

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO
DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS**

FRACIONAMENTO DE SURFACTINA EM COLUNA DE BOLHAS E ESPUMA

Autor: Rafael Firmani Perna

Orientador: Prof. Dr. Cesar Costapinto Santana

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Campinas - São Paulo

Fevereiro de 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE -
UNICAMP

P422f Perna, Rafael Firmani
Fracionamento de surfactina em coluna de bolhas e
espuma / Rafael Firmani Perna. --Campinas, SP: [s.n.],
2010.

Orientador: Cesar Costapinto Santana.
Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Bacillus subtilis. 2. Biosurfactantes. 3. Espuma.
4. Separação (Tecnologia). I. Santana, Cesar Costapinto.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia Química. III. Título.

Título em Inglês: Fractionation of surfactin on a bubble and foam column

Palavras-chave em Inglês: Bacillus subtilis, Biosurfactants, Foam,
Separation (Technology)

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos

Titulação: Mestre em Engenharia Química

Banca examinadora: Ricardo de Andrade Medronho, Paulo de Tarso Vieira
e Rosa

Data da defesa: 24/02/2010

Programa de Pós Graduação: Engenharia Química

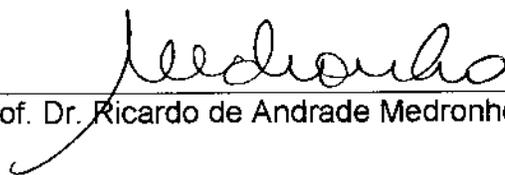
Dissertação de Mestrado defendida por Rafael Firmani Perna e aprovada em 24 de fevereiro de 2010 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Prof. Dr. Cesar Costapinto Santana - Orientador



Prof. Dr. Paulo de Tarso Vieira e Rosa (titular)



Prof. Dr. Ricardo de Andrade Medronho (titular)

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em
Engenharia Química.

A handwritten signature in black ink, reading "César Freitas". The signature is written in a cursive style with a horizontal line underneath it.

Orientador

Aos meus queridos pais, Celso e Márcia, com todo o respeito e admiração.

A minha querida avó Zinha, pelo carinho e pelas orações.

E a todos aqueles que fazem da pesquisa científica uma ferramenta benéfica à humanidade.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é um momento que nos traz muita satisfação. O difícil é se lembrar de todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, com o desenvolvimento desta incansável e prazerosa jornada.

Primeiramente agradeço a Deus, razão de nossa existência, por me proporcionar a todo o momento saúde, serenidade e paz. Obrigado, Senhor, por derramar-me as suas bênçãos que me permitiram alcançar mais um objetivo em minha vida.

Não posso deixar de registrar aqui os meus sinceros agradecimentos ao professor Cesar C. Santana pela paciência, pelos conselhos e pela efetiva orientação ao longo do trabalho, desde a concepção do projeto até a redação final desta dissertação. Certamente foi uma pessoa de destaque em mais uma etapa da minha formação profissional.

Aos professores da Faculdade de Engenharia Química (FEQ) da UNICAMP, responsáveis pelo meu crescimento intelectual e, em especial, aos professores doutores Paulo de Tarso Vieira e Rosa e Everson Alves Miranda, pelas sugestões valiosas apontadas ao avaliarem meu exame de qualificação.

Aos professores do Instituto de Química da UNICAMP, Dr. Roy E. Bruns, pela paciente ajuda no desenvolvimento do planejamento experimental e Dr. Watson Loh, que permitiu a utilização do tensiômetro e das instalações do laboratório de Físico-química / Polímeros e surfactantes para a realização de uma parte do trabalho. Meu muito obrigado a técnica Marina pelo grande auxílio prestado durante as medidas de tensão superficial.

Ao doutorando Francisco Fábio C. Barros e à professora Dra. Gláucia M. Pastore do Laboratório de Bioaromas da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, por fornecerem gentilmente as soluções de surfactina, indispensáveis para a execução deste trabalho.

Ao professor Milton Mori do Laboratório de Processos Químicos e Gestão Empresarial da FEQ, que permitiu utilizar seus sofisticados equipamentos para determinação do diâmetro de bolhas. Agradeço, particularmente, aos alunos Douglas

Conceição e João Lameu da Silva Jr., pela ajuda e pelas idéias engenhosas que possibilitaram construir uma coluna de acrílico e obter imagens de alta definição das bolhas de gás presentes nesta coluna.

Aos amigos do laboratório, Absolon, Anayla, Francine, João Paulo e, carinhosamente a Luisa pelos conselhos e discussões conceituais do projeto. Obrigado, caros amigos, pelas conversas, confiança e companheirismo. Sem dúvidas, tive o privilégio de fazer parte de uma grande equipe de pesquisa, constituída por integrantes apaixonados pela ciência.

A querida secretária Rosa, por sempre se mostrar solícita e a todos os funcionários da FEQ que, de um modo ao de outro, são parte deste trabalho.

Aos meus pais, aos meus irmãos, Layra Maria e Fabrício e aos meus familiares que sempre me encorajaram e me apoiaram em todos os momentos.

A CAPES pelos recursos financeiros recebidos para o desenvolvimento deste trabalho.

*“A ciência não é, e nunca será, um livro terminado.
Todo progresso importante levanta novas questões.
Dificuldades novas e mais profundas são reveladas
posteriormente a cada desenvolvimento.”*

Albert Einstein, 1938

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo principal o estudo da separação e concentração do biossurfactante surfactina, sintetizado por fermentação através da bactéria *Bacillus subtilis*, utilizando-se o processo de fracionamento em coluna de bolhas e espuma, operada de modo semi-batelada, a fim de se otimizar o enriquecimento e a recuperação do bioproduto. O processo envolve a injeção de gás nitrogênio nas vazões de 20, 40 e 60 mL/min pela base da coluna de líquido que contém a solução de surfactina pH 7,0 nas concentrações iniciais de 240, 400 e 700 mg/L. O gás ascende na forma de bolhas e, durante o seu trajeto, moléculas de surfactina são adsorvidas na interface gás-líquido, devido às suas características anfifílicas. No topo da coluna de bolhas, forma-se uma coluna de espuma concentrada no biossurfactante adsorvido que, então, pode ser recuperado pela remoção e rompimento mecânico da espuma. Valores de enriquecimento e recuperação de surfactina foram determinados para diferentes condições experimentais. Os valores médios de enriquecimento ficaram entre 1,9 a 52,5 vezes, enquanto que a recuperação total de surfactina variou de 80,5 a 98,3 %. O maior valor de enriquecimento foi alcançado para soluções diluídas de surfactina operando a coluna a baixa vazão de gás e com temperatura relativamente elevada. Os resultados indicaram que o processo que utiliza coluna de bolhas e espuma se mostra promissor na etapa de concentração do biossurfactante.

Foram obtidas as isotermas de Gibbs para a surfactina nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C e ajustadas de acordo com o modelo de isoterma de adsorção de Langmuir. A aplicação da análise de variância mostrou que o modelo se ajustou satisfatoriamente aos resultados experimentais e a equação que o descreve apresentou significância estatística. Portanto, as moléculas do biossurfactante foram adsorvidas em monocamadas na interface gás-líquido. Desenvolveu-se, também, um modelo matemático para os fenômenos de convecção, difusão e equilíbrio, que foi aplicado para simular as curvas de depleção para a surfactina. O modelo representou satisfatoriamente os resultados experimentais quando comparados aos resultados simulados.

Palavras-chave: surfactina, *Bacillus subtilis*, coluna de bolhas e espuma, recuperação, enriquecimento.

