPRESA

Nome do produto	XILENO
Código interno de identificação	BR612
Nome da empresa	PETROBRAS DISTRIBUIDORA S.A.
Endereço	Rua General Canabarro 500 20271-900 - Maracanã - Rio de Janeiro (RJ).
Telefone	0800 78 9001
Telefone para emergências	08000 24 44 33

2 - IDENTIFICAÇÃO DE PERIGOS

PERIGOS MAIS IMPORTANTES	Líquidos e vapores inflamáveis. Pode ser nocivo se ingerido. Causa irritação à pele. Causa irritação ocular séria. Pode prejudicar a fertilidade ou o feto. Causa dano aos órgãos do trato respiratório, sistema nervoso central, fígado e rins. Pode causar sonolência e vertigem (efeitos narcóticos). Causa dano ao sistema nervoso central e órgãos do trato respiratório através da exposição repetida ou prolongada. Pode ser mortal em caso de ingestão e por penetração nas vias respiratórias. Muito tóxico para a vida aquática.
EFEITOS DO PRODUTO	
Efeitos adversos à saúde humana	Causa irritação dos olhos, pele e trato respiratório. Pode causar distúrbios gastrointestinais. Pode causar depressão do sistema nervoso central. A exposição aguda à elevadas doses ou exposição crônica pode causar danos pulmonares, ao fígado, aos rins e distúrbios neurológicos. Grave dano pulmonar pode ocorrer se o líquido for acidentalmente inalado para os pulmões.
Efeitos ambientais	Muito tóxico para a vida aquática.
Perigos físicos e químicos	Líquido e vapores inflamáveis.
Perigos específicos	Sofre decomposição em altas temperaturas, liberando gases tóxicos, como aldeídos e hidrocarbonetos reativos.
Principais sintomas	Vermelhidão na pele e nos olhos, lacrimejamento e tosse. Dor de cabeça, vertigem, náusea, vômito e perda de consciência em caso de exposição aguda. A exposição crônica causa irritabilidade, insônia, agitação, cansaço, tremores e dificuldade de concentração.
Classificação de perigo do produto	Líquidos inflamáveis – Categoria 3 Toxicidade Aguda – Oral – Categoria 5 Corrosivo/irritação à pele – Categoria 2 Prejuízo sério aos olhos/irritação aos olhos – Categoria 2A Tóxico à reprodução – Categoria 1B



Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: **XILENO**

Página 2 de 10

Data: 11/12/2011

Nº FISPQ: BR612

Versão: 1

Anula e substitui versão: todas anteriores

Toxicidade sistêmica ao órgão-alvo após única exposição –
Categoria 1 e 3

Toxicidade sistêmica em órgão alvo após exposição repetida –
Categoria 1

Perigo por aspiração – Categoria 1

Perigo ao ambiente aquático – Categoria 1

Sistema de classificação adotado

Norma ABNT-NBR 14725-Parte 2:2009.
Adoção do Sistema Globalmente Harmonizado para a
Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos, ONU.

Visão geral das emergências

LÍQUIDO ALTAMENTE INFLAMÁVEL, PERIGOSO PARA A SAÚDE
HUMANA E PARA O MEIO AMBIENTE.

ELEMENTOS APROPRIADOS DA ROTULAGEM

Pictogramas



Palavra de advertência

PERIGO

Frase de advertência

Líquidos e vapores altamente inflamáveis.
Nocivo se ingerido.
Causa irritação à pele.
Causa irritação ocular.
Pode prejudicar a fertilidade ou o feto.
Pode causar sonolência e vertigem (efeitos narcóticos).
Pode causar dano ao sistema nervoso central, rins e fígado através
da exposição repetida ou prolongada.
Pode ser mortal em caso de ingestão e por penetração nas vias
respiratórias.
Muito tóxico para a vida aquática.

Frase de precaução

Mantenha afastado de calor [faíscas] [e chama] [não fume].
Armazene em local fresco/baixa temperatura, em local bem ventilado
[seco] [afastado de fontes de calor e de ignição].
Nunca aspire (poeira, vapor ou névoa).
Quando em uso não [fume] [coma] [ou beba].
Não use em local sem ventilação adequada.
Evite contato com olhos e pele.
Use equipamento de proteção individual apropriado.



Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: **XILENO**

Página 3 de 10

Data: 11/12/2011

Nº FISPQ: BR612

Versão: 1

Anula e substitui versão: todas anteriores

Use equipamento de proteção individual apropriado
(Equipamento de proteção respiratória com filtro contra vapores/névoas; luvas de proteção de PVC, borracha nitrílica ou natural e óculos de proteção contra respingos).

Se ingerido, lave a boca com água [somente se a vítima estiver consciente].

Em caso de indisposição, consulte um médico.

Use meios de contenção para evitar contaminação ambiental.

Não permita o contato do produto com corpos d'água.

3 - COMPOSIÇÃO E INFORMAÇÃO SOBRE OS INGREDIENTES

>>>SUBSTÂNCIA

Nome químico ou comum Xileno.

Sinônimo Dimetilbenzeno, xilenos mistos, xilol.

Número de Registro CAS 1330-20-7

Impurezas que contribuam para o perigo

Ingredientes	Concentração (%)	CAS
Etilbenzeno	9	100-41-4

4 - MEDIDAS DE PRIMEIROS SOCORROS

Inalação Remova a vítima para local arejado e mantenha-a em repouso. Monitore a função respiratória. Se a vítima estiver respirando com dificuldade, forneça oxigênio. Se necessário aplique respiração artificial. Procure atenção médica. Leve esta FISPQ.

Contato com a pele Remova as roupas e sapatos contaminados. Lave a pele exposta com grande quantidade de água, por pelo menos 15 minutos. Procure atenção médica. Leve esta FISPQ.

Contato com os olhos Lave com água corrente por pelo menos 15 minutos, mantendo as pálpebras abertas. Retire lentes de contato quando for o caso. Procure atenção médica imediatamente. Leve esta FISPQ.

Ingestão Lave a boca da vítima com água em abundância. NÃO INDUZA O VÔMITO. Procure atenção médica. Leve esta FISPQ.

Proteção do prestador de socorros e/ou notas para o médico Evite contato com o produto ao socorrer a vítima. Mantenha a vítima em repouso e aquecida. Não forneça nada pela boca a uma pessoa inconsciente. O tratamento sintomático deve compreender, sobretudo, medidas de suporte como correção de distúrbios hidroeletrólíticos, metabólicos, além de assistência respiratória.

5 - MEDIDAS DE COMBATE A INCÊNDIO

Meios de extinção apropriados Espuma para hidrocarbonetos, neblina d'água, pó químico e dióxido de carbono (CO₂).



Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: **XILENO**

Página 4 de 10

Data: 11/12/2011

Nº FISPQ: **BR612**

Versão: 1

Anula e substitui versão: todas anteriores

Meio de extinção não recomendados	Jatos d'água. Água diretamente sobre o líquido em chamas.
Perigos específicos	Vapores podem deslocar-se por grandes distâncias provocando retrocesso da chama. Os recipientes fechados podem romper-se violentamente quando exposto ao calor ou aquecimento excessivo. Risco de explosão dos vapores em espaços confinados, drenagem e esgoto
Métodos especiais de combate	Contêineres e tanques envolvidos no incêndio devem ser resfriados com jatos d'água.
Proteção de bombeiro/brigadista	Equipamento de proteção respiratória do tipo autônomo (SCBA) com pressão positiva e vestuário protetor completo.
Perigos específicos da combustão do produto	N.D.

6 - MEDIDAS DE CONTROLE PARA DERRAMAMENTO OU VAZAMENTO

Precauções pessoais

Remoção de fontes de ignição	Produto altamente inflamável. Remova todas as fontes de ignição. Impeça fagulhas ou chamas. Não fume. Isole o vazamento de fontes de ignição.
Prevenção da inalação e do contato com a pele, mucosas e olhos	Não toque nos recipientes danificados ou no material derramado sem o uso de vestimentas adequadas. Evite inalação, contato com os olhos e com a pele. Utilize equipamento de proteção individual conforme descrito na seção 8.
Precauções ao meio ambiente	Evite que o produto derramado atinja cursos d'água e rede de esgotos.
Métodos para limpeza	
Procedimentos a serem adotados	Colete o produto derramado e coloque em recipientes próprios. Adsorva o produto remanescente, com areia seca, terra, vermiculite, ou qualquer outro material inerte. Coloque o material adsorvido em recipientes apropriados e remova-os para local seguro.
Prevenção de perigos secundários	Não descarte diretamente no meio ambiente ou na rede de esgoto. A água de diluição proveniente do combate ao fogo pode causar poluição.