ABSTRACT

Foam fractionation of biosurfactant surfactin solutions obtained from fermentation with *Bacillus subtilis* bacteria was experimentally studied. A bubble and foam column system was mounted and operated in a semi-batch mode aiming at to optimize the concentration enrichment and the recovery of the bioproduct.

The process involves the injection of gaseous nitrogen through a sparger in the basis of the column containing the surfactin liquid solutions. Gas flow rates of 20, 40 and 60 mL/min and initial concentrations of 240, 400 and 700 mg/L were used in the experimental runs. Temperatures of 15, 25 and 35 °C were used in the experiments.

With the bubbles ascending in the column, a convection phenomena is produced from the liquid to the gas and due the amphiphilic property of the surfactant, solute molecules are adsorbed at the gas-liquid interface of the bubbles. A foam column on the top of the liquid column is also formed and after drainage phenomena and a break procedure of the foam, a surfactant concentrated solution is obtained. Surfactin enrichment and recovery from the initial solution were determined for several experimental conditions. Average values for the enrichment are in the range of 1,9 to 52,5 times and recovery are in the range from 80,5 to 98,3 %. The higher values of enrichment are got with diluted solutions runs operated at low gas flow rates and higher temperatures. The results indicates this process as very promising in the concentration of surfactin solutions.

Using Gibbs adsorption theory for the gas-liquid interface, gas-liquid isotherms were obtained in the temperatures of 15, 25 and 35 °C and adjusted by the Langmuir model. A variance analysis from experimental planning was performed and showed a good agreement with experimental results. A mathematical modeling for the convection, adsorption and equilibrium represented satisfactorily the depletion curves in the bubble column.

Key-words: surfactin, *Bacillus subtilis*, bubble and foam column, recovery, enrichment.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Isômero mais comum da surfactina. Os aminoácidos (a), (d) e (e) correspondem ao ácido glutâmico, valina e ácido aspártico, respectivamente; (b), (c), (f) e (g) correspondem ao aminoácido leucina; (h) corresponde ao ácido graxo 3-hidróxi-13-metil-tetradecanóico. (BARROS et al., 2007)..... 13
- Figura 2** - Esquema da variação das concentrações de solvente e soluto na região interfacial entre duas fases α e β . Adaptado de Adamson (1990) 18
- Figura 3** - (a) Comportamento típico da tensão superficial com a concentração para soluções de moléculas com atividade superficial. (b) Comportamento de Γ com C (isoterma de adsorção). Adaptado de Lucena (1995). 21
- Figura 4** - Estrutura de uma espuma constituída por uma fase gasosa e uma fase líquida (filmes e canais de Plateau) (FIGUEREDO et al., 1999)..... 24
- Figura 5** - Esquema da drenagem do filme para os canais de Plateau (ROSA, 1996)..... 25
- Figura 6** - Esquema da classificação dos métodos de separação envolvendo o fenômeno de adsorção em bolhas (Adaptado de THOMAS; WINKLER, 1977)..... 28
- Figura 7** - Esquema dos modos de operação da coluna de fracionamento com espuma (Adaptado de Rosa, 1996). 32
- Figura 8** - Aparato experimental utilizado nos estudos de fracionamento de surfactina com espuma (Adaptado de DAVIS et al., 2001). 35
- Figura 9** - Aparato experimental (sistema integrado) utilizado durante os estudos de produção e recuperação simultânea de surfactina (Adaptado de DAVIS et al., 2001)..... 35

Figura 10 - Diagrama esquemático do aparato experimental utilizado no processo integrado de produção e recuperação de surfactina por fracionamento com espuma (Adaptado de CHEN et al., 2006).....	37
Figura 11 - Esquema experimental utilizado para a dissolução de surfactina padrão e obtenção da curva analítica.	43
Figura 12 - Esquema do aparato experimental utilizado no fracionamento de surfactina em coluna de bolhas e espuma operada de modo semi-batelada.....	47
Figura 13 - Esquema experimental utilizado para obtenção das isotermas de adsorção de Gibbs.....	51
Figura 14 - Esquema do aparato experimental utilizado para a determinação da distribuição do diâmetro de bolhas	53
Figura 15 - Desenho esquemático da coluna de bolhas e espuma e da adsorção de material tensoativo na superfície das bolhas de gás.....	57
Figura 16 - Imagem ilustrativa das condições iniciais adotadas a serem simuladas pelo software.	66
Figura 17 - Imagem ilustrativa para os dados de entrada do software. Os valores, apresentados na figura, referem-se à temperatura de 25 °C.....	67
Figura 18 - Imagem ilustrativa do software para entrada dos valores dos parâmetros da isoterma de Langmuir, para a temperatura de 25 °C, e a faixa de concentração do tensoativo presente na camada ao redor das bolhas.....	68
Figura 19 - Imagem ilustrativa do software para dados de entrada do experimento referentes a concentração inicial de tensoativo de 400 mg/L e vazão volumétrica de gás de 400 mL/min.....	69

Figura 20 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 15$ °C).	71
Figura 21 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 35$ °C).	71
Figura 22 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 15$ °C).	72
Figura 23 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 35$ °C)	72
Figura 24 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).	73
Figura 25 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 35$ °C).	73
Figura 26 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).	74
Figura 27 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 35$ °C).	74
Figura 28 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 400$ mg/L; $Q = 40$ mL/min; $T = 25$ °C).	75
Figura 29 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 15$ °C)	77
Figura 30 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 35$ °C).	77

Figura 31 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 15$ °C).	78
Figura 32 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 35$ °C).	78
Figura 33 - Concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 15$ °C)	79
Figura 34. - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 35$ °C)	79
Figura 35 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).	80
Figura 36 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 35$ °C).	80
Figura 37 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 400$ mg/L; $Q = 40$ mL/min; $T = 25$ °C).	81
Figura 38 - Diagrama para interpretação dos resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para as temperaturas de 15 e 35 °C. Os valores nos vértices do retângulo são as respostas de enriquecimento.....	89
Figura 39 - Diagrama para interpretação dos resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para as concentrações de 240 e 700 mg/L. Os valores nos vértices do retângulo são as respostas de enriquecimento.	90
Figura 40 - Diagrama para interpretação dos resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para as temperaturas de 15 e 35 °C. Os valores nos vértices do retângulo são as respostas de recuperação.....	91

Figura 41 - Diagrama para interpretação dos resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para as concentrações de 240 e 700 mg/L. Os valores nos vértices do retângulo são as respostas de recuperação.	92
Figura 42 - Diagrama para interpretação dos resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para as vazões de 20 e 60 mL/min. Os valores nos vértices do retângulo são as respostas de recuperação.	93
Figura 43 - Tensão superficial da surfactina em função da sua concentração (em escala logarítmica) no seio da solução, medida a 15 °C	96
Figura 44 - Tensão superficial da surfactina, em função da sua concentração (em escala logarítmica) no seio da solução, medida a 25 °C.....	96
Figura 45 - Tensão superficial da surfactina em função da sua concentração (em escala logarítmica) no seio da solução, medida a 35 °C.....	97
Figura 46 - Isotermas de adsorção de Gibbs para a surfactina, obtidas nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C e as respectivas curvas ajustadas pelo modelo de adsorção de Langmuir.	97
Figura 47 - Distribuição do diâmetro das bolhas presentes na coluna de líquido no início do experimento ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 20$ mL/min)	103
Figura 48 - Distribuição do diâmetro das bolhas presentes na coluna de líquido no início do experimento ($C_0 = 400$ mg/L; $Q = 40$ mL/min).	103
Figura 49 - Distribuição do diâmetro das bolhas presentes na coluna de líquido no início do experimento ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 60$ mL/min).	104
Figura 50 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 240$ mg/L; $V = 20$ mL/min; $T = 15$ °C).....	106

Figura 51 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 240$ mg/L; $V = 20$ mL/min; $T = 35$ °C).....	106
Figura 52 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 700$ mg/L; $V = 20$ mL/min; $T = 15$ °C).....	107
Figura 53 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 700$ mg/L; $V = 20$ mL/min; $T = 35$ °C).....	107
Figura 54 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 240$ mg/L; $V = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).....	108
Figura 55 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 240$ mg/L; $V = 60$ mL/min; $T = 35$ °C).....	108
Figura 56 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 700$ mg/L; $V = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).....	109
Figura 57 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 700$ mg/L; $V = 60$ mL/min; $T = 35$ °C).....	109
Figura 58 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 400$ mg/L; $V = 40$ mL/min; $T = 25$ °C).....	110

Figura 59 - Comparação entre os resultados experimentais e simulados a diferentes diâmetros médios de bolhas para a variação da concentração de surfactina com o tempo na coluna de líquido ($C_0 = 240 \text{ mg/L}$; $Q = 20 \text{ mL/min}$; $T = 35 \text{ }^\circ\text{C}$).113

Figura 60 - Comparação entre os resultados experimentais e simulados a diferentes diâmetros médios de bolhas para a variação da concentração de surfactina com o tempo na coluna de líquido ($C_0 = 240 \text{ mg/L}$; $Q = 60 \text{ mL/min}$; $T = 15 \text{ }^\circ\text{C}$).113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de HLB (tensoativos não-iônicos) salientando aplicações tecnológicas.	6
Tabela 2 - Exemplos de surfactantes com suas respectivas classes e fórmulas químicas.....	6
Tabela 3 - Principais grupos de biossurfactantes com suas respectivas subdivisões.....	9
Tabela 4 - Principais aplicações comerciais dos biossurfactantes.....	10
Tabela 5 - Variáveis avaliadas com seus respectivos níveis utilizados no planejamento fatorial completo 2^3	44
Tabela 6 - Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 com replicata no ponto central... ..	45
Tabela 7 - Valores de enriquecimento e recuperação obtidos para o fracionamento de soluções de surfactina em diferentes condições experimentais.....	82
Tabela 8 - Resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para estudo dos efeitos da vazão, concentração e temperatura sobre o enriquecimento e a recuperação de surfactina.	84
Tabela 9 - Valores dos efeitos calculados sobre a resposta enriquecimento para os fatores principais e suas respectivas interações.....	85
Tabela 10 - Valores dos efeitos calculados sobre a resposta recuperação para os fatores principais e suas respectivas interações.	86

Tabela 11 - Avaliação da significância estatística dos efeitos dos fatores principais com suas respectivas interações sobre a resposta enriquecimento.....	87
Tabela 12 - Avaliação da significância estatística dos efeitos dos fatores principais com suas respectivas interações sobre a resposta recuperação.	88
Tabela 13 - Valores dos parâmetros estimados a partir da equação que descreve o modelo de adsorção de Langmuir.	95
Tabela 14 - Valores dos parâmetros \hat{a} e K calculados a partir dos parâmetros $\Gamma_{m\acute{a}x}$ e K_d , estimados pelo modelo de adsorção de Langmuir.	98
Tabela 15 - Análise de variância para o ajuste, pelo método dos mínimos quadrados, do modelo de Langmuir para dois parâmetros, avaliado na temperatura de 15 °C.....	100
Tabela 16 - Análise de variância para o ajuste, pelo método dos mínimos quadrados, do modelo de Langmuir para dois parâmetros, avaliado na temperatura de 25 °C.....	100
Tabela 17 - Análise de variância para o ajuste, pelo método dos mínimos quadrados, do modelo de Langmuir para dois parâmetros, avaliado na temperatura de 35 °C.....	101
Tabela 18 - Valores de d_b obtidos a partir da distribuição do diâmetro de bolhas em coluna de líquido em diferentes condições experimentais.	105

NOMENCLATURA

LETRAS LATINAS

a – atividade do soluto

\hat{a} – relação área ocupada / massa de tensoativo na superfície das bolhas

A_b – área de uma bolha de gás

A_c – área da seção transversal da coluna de líquido

C_{espuma}^* – concentração média de surfactina presente na espuma

C_0 – concentração inicial de surfactina presente na solução

C_b – concentração do soluto (ou tensoativo) no seio do líquido

C_D – concentração de tensoativo presente no líquido drenado

C_F – concentração de tensoativo presente na corrente de drenagem

C_s – concentração de tensoativo na camada ao redor das bolhas

D – vazão volumétrica de líquido drenado para a coluna de líquido

d_b – diâmetro de bolhas

d_{b0} – diâmetro inicial da bolha de gás

D_i – coeficiente de difusão do tensoativo

dU – variação de energia

E – enriquecimento de surfactina

F – vazão volumétrica de líquido arrastado da coluna de líquido

F_i – vazão volumétrica de líquido na região intersticial da espuma

F_s – vazão volumétrica de líquido na região superficial

g – aceleração gravitacional

H – altura da coluna de líquido

K_d – constante de dissociação ou equilíbrio

k_{La} – coeficiente volumétrico de transferência de massa

m_{CL} - massa de tensoativo presente na coluna de líquido
 m_D – vazão mássica de tensoativo drenado
 m_{espuma} – massa de surfactina na espuma
 m_F – vazão mássica de tensoativo arrastado
 M_i – massa molar do tensoativo
 m_i – vazão mássica de tensoativo presente na região intersticial da espuma
 m_s – vazão mássica de tensoativo presente na região superficial
 $m_{solução}$ – massa de surfactina na solução
 n – número de mols
 n_i – fração de bolhas
 P – pressão
 Q – vazão volumétrica de gás
 R – recuperação de surfactina
 S – entropia
 T – temperatura
 v – velocidade de ascensão das bolhas
 V – volume da coluna de líquido
 V_b – volume de uma bolha de gás
 V_g – velocidade superficial do gás
 w – trabalho realizado
 X_0 – valor do nível médio ou do ponto central da variável
 x_i – valor adimensional (ou codificado) do nível da variável
 X_i – valor do nível da variável a ser codificada
 ΔX_i – amplitude da variável (diferença entre os valores de seus níveis superior e inferior)

LETRAS GREGAS

μ_i – potencial químico

ψ – camada superficial (superfície divisória)
 γ – tensão superficial
 Γ – concentração em excesso ou superficial de tensoativo
 μ^0 – potencial químico de referência
 $\Gamma_{máx}$ – concentração máxima de tensoativo adsorvido na interface gás-líquido
 λ – comprimento de onda
 η – número de bolhas produzidas por unidade de tempo
 $\Gamma_{saída}$ – concentração superficial de tensoativo na saída da coluna de líquido
 ε_g – fração de gás
 Γ_m – concentração superficial média de tensoativo na coluna de líquido
 τ – tempo de ascensão das bolhas
 μ_l – viscosidade do líquido
 ρ_l – densidade do líquido
 ρ_g – densidade do gás
 ρ_D – densidade da corrente de drenagem
 ρ_F – densidade da corrente de arraste
 γ_0 – tensão superficial inicial da solução

SIGLAS

ANOVA – análise da variância
CCD – sensores Change-Coupled Device
CMC – concentração micelar crítica
CTAB – brometo de hexadeciltrimetilamônio
DBS – dodecilbenzenosulfonato de sódio
DAF – Dissolved Air Flotation

HLB – balanço hidrofílico-lipofílico
MEOR – recuperação melhorada do petróleo
MQ – média quadrática
PIV – velocimetria por imagem de partícula
PTV – velocimetria por acompanhamento de partícula
SDS – dodecilsulfato de sódio
SIT – Shadow Imaging Technique
 SQ_{ep} – soma quadrática devido ao erro puro
 SQ_{faj} – soma quadrática devido a falta de ajuste
 SQ_R – soma quadrática devido a regressão
 SQ_r – soma quadrática residual