7 - MANUSEIO E ARMAZENAMENTO

Medidas técnicas apropriadas - MANUSEIO

Prevenção da exposição do trabalhador	Evite inalação e o contato com a pele, olhos e roupas. Evite respirar vapores/névoas do produto. Utilize equipamento de proteção individual ao manusear o produto, descritos na seção 8.
Precauções e orientações para manuseio seguro	Manuseie o produto somente em locais bem arejados ou com sistemas de ventilação geral/local adequado. Evite formação de vapores ou névoas.
Medidas de higiene	Não coma, beba ou fume durante o manuseio do produto. Lave bem as mãos antes de comer, beber, fumar ou ir ao banheiro. Roupas



Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: **XILENO**

Página 5 de 10

Data: 11/12/2011

Nº FISPQ: **BR612**

Versão: 1

Anula e substitui versão: todas anteriores

contaminadas devem ser trocadas e lavadas antes de sua reutilização.

Medidas técnicas apropriadas – ARMAZENAMENTO

Apropriadas

Mantenha o produto em local fresco, seco e bem ventilado, distante de fontes de calor e ignição. O local de armazenamento deve conter bacia de contenção para reter o produto, em caso de vazamento. Mantenha os recipientes bem fechado e devidamente identificados. O local de armazenamento deve ter piso impermeável, isento de materiais combustíveis e com dique de contenção para reter em caso de vazamento.

Inapropriadas

Temperaturas elevadas. Fontes de ignição. Contato com materiais incompatíveis

Materiais seguros para embalagens

Recomendados

Não especificado.

8 - CONTROLE DE EXPOSIÇÃO E PROTEÇÃO INDIVIDUAL

Parâmetros de controle específicos

Limite de exposição ocupacional

Componente	TLV – TWA (ACGIH)	TLV – STEL (ACGIH)	REL – TWA (NIOSH)	PEL – TWA (OSHA)	LT (NR-15)
Xileno	100 ppm	150 ppm	100 ppm	100 ppm	78 ppm

- Indicadores biológicos: BEI (ácidos metilhipúricos na urina): 1,5 g/g creatinina
IBMP (ácidos metilhipúricos na urina): 1,5 g/g creatinina

Medida de controle de engenharia

Promova ventilação combinada com exaustão local, especialmente quando ocorrer formação de vapores/névoas do produto. É recomendado tornar disponíveis chuveiros de emergência e lava olhos na área de trabalho.

Equipamento de proteção individual apropriado

Proteção dos olhos/face

Óculos de proteção com proteção lateral.

Proteção das mãos

Luvas de proteção de PVC.

Proteção da pele e corpo

Vestimenta impermeável.

Proteção respiratória

Recomenda-se a utilização de respirador com filtro para vapores orgânicos para exposições médias acima da metade do TLV-TWA. Nos casos em que a exposição exceda 3 vezes o valor TLV-TWA, utilize respirador do tipo autônomo (SCBA) com suprimento de ar, de peça facial inteira, operado em modo de pressão positiva. Siga orientação do Programa de Prevenção



Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: **XILENO**

Página 6 de 10

Data: 11/12/2011

Nº FISPQ: BR612

Versão: 1

Anula e substitui versão: todas anteriores

Precauções especiais

Respiratória (PPR), 3ª ed. São Paulo: Fundacentro, 2002.

Evite usar lentes de contato enquanto manuseia este produto.