Sumário

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Surfactantes.....	4
2.2. Biossurfactantes	8
2.2.1. Surfactina	11
2.2.1.1. Breve histórico.....	11
2.2.1.2. Propriedades químicas	12
2.2.1.3 Aplicações potenciais.....	14
2.3. Adsorção de tensoativos na interface gás-líquido.....	17
2.3.1. Lei de adsorção de Gibbs	18
2.3.2. Isoterma de adsorção de Langmuir.....	22
2.4. Leito de espuma	23
2.5. Processos de separação.....	27
2.5.1. Métodos de separação por adsorção em bolhas	27
2.5.2. Processo de separação com espuma	30
2.5.3. Modos de operação da coluna de fracionamento	31
CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS	41
3.1 Surfactinas utilizadas.....	41
3.2. Curva analítica de surfactina.....	41
3.3. Fracionamento de surfactina	42
3.3.1. Preparação e padronização das soluções de surfactina.....	42
3.3.2. Planejamento experimental	44
3.3.3 Aparato experimental.....	45
3.3.4 Operação da coluna	48
3.3.5. Quantificação das amostras coletadas da coluna de bolhas e espuma.....	49

3.4. Obtenção das isotermas de Gibbs	50
3.5. Diâmetro das bolhas	52
3.5.1. Aparato experimental.....	52
3.5.2. Determinação do diâmetro das bolhas	54
CAPÍTULO 4 – MODELAGEM MATEMÁTICA	56
4.1. Interpretação física do processo	56
4.2. Balanço de massa para o tensoativo na coluna de líquido.....	58
4.3. Balanço global de massa na coluna de líquido	61
4.4. Balanço de massa para o tensoativo na superfície das bolhas	64
4.5. Resolução das equações do balanço de massa: simulação do processo	65
CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
5.1. Concentração de surfactina na coluna de líquido.....	70
5.2. Concentração de surfactina na espuma.....	76
5.3. Análise estatística das variáveis estudadas no processo de fracionamento de surfactina em coluna de bolhas e espuma	83
5.4. Isotermas de adsorção.....	95
5.5. Diâmetro das bolhas na coluna de líquido	102
5.6. Comparação entre as variações experimentais e simuladas da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo para fracionamento com espuma	105
CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES E SUGESTÕES	114
6.1. Conclusões	114
6.2. Sugestões para futuros trabalhos.....	116
CAPÍTULO 7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118
APÊNDICES	132
APÊNDICE A – Curva analítica de surfactina padrão	132
APÊNDICE B – Análise da variância (ANOVA)	134

APÊNDICE C – Imagens de referências e imagens com e sem tratamento estatístico,
obtidas pela técnica Shadow Imaging.138

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Os surfactantes são compostos químicos amplamente utilizados na indústria por apresentarem funções e aplicações diversas. A grande maioria deles, disponíveis comercialmente, é sintetizada a partir de derivados de petróleo. Contudo, nos últimos anos, a crescente preocupação com o controle e a preservação ambiental levou à procura por surfactantes naturais como alternativa à substituição dos produtos já existentes (BARROS et al., 2007; NITSCHKE; PASTORE, 2002).

Os surfactantes naturais, quando obtidos por fermentação, podem estar presentes no meio de cultura como solutos altamente diluídos ou dissolvidos em baixa concentração o que, de fato, dificulta a recuperação destas moléculas anfifílicas. Uma operação de separação de baixo custo fixo e operacional ocorre na literatura técnico-científica (BROWN et al., 1999) e com baixo consumo de energia (LUCENA, 1995) capaz de recuperar tais moléculas presentes em soluções diluídas. Esta operação é conhecida com o nome de fracionamento em coluna de bolhas e espuma e seu princípio baseia-se no fenômeno de adsorção de moléculas tensoativas na interface gás-líquido (SANTANA, 1994).

A aplicação desse processo não se restringe apenas a surfactantes. Indústrias processadoras de alimentos, fabricantes de bebidas, destilarias e, especialmente indústrias farmacêuticas podem beneficiar-se dessa técnica de separação, pois se torna possível recuperar também proteínas, aminoácidos e peptídeos, óleos e gorduras, vitaminas e até mesmo, fibras (ROSA, 1996). A técnica baseia-se na injeção de gás pela base de uma coluna. À medida que as bolhas de gás ascendem através da solução, moléculas são concentradas na interface gás-líquido e transportadas para a fase espuma que se formará quando as bolhas enriquecidas em substâncias tensoativas saem da fase líquida. As bolhas podem ser obtidas pelo borbulhamento de um gás no interior de uma solução através de um distribuidor como os de vidro sinterizado. O uso de colunas para a fase espuma permite que

a espuma se eleva axialmente, ocorrendo, então, a drenagem de uma porção do líquido transportado da fase líquida, resultando na concentração do soluto de interesse ao longo da coluna (LUCENA, 1995). A espuma gerada pode ser removida e colapsada mecanicamente, obtendo-se uma solução enriquecida no soluto tensoativo, denominada produto de topo (LUCENA; SANTANA, 2000).

O primeiro trabalho envolvendo o fracionamento em coluna de bolhas e espuma foi publicado em 1937, quando Ostwald e Sierh reportaram a separação da albumina dos sucos provenientes do processamento de beterrabas e batatas. A partir de então, tem crescido o interesse pelo processo e suas características operacionais têm sido apontadas em diferentes publicações. Trabalhos que trazem grandes esclarecimentos a respeito do assunto são os livros publicados por Lemlich (1972) e artigos de Thomas e Winkler (1977) e Grieves (1982). Devido a sua importância, o processo foi alvo de pesquisas recentes voltadas ao tratamento de águas residuais, cujo enfoque principal é dado à diminuição da concentração de substâncias indesejáveis no líquido e à recuperação de bioprodutos, cuja ênfase é colocada no produto de topo (LUCENA; SANTANA, 2000). São reportados na literatura diversos trabalhos envolvendo o estudo do processo como os de Vandu e Krishna (2003), Parasu et al. (2003), Krishna e van Baten (2003), Mouza (2005) e Pohorecki (2005).

No presente trabalho foi abordado o estudo desse processo voltado à separação e concentração de surfactina, um biossurfactante natural pertencente à classe dos lipopeptídeos e sintetizado pela bactéria *Bacillus subtilis* (ARIMA et al., 1968; COSTA, 2005; MULLIGAN, 2005; PEYPOUX et al., 1999). Estudos de recuperação deste biossurfactante também foram reportados por Davis et al., (2001), empregando uma simples coluna de fracionamento operada de modo semi-batelada e por Chen et al., (2006), utilizando uma coluna acoplada em biorreator operado em batelada.

O interesse em se recuperar surfactina deve-se justamente às aplicações potenciais que a molécula apresenta nas áreas ambiental, atuando na biodegradação de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos (CUBITTO et al., 2004; MAKKAR; ROCKNE, 2003), na remoção de óleos de areia contaminada (MORÁN et al., 2000), e na biorremediação de solos contaminados por zinco e cobre (MULLIGAN, 2005); e médico-

farmacêutica, exibindo propriedades anticarcinogênica, antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória e utilizada como veículo para administração de drogas via pulmonar (BARROS et al., 2007; SEYDLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008). Ressalta-se ainda a utilização de surfactina na recuperação secundária do petróleo (NITSCHKE; PASTORE, 2002).

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo principal o estudo da separação e concentração de surfactina, presente em soluções provenientes da fermentação, utilizando-se o processo de fracionamento em coluna de bolhas e espuma operada a diferentes condições, visando otimizar o enriquecimento e a recuperação do bioproduto. Levando-se em conta a aplicação da modelagem matemática da coluna de fracionamento ao se desenvolver curvas para a determinação das variações da concentração do biosurfactante na coluna de líquido com o tempo através de simulações computacionais, os objetivos específicos do trabalho foram:

- (i) Obter as isotermas de adsorção para a surfactina e seus respectivos ajustes de acordo com um modelo de adsorção que as representassem satisfatoriamente;
- (ii) Determinar o diâmetro das bolhas geradas na coluna de líquido para as diferentes concentrações iniciais de solução de surfactina e vazões volumétricas do gás introduzido na coluna de fracionamento.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo são abordados conhecimentos básicos e relevantes para a compreensão desse trabalho. A revisão bibliográfica é dividida em seis seções: surfactantes, biossurfactantes, adsorção de tensoativos na interface gás-líquido, leito de espuma e processos de separação.

2.1. Surfactantes

Os surfactantes são moléculas anfifílicas compostas por duas regiões estruturais: uma região hidrofóbica (apolar) constituída geralmente por uma cadeia hidrocarbônica extensa saturada ou insaturada ou, em alguns casos menos comuns, por anéis aromáticos ou heterocíclicos e uma região hidrofílica (polar) constituída por grupos iônicos (aniônicos ou catiônicos), não-iônicos ou anfotéricos (anfotéricos) (DESAI; BANAT, 1997; FLORENCE; ATWOOD, 2003; NITSCHKE; PASTORE, 2002). Podem ser também denominados de tensoativos, moléculas anfipáticas, heteropolares ou polares - não polares (MANIASSO, 2001).

A definição da palavra surfactante originou-se da contração da expressão inglesa *surface active agent* que, literalmente, significa *agente de atividade superficial*. Sua ação característica primordial está centrada nas alterações das propriedades interfaciais e superficiais de um líquido. O termo *interface* denota o limite entre duas fases imiscíveis enquanto o termo *superfície* indica que uma das fases é gasosa (BARROS et al., 2007).

Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, os surfactantes atuam em dois meios distintos: polar, com afinidade pela porção ou cabeça polar e não-polar, com afinidade pela porção ou cauda apolar (REIS, 2007). A formação de um filme molecular ordenado nas interfaces reduz a tensão interfacial e

comanda o comportamento reológico e o fenômeno de transferência de massa na região entre os fluidos o que, de fato, caracteriza propriedades únicas dos surfactantes (LIN, 1996). Devido a suas propriedades interfaciais, os tensoativos são adequados para uma gama de aplicações, as quais envolvem detergência, emulsificação, lubrificação, capacidade espumante e molhante, solubilização e dispersão de fases.

Os surfactantes possuem capacidade de auto-organização, ou seja, em determinadas condições (pH, temperatura, força iônica, etc.) associam-se espontaneamente em solução aquosa a partir de uma determinada concentração denominada *concentração micelar crítica* (CMC). Acima da CMC, as moléculas de tensoativos formam grandes agregados moleculares de dimensões coloidais e as tensões superficial e interfacial permanecem quase que constantes (SANTANA FILHO, 2009). A estes agregados, que geralmente são formados por 30 a 200 moléculas de tensoativos, dá-se o nome de micelas. Quando essa concentração está abaixo, porém próxima da CMC, existe um equilíbrio dinâmico entre monômeros e micelas. Abaixo da CMC o tensoativo está predominantemente na forma de monômeros (MANIASSO, 2001; REIS, 2007). Em razão disso, pode-se definir a CMC como sendo a concentração mínima requerida de tensoativos necessária para atingir os mais baixos valores de tensão superficial ou interfacial, podendo ser utilizada como parâmetro de avaliação da atividade de um surfactante (BARROS et al., 2007; LIN, 1996; NITSCHKE; PASTORE), visto que tensoativos eficientes apresentam uma CMC baixa, pois suas concentrações necessárias para reduzir a tensão superficial ao máximo é menor (OBERBREMER et al., 1990; SAMSON et al., 1990). A CMC depende da estrutura do tensoativo (tamanho da cadeia do hidrocarboneto) e das condições experimentais (força iônica, contra íons, temperatura, etc.) (MANIASSO, 2001).

Griffin (1949) fez um estudo do comportamento hidrofílico/lipofílico de surfactantes não-iônicos (podendo ser estendido ao caso de tensoativos aniônicos) dando origem à teoria do balanço hidrofílico-lipofílico, conhecida pela sigla HLB. Segundo essa teoria, um tensoativo terá maior afinidade por um grupo hidrofílico ou lipofílico dependendo da natureza e da quantidade de grupamentos químicos polares e apolares presentes na molécula de tensoativo (GRIFFIN, 1949; REIS, 2007).

Portanto, o valor de HLB pode ser utilizado para avaliar a solubilidade de surfactantes. Geralmente, tensoativos com valores de HLB menores que 6 (seis) são mais solúveis na fase hidrofóbica, enquanto que tensoativos com valores de HLB entre 10 (dez) e 18 (dezoito) são altamente hidrofílicos (LIN, 1996; PARKINSON, 1985). Além disso, o valor de HLB pode ser usado para prever qual o tipo de emulsão óleo/água (O/A) ou água/óleo (A/O) será formada e quais serão as aplicações de um determinado composto, respeitando o valor de proporção crítica entre as fases (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de HLB (tensoativos não-iônicos) salientando aplicações tecnológicas.

HLB	Aplicação
0-3	antiespumante
2-8	Emulsionates A/O
7-9	Formadores de gel
8-18	Emulsão O/A
13-15	detergentes
15-20	solubilizantes

Fonte: (REIS, 2007).

Os tensoativos são classificados em função da carga da região hidrofílica como: iônicos (aniônicos e catiônicos), não-iônicos ou neutros e zwitteriônicos (Tabela 2).

Tabela 2. Exemplos de surfactantes com suas respectivas classes e fórmulas químicas

<i>Classificação dos surfactantes</i>	<i>Fórmula química</i>
Aniônicos	
Dodecanato de sódio	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COO}^-\text{Na}^+$
Dodecilsulfato de sódio (SDS)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3^-\text{Na}^+$
Dodecilbenzeno sulfonato de sódio (SDBS)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3^-\text{Na}^+$
Catiônicos	
Cloreto de tetradeciltrimetilamônio (TTACl)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$

Continua

<i>Classificação dos surfactantes</i>	<i>Fórmula química</i>
Cloreto de tetradecilbenzildimetilamônio (TBzCl)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}^-$
Não-iônicos	
Éter 1,1,3,3-tetrametil-butil-fenil (9,5) – poli-oxietilênico (Triton X-100) ®	$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{-C}_6\text{H}_4\text{-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_{10}\text{OH}$
Monohexadecil éter de heptaoxietileno	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{-(OCH}_2\text{CH}_2)_7\text{OH}$
Zwitteriônicos	
N-dodecil-N,N-dimetil-betaína	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{COO}^-$
3-(N-dodecil-N,N-dimetilamônio)-propano-1-sulfonato	$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_3\text{SO}_3^-$

Fonte: (FLORENCE; ATWOOD, 2003; REIS, 2007).