9 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Aspecto	Líquido límpido e incolor.
Odor	Característico de hidrocarboneto aromático.
Ph	Não aplicável.
Ponto de fusão/ponto de congelamento	Não disponível.
Ponto de ebulição inicial e faixa de temperatura de ebulição	143 °C a 101,325 kPa (760 mmHg)
Ponto de fulgor	31°C (Método: Vaso Fechado)
Taxa de evaporação	0,79 (Acetato de n-Butila = 1).
Inflamabilidade	Produto altamente inflamável.
Limite inferior/superior de inflamabilidade ou explosividade	- Superior (LSE): 7,0% - Inferior (LIE): 1,0%
Pressão de vapor	< 10 mmHg
Densidade de vapor	3,7
Densidade	0,8662.
Solubilidade	Insolúvel em água. Solúvel em solventes orgânicos.
Coefficiente de partição – n-octanol/água	Log kow: 3,09 (valor estimado)
Temperatura de auto-ignição	567°C
Temperatura de decomposição	Não disponível.
Viscosidade	0,724 cSt a 25°C.
Outras informações:	Limite de odor: 20 ppm



Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: **XILENO**

Página 7 de 10

Data: 11/12/2011

Nº FISPQ: BR612

Versão: 1

Anula e substitui versão: todas anteriores

10 - ESTABILIDADE E REATIVIDADE

Estabilidade química	Estável sob condições usuais de manuseio e armazenamento. Não sofre polimerização.
Possibilidade de reações perigosas	Reage com ácido e oxidante fortes com risco de explosão. Reação com ácido nítrico é explosiva.
Materiais/substâncias incompatíveis	Agentes oxidantes fortes e ácidos fortes como ácido acético, ácido nítrico, cloro, bromo e iodo.
Produtos perigosos da decomposição	Em combustão libera gases tóxicos e irritantes como dióxido e monóxido de carbono, hidrocarbonetos reativos e aldeídos.

11 - INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS

Toxicidade aguda	Causa irritação da pele e mucosa dos olhos e trato respiratório no contato direto com o líquido ou exposição aos vapores. Os sintomas incluem vermelhidão na pele e nos olhos, lacrimejamento, tosse e dores de garganta. Pode causar depressão do sistema nervoso central com dor de cabeça, vertigem, náuseas, vômito e perda de consciência. Exposição a elevadas doses pode causar danos hepáticos e renais com aumento dos níveis de uréia no sangue e diminuição do clearance de creatinina; congestão pulmonar e danos neurológicos. Pode ocorrer severo dano pulmonar se o líquido for aspirado ou ingerido acidentalmente para os pulmões. DL50 (oral, rato): 4300 mg/kg
Toxicidade crônica	Pode causar efeitos sobre o sistema nervoso central com tremores, irritabilidade, cefaléia, insônia, agitação, perda de concentração e confusão. Pode causar dermatite após contato prolongado ou repetido com a pele. O produto pode causar insuficiência respiratória e aumento do fígado.
Efeitos específicos	Carcinogenicidade: Não classificado como carcinogênico humano (Grupo 3 – IARC). Tóxico à reprodução: Baseados em estudos animais pode causar dano ao feto em desenvolvimento.
Efeitos sinérgicos	Exposição a solventes como xilenos, benzeno, tolueno e etanol reduz a velocidade de clearance dos xilenos no organismo humano, aumentando os efeitos tóxicos dos xilenos.

12 - INFORMAÇÕES ECOLÓGICAS

Efeitos ambientais, comportamentos e impactos do produto	
Ecotoxicidade	Muito tóxico para a vida aquática. CL50 (Gammarus lacustris, 48h): 0,6 mg/L
Persistência e degradabilidade	É esperada rápida degradação e baixa persistência.
Potencial bioacumulativo	Apresenta baixo potencial de bioacumulativo em organismos aquáticos. Log kow: 3,09 (valor estimado)



Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: **XILENO**

Página 8 de 10

Data: 11/12/2011

Nº FISPQ: **BR612**

Versão: 1

Anula e substitui versão: todas anteriores

Mobilidade no solo Alta

13 - CONSIDERAÇÕES SOBRE TRATAMENTO E DISPOSIÇÃO

Métodos recomendados para tratamento e disposição aplicados ao

Produto

Devem ser eliminados como resíduos perigosos de acordo com a legislação local. O tratamento e a disposição devem ser avaliados especificamente para cada produto. Devem ser consultadas legislações federais, estaduais e municipais, dentre estas: Resolução CONAMA 005/1993, ABNT-NBR 10.004/2004 e ABNT-NBR 16725.

Restos de produtos

Manter restos do produto em suas embalagens originais, fechadas e dentro de tambores metálicos, devidamente fechados, de acordo com a legislação aplicável. O descarte deve ser realizado conforme o estabelecido para o produto, recomendando-se as rotas de processamento em cimenteiras e a incineração.

Embalagem usada

Nunca reutilize embalagens vazias, pois elas podem conter restos do produto e devem ser mantidas fechadas e encaminhadas para serem destruídas em local apropriado. Neste caso, recomenda-se envio para rotas de recuperação dos tambores ou incineração.

14 - INFORMAÇÕES SOBRE TRANSPORTE

Regulamentações nacionais e internacionais

Terrestre

Decreto nº. 96.044, de 18 de maio de 1988: Aprova o Regulamento para o Transporte Rodoviário de Produtos Perigosos e dá outras providências.

Agência Nacional de Transportes Terrestres (ANTT):
Resoluções Nº. 420/04, 701/04, 1644/06, 2657/08, 2975/08 e 3383/10.

Hidroviário

DPC - Diretoria de Portos e Costas (Transporte em águas brasileiras)

Normas de Autoridade Marítima (NORMAM)

NORMAM 01/DPC: Embarcações Empregadas na Navegação em Mar Aberto

NORMAM 02/DPC: Embarcações Empregadas na Navegação Interior

IMO – “International Maritime Organization” (Organização Marítima Internacional)

International Maritime Dangerous Goods Code (IMDG Code) – Incorporating Amendment 34-08; 2008 Edition.

Aéreo

DAC – Departamento de Aviação Civil: IAC 153-1001.

Instrução de Aviação Civil – Normas para o transporte de



Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: **XILENO**

Página 9 de 10

Data: 11/12/2011

Nº FISPQ: **BR612**

Versão: 1

Anula e substitui versão: todas anteriores

	artigos perigosos em aeronaves civis. IATA – “International Air Transport Association” (Associação Nacional de Transporte Aéreo) Dangerous Goods Regulation (DGR) – 51st Edition, 2010.
Número ONU	1307
Nome apropriado para embarque	XILENOS
Classe e subclasse de risco principal e subsidiário	Classe/sub-classe do risco: 3
Número de risco	30
Grupo de embalagem	III

15 - REGULAMENTAÇÕES

Regulamentações

Decreto Federal nº 2.657, de 3 de julho de 1998

Norma ABNT-NBR 14725-4:2009

Lei nº 12.305, de 02 de agosto de 2010 (Política Nacional de Resíduos Sólidos).

Decreto nº 7.404, de 23 de dezembro de 2010.

Produto sujeito a controle e fiscalização do Ministério da Justiça – Departamento de Polícia Federal – MJ/DPF, quando se tratar de importação, exportação e reexportação, sendo indispensável Autorização Prévia de DPF para realização destas operações.

16 - OUTRAS INFORMAÇÕES

Informações importantes

As informações e recomendações constantes desta publicação foram pesquisadas e compiladas de fontes idôneas e capacitadas para emití-las, sendo os limites de sua aplicação os mesmos das respectivas fontes. Os dados dessa ficha de informações referem-se a um produto específico e podem não ser válidos quando este produto estiver sendo usado em combinação com outros. A Petrobrás Distribuidora esclarece que os dados por ela coletados são transferidos sem alterar seu conteúdo ou significado.

Siglas

ACGIH - American Conference of Governmental Industrial Hygienists

BCF – Bioconcentration Factor

BEI – Biological Exposure Index

CAS - Chemical Abstracts Service



Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico - FISPQ

PRODUTO: **XILENO**

Página 10 de 10

Data: 11/12/2011

Nº FISPQ: **BR612**

Versão: 1

Anula e substitui versão: todas anteriores

CL50 - Concentração letal 50%

DL50 - Dose letal 50%

IBMP – Índice Biológico Máximo Permitido

LEI - Limite de explosividade inferior

LES - Limite de explosividade superior

LT – Limite de Tolerância

NIOSH – National Institute for Occupational Safety and Health

NR – Norma Regulamentadora

OSHA – Occupational Safety & Health Administration

PEL – Permissible Exposure Limit

Bibliografia

Seção 14: Regulamento do Transporte Terrestre de Produtos Perigosos do Ministério de Transporte (Resolução 420 de 12 de fevereiro de 2004).