O mercado mundial de surfactantes atinge mais de 9,4 bilhões de dólares por ano e de acordo com Desai e Banat (1997), a sua demanda aumenta a uma velocidade superior a 35% (CRASTO, 2005). Sua produção mundial excede a três milhões de toneladas por ano, sendo que a maior utilização dos surfactantes concentra-se nas indústrias de cosméticos e de produtos de higiene para a produção de hidratantes, sabonetes e produtos de maquiagem; na indústria de produtos de limpeza, empregado nas formulações de sabões e detergentes, na indústria alimentícia, utilizado como aditivos em condimentos, na indústria agrícola, incorporado em formulações de herbicidas e pesticidas e na indústria petrolífera, sendo aplicado na dispersão no derramamento de óleos e limpezas de reservatórios de óleos (BARROS et al., 2007; NITSCHKE; PASTORE, 2002).

Atualmente, os surfactantes iônicos e não-iônicos correspondem aos grupos de tensoativos de maior consumo. Os surfactantes catiônicos são utilizados na indústria têxtil e de fertilizantes, no revestimento de estradas (asfalto) e como amaciantes de roupas e condicionadores de cabelos. Os aniônicos podem ser aplicados em cosméticos, shampoos, desinfetantes e em detergentes de uso doméstico. Por outro lado, os surfactantes não iônicos estão presentes em defensivos agrícolas, no tratamento de metais e na indústria petrolífera, enquanto que os zwitteriônicos são utilizados em produtos de higiene pessoal

(sabonete líquido e géis), em espuma para controle de incêndio e na limpeza industrial e de automóveis (PRETÉ, 2000; REIS, 2007).

2.2. Biossurfactantes

Vários compostos com propriedades tensoativas são sintetizados por organismos vivos, desde plantas (saponinas) até microrganismos (glicolipídeos) e também no organismo humano como os sais biliares que são considerados surfactantes naturais (CRASTO, 2005; NITSCHKE; PASTORE, 2002). Cerca de 70 a 75% dos surfactantes utilizados em países industrializados são de origem petroquímica, enquanto que nos países em desenvolvimento predominam tensoativos de origem natural (BARROS et al., 2007; YEH et al., 2006).

Os compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes, isto é, que diminuem a tensão interfacial e superficial e exibem alta capacidade emulsificante são denominados biossurfactantes e consistem de produtos metabólicos de bactérias, fungos e leveduras (CRASTO, 2005; FIECHTER, 1992). Oferecem muitas vantagens em relação aos surfactantes de origem química tais como: (a) aceitabilidade ecológica, pois são potencialmente aplicáveis em proteção ambiental (RAHMAN et al., 2002), pela sua baixa toxicidade e elevada biodegradabilidade (NITSCHKE; PASTORE., 2002; YEH et al., 2006); (b) são efetivos em uma ampla faixa de temperatura e pH (BANAT et al., 2000; MULLIGAN, 2005) e suportam meios com elevada força iônica, ou seja, com altas concentrações salinas, (c) podem ser produzidos a partir de substratos renováveis e (d) podem ser mais eficientes que os surfactantes químicos (NITSCHKE; PASTORE, 2002), pois exercem o mesmo efeito em um sistema, ou seja, reduzem as tensões interfacial e superficial, contudo, em concentrações muito menores (SANTANA FILHO, 2009).

Os biossurfactantes constituem uma das principais classes de surfactantes naturais. Diferentemente dos surfactantes sintéticos, que são classificados pela natureza do seu grupo polar, os biossurfactantes são colocados dentro de categoriais de acordo com sua

composição química e sua origem microbiana (DESAI; DESAI, 1993). Os principais grupos desses compostos incluem glicolipídeos, lipopeptídeos e lipoproteínas, fosfolipídeos e ácidos graxos/ lipídeos neutros (como os ácidos ustilágico e corinomicólico), além de surfactantes poliméricos e particulados, sendo os lipopeptídeos os biossurfactantes mais efetivos (Tabela 3).

A estrutura química dos biossurfactantes, em geral, apresenta uma porção lipofílica usualmente composta por uma cadeia hidrocarbônica de um ou mais ácidos graxos saturados, insaturados, hidroxilados ou ramificados ligados a uma porção hidrofílica que pode ser constituída por carboidratos, aminoácidos, peptídeos cíclicos, fosfato, ácidos carboxílicos ou alcoóis (MEIRA, 2007).

Apresentam uma gama de aplicações direcionadas para os mais diversos ramos industriais, destacando-se as indústrias de cosméticos, alimentícia, química, agrícola e de produtos de limpeza. Contudo, os altos custos de produção associados a métodos ineficientes de recuperação dos biossurfactantes ainda continuam sendo os maiores obstáculos para suas aplicações comerciais (YEH et al., 2006).

Tabela 3. Principais grupos de biossurfactantes com suas respectivas subdivisões.

Biossurfactante	Subdivisão
Glicolipídeos	ramnolipídeos
	soforolipídeos
	trehalolipídeos
Lipopeptídeos e lipoproteínas	viscosina
	surfactina
	gramicidina
	serrawetina
Ácidos graxos, lipídeos neutros e fosfolipídeos	ácidos graxos
	lipídeos neutros
	fosfolipídeos

Continua

Biossurfactante	Subdivisão
Surfactantes poliméricos	emulsan
	biodispersan
	liposan
	manana-lipídeo-proteína
Surfactantes particulados	vesículas
	células

Fonte: (NITSCHKE; PASTORE, 2002)

A tabela 4 ilustra algumas das funções dos biossurfactantes associadas com seus vastos campos de aplicação.

Tabela 4. Principais aplicações comerciais dos biossurfactantes

Funções	Campos de aplicação
Emulsionantes e dispersantes	Cosméticos, tintas, biorremediação, óleos e alimentos
Solubilizantes	Produtos farmacêuticos e de higiene
Detergentes	Produtos de limpeza e agricultura
Agentes espumantes	Produtos de higiene, cosméticos e flotação de minérios
Agentes espessantes	Tintas e alimentos
Seqüestrantes de metais	Mineração
Formadores de vesículas	Cosméticos e sistemas de liberação de drogas
Fator de crescimento microbiano	Tratamento de resíduos oleosos
Agente de recuperação	Recuperação terciária do petróleo
Redutores de viscosidade	Transporte em tubulações, oleodutos
Dispersantes	Misturas carvão/água, calcáreo/água
Fungicida	Controle biológico de fitopatógenos

Fonte: (BANAT et al., 2000; NITSCHKE; PASTORE, 2002).

2.2.1. Surfactina

2.2.1.1. Breve histórico

Os primeiros relatos envolvendo a utilização de biossurfactantes datam de 1949 quando Jarvis e Johnson detectaram propriedades antibióticas e hemolíticas de um ramnolípídeo (JARVIS et al., 1949). Mais tarde, em 1968, foi descoberta a existência de um novo composto biologicamente ativo, produzido por *Bacillus subtilis*, que inibia a formação de coágulos de fibrina (ARIMA et al., 1968). Esse composto, por apresentar elevada atividade superficial foi denominado *surfactina*, cuja estrutura primária foi elucidada posteriormente (KAKINUMA et al., 1969a; KAKINUMA et al., 1969b; KAKINUMA et al., 1969c; KAKINUMA et al., 1969d). Desde então, outros biossurfactantes foram descobertos, porém, a surfactina tornou-se o principal representante dos surfactantes lipopeptídicos (PEYPOUX et al., 1999).

Na década de 70, iniciaram-se os estudos a respeito das ações fisiológicas e bioquímicas da surfactina, revelando possíveis aplicações nas áreas médica e biotecnológica, por apresentar funções antibacteriana e antitumoral e agir como composto hipocolesterolêmico (BARROS et a., 2007).

Apesar da elucidação de diversas propriedades da surfactina nos anos 60, foi apenas na década de 80 que este biossurfactante lipopeptídico despertou o interesse de pesquisadores como alternativa atraente para substituição de surfactantes sintéticos, que apresentavam agressividade ao ambiente (MAIER et al., 2003; PEYPOUX et al., 1999). Por apresentarem efeitos significativos na biodegradação de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos (CUBBITO et al., 2004), no tratamento de resíduos de petróleo (PRINCE et al., 1993), na recuperação de petróleo (VAN DYKE et al., 1991), a indústria petrolífera foi o grande mercado para os biossurfactantes até a década de 90.

Nos últimos anos, foram demonstradas diversas novas atividades da surfactina, englobando neste rol sua ação emulsificante, espumante, antiviral e antimicoplásmica

(VOLLENBROICH et al., 1997). Atualmente, as pesquisas com surfactina e demais biossurfactantes foram intensificadas, levando ao surgimento de uma ampla variedade de compostos com propriedades específicas e dando possibilidades às suas aplicações nos mais diversos ramos industriais (BARROS et al., 2007).

2.2.1.2. Propriedades químicas

A surfactina (massa molar 1036,34 g/mol), principal representante da família dos lipopeptídeos, é conhecida por apresentar excepcional atividade superficial, reduzindo a tensão superficial da água (20 °C) de 72 mN/m para 27 mN/m (ARIMA et al., 1968; BARROS et al., 2007; COOPER et al., 1981; MULLIGAN, 2005; PEYPOUX et al., 1999) em concentrações inferiores a 20 µM (PEYPOUX et al., 1999), além de reduzir a tensão interfacial do sistema água/hexadecano de 43 mN/m para valores menores que 1 mN/m (BARROS et al., 2007; COOPER et al., 1981; LANG et al., 2002).

Por apresentar valores muito menores de concentração micelar crítica (CMC \approx 10 mg/L) (COSTA, 2005; DELEU et al., 1999), com relação aos surfactantes sintéticos como o dodecilsulfato de sódio (SDS) (CMC = 2420 mg/L), dodecilbenzenosulfonato de sódio (DBS) (CMC = 390 mg/L) e laurilsulfato de sódio polietoxilado (Steol CS-330) (CMC = 1460 mg/L) (DESHPANDE et al., 1999; MEIRA, 2007), a surfactina pode ser considerada um biossurfactante de elevada eficiência, pois quanto menor o valor da CMC, maior a eficiência de um surfactante (MULLIGAN, 2005), exercendo, portanto, o mesmo efeito com pequenas concentrações (SANTANA FILHO, 2009).

A surfactina é biossintetizada por *Bacillus subtilis* (ARIMA et al., 1968; COSTA, 2005; MULLIGAN, 2005; PEYPOUX et al., 1999; SEM et al., 1997) e sua estrutura geral (Figura 1) indica a presença de um peptídeo cíclico, constituído por sete aminoácidos dispostos numa seqüência quiral LLDLLDL (L-ácido glutâmico, L-leucina, D-leucina, L-valina, L-ácido aspártico, D-leucina e L-leucina) ligado a uma cadeia de ácido graxo β -hidróxi, cujo número de átomos de carbono pode variar de 13 a 15, permitindo a existência

de diferentes compostos homólogos e isômeros (BARROS et al., 2007; KAKINUMA et al., 1969a; KLUGE et al., 1988; KOWALL et al., 1998; LANG et al., 2002; MULLIGAN, 2005). O ácido 3-hidróxi-13-metil-tetradecanóico caracteriza-se por ser o principal ácido graxo presente na estrutura da surfactina (KLUGE et al., 1988; KOWALL et al., 1998), o qual encontra-se conjugado com a região heptapeptídica da molécula através de ligação lactona, tal como os demais (KAKINUMA et al., 1969a; MULLIGAN, 2005; PEYPOUX et al., 1999). A estrutura molecular da surfactina é do tipo folha- β , o qual se torna compacta devido à presença da ciclização da região peptídica, das interações intramoleculares favoráveis e da seqüência quiral LLDLLDL (ISHIGAMI et al., 1995; PEYPOUX et al., 1999).

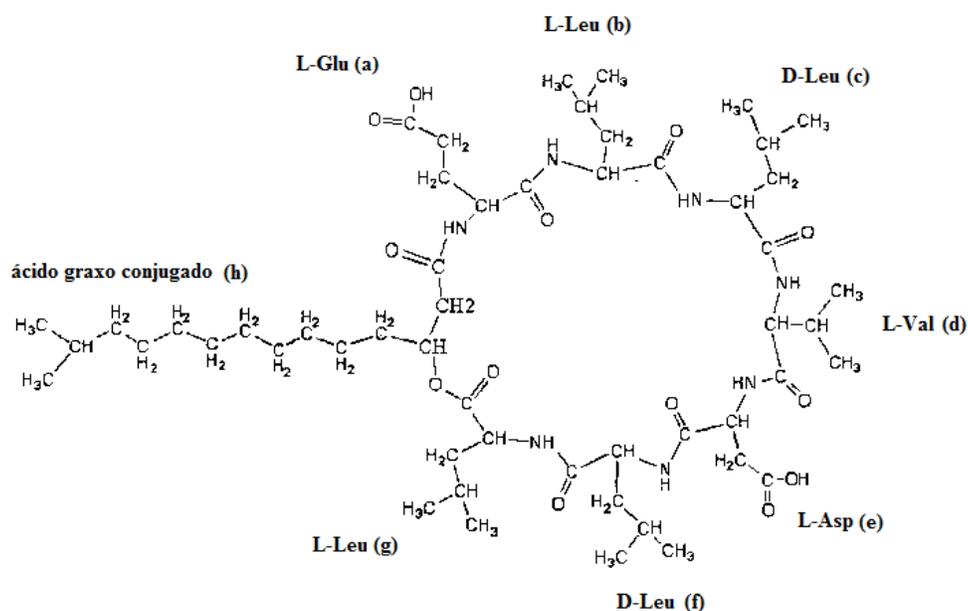


Figura 1 - Isômero mais comum da surfactina. Os aminoácidos (a), (d) e (e) correspondem ao ácido glutâmico, valina e ácido aspártico, respectivamente; (b), (c), (f) e (g) correspondem ao aminoácido leucina; (h) corresponde ao ácido graxo 3-hidróxi-13-metil-tetradecanóico. (BARROS et al., 2007).

A surfactina é um lipopeptídeo ácido solúvel em solução aquosa levemente alcalina e em alguns tipos de solventes orgânicos como o metanol, etanol, acetona,

etilacetato, clorofórmio e ácido acético. Sua precipitação pode ser provocada pela adição de sulfato de amônio ou de cátions divalentes em solução alcalina (ARIMA et al., 1968).

Vários experimentos demonstraram que a molécula de surfactina é muito estável quando submetida a diversas condições, tolerando mudanças bruscas de temperatura, pH e força iônica do meio (NITSCHKE; PASTORE, 2002). Os biosurfactantes produzidos por *Bacillus sp* são estáveis em concentrações de NaCl de 2 a 3% (BARROS et al., 2007). Relatos na literatura revelaram que o biosurfactante produzido pela cepa de *Bacillus subtilis* C9 apresentou amplo limite de estabilidade e manutenção de propriedades emulsificantes a limites variados de temperatura (20-100 °C por 1 h), pH (5,0 a 9,5) e concentrações salinas de 1000 mmol/L de NaCl e 10 mmol/L de CaCl₂ (KIM et al., 1997). Também há relatos de surfactina produzida por outras linhagens de *Bacillus sp* comprovando sua estabilidade a variações de temperatura (100 °C por 2 h, 121 °C por 0,5 h e 135 °C por 1 h), de pH 6 a 12, em concentração salina (15 % NaCl) e em presença de enzimas proteolíticas (bromelina, ficina, papaína e tripsina) (BARROS et al., 2007).

A acidificação da solução para pH igual a 2 eleva a tensão superficial para 62 mN/m, voltando para 27 mN/m com a neutralização, pH 6, mostrando a dependência das propriedades surfactantes da surfactina em relação ao pH (COPPER et al., 1981). Isto se deve ao fato de que em meio ácido a surfactina precipita sem, contudo, ter sua estrutura alterada. Esta característica constitui em uma vantagem adicional pois, mesmo quando submetida a condições mais extremas de pH, a molécula de surfactina conserva sua estrutura química original (BARROS et al., 2007; COOPER et al., 1981; COSTA, 2005).

2.2.1.3 Aplicações potenciais

A surfactina tem sido alvo de diversos estudos, os quais revelaram o seu poder benéfico e suas aplicações potenciais promissoras nas áreas ambiental, industrial e médico-farmacêutica.

Sob o ponto de vista ambiental, vários estudos reportados na literatura mencionam a aplicação de surfactina na biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos e alifáticos (BARROS et al., 2007; CUBITTO et al., 2004; MAKKAR; ROCKNE, 2003; MORÁN et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2000), bem como a sua ação potencial na degradação do pesticida endosulfan (AWASHTI et al., 1999) e a sua capacidade em remover óleo de areias contaminadas (COSTA et al., 2005; MÓRAN et al., 2000). Também são relatados estudos do biossurfactante em processos de biorremediação de solos contaminados com metais pesados. Mulligan et al., (1999) avaliou o efeito da surfactina na remoção de cobre e zinco presentes no solo. Os resultados mostraram que 0,25% de surfactina, na presença de 0,1% de NaOH, foi capaz de remover 22 e 70% de zinco e cobre, respectivamente. Em seus estudos utilizando-se água como agente de remoção, constatou-se que quantidades mínimas dos metais foram removidas (menos que 1%), revelando, portanto, a ação potencial de surfactina neste tipo de processo.

Sob o ponto de vista industrial, um dos maiores mercados para a surfactina está na indústria petrolífera. O biossurfactante pode ser utilizado na produção de petróleo ou incorporado em formulações de óleos lubrificantes (VAN DYKE et al., 1991), ser utilizado para a remoção ou mobilização de resíduos de óleos pesado em tanques de estocagem e aplicado na recuperação melhorada de petróleo (MEOR) (NITSCHKE; PASTORE, 2002).

As aplicações de maior âmbito da surfactina, talvez, concentram-se na área médico-farmacêutica. Por apresentar diversas funções biológicas, as quais serão apresentadas a seguir, o biossurfactante pode ser caracterizado como uma molécula biologicamente ativa (BARROS et al., 2007).

As propriedades da surfactina são base para a explicação de sua ação anticarcinogênica. Foi demonstrado que a molécula anfifílica tem a capacidade de, ao atingir o interior da célula, promover a ruptura da membrana plasmática (HAFENBURG et al., 2003). Constatou-se que o biossurfactante apresentou atividade antitumoral contra células com carcinoma de Ehrlich e atividade antiproliferativa em experimentos com células dos cânceres de ovário, renal, de próstata, de cólon, de pulmão, de mama e melanomas (BARROS et al., 2007; SADLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008).

Relatos na literatura também mencionam o poder da surfactina no tratamento de células de mamíferos contaminadas por micoplasma (BARROS et al., 2007; SADLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008; VOLLENBROICH et al., 1997). Foi demonstrado que a baixa citotoxicidade da molécula inativou especificamente os micoplasmas sem causar efeitos lesivos no metabolismo e na proliferação de células de mamíferos em cultura (SINGH et al., 2004). Estudos recentes confirmaram o potencial da surfactina no combate de micoplasma independentemente da concentração de células-alvo, o que torna uma vantagem significativa desse biossurfactante perante a forma de ação de antibióticos convencionais (SADLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008).

A surfactina também pode atuar como um poderoso agente antiviral diante a ação de alguns vírus como do herpes simplex (HSV-1 e HSV-2), do vírus da imunodeficiência símia, do calicivirus felino e o da encefalomielite murina (SADLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008). Estudos *in vitro* mostraram que a inativação dos vírus que apresentam envelope, (camada externa de natureza protéica, glicoprotéica ou lipídica, que reveste o capsídeo viral), especialmente o herpes vírus e o retrovírus, foi significativamente mais eficiente do que a de vírus sem a presença deste. Isto sugere que a ação antiviral da surfactina se deve principalmente às interações físico-químicas entre a sua estrutura e a membrana lipídica viral (VOLLENBROICH et al., 1997). Um dos fatores importantes para a inativação do vírus confere ao número de átomos de carbono da cadeia de ácido graxo da surfactina. Com o aumento da hidrofobicidade da cadeia, aumenta-se a capacidade de inativação da atividade viral. Durante a inativação, a surfactina integra na bicamada lipídica induzindo uma completa desintegração do envelope e ruptura parcial dos capsídeos que contém as proteínas virais envolvidas no mecanismo de adsorção e penetração do vírus (BARROS et al., 2007; SADLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008).

Outra aplicação proposta para a surfactina envolve a sua ação antitrombolítica. Há relatos na literatura de que o biossurfactante, nas concentrações de 3 a 20 μM , aumenta a atividade de pró-uroquinase na presença de plasminogênio (as atividades do plasminogênio e da pró-uroquinase são mecanismos importantes nas etapas de iniciação e propagação da atividade fibrinolítica local), levando ao aumento da fibrinólise *in vitro* e *in vivo* (KIKUCHI; HASUMI, 2002). Estes resultados sugerem uma possível aplicação da

surfactina em terapias trombolíticas. Além disso, o biossurfactante tem vantagens sobre outros agentes trombolíticos disponíveis, pois apresenta menores efeitos colaterais e possui potencial para uso a longo prazo (SADLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008).

A surfactina também pode atuar como veículo para administração de drogas via pulmonar. Foram reportados estudos avaliando o efeito do biossurfactante na absorção de insulina em pulmões de ratos. Os experimentos mostraram que a biodisponibilidade do peptídeo administrado pela rota intratraqueal como solução contendo 1 ou 10 mM de surfactina foi de 15,1 e 80,0 %, respectivamente. Dados relativos à toxicidade não foram apresentados no relato (BARROS et al., 2007).

Somando-se a este leque de aplicações, pode dizer ainda que a surfactina, futuramente, poderá se tornar uma alternativa adequada para a síntese de medicamentos e agentes antibacterianos, sendo utilizada com agente terapêutico seguro e eficiente. No entanto, seu fator toxicidade, mesmo sendo baixo, ainda impõe barreiras a sua utilização no desenvolvimento de medicamentos (SAYDLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008).

2.3. Adsorção de tensoativos na interface gás-líquido

As moléculas tensoativos, por serem anfipáticas e, conseqüentemente apresentarem diferença de solubilidade de suas porções hidrofóbicas e hidrofílicas, tendem a se acumular na interface gás-líquido (AUBERT et al., 1986). A adsorção do tensoativo é acompanhada pela redução gradual da tensão superficial (ADAMSON, 1990).

2.3.1. Lei de adsorção de Gibbs

Sob condições de equilíbrio, a adsorção na interface gás-líquido de espécies químicas contidas em soluções pode ser quantitativamente descrita pela equação de Gibbs (KARGER; DeVIVO, 1968).

A região entre duas fases não é representada por um plano divisório, mas sim por uma região onde ocorre a variação de propriedades através da interface gás-líquido (Figura 2).

Através de um balanço de energia na região interfacial, pode-se dizer que a variação da energia (dU), acompanhando uma variação infinitesimal reversível em sistema aberto, no qual há transferência de massa entre fases, é dada por :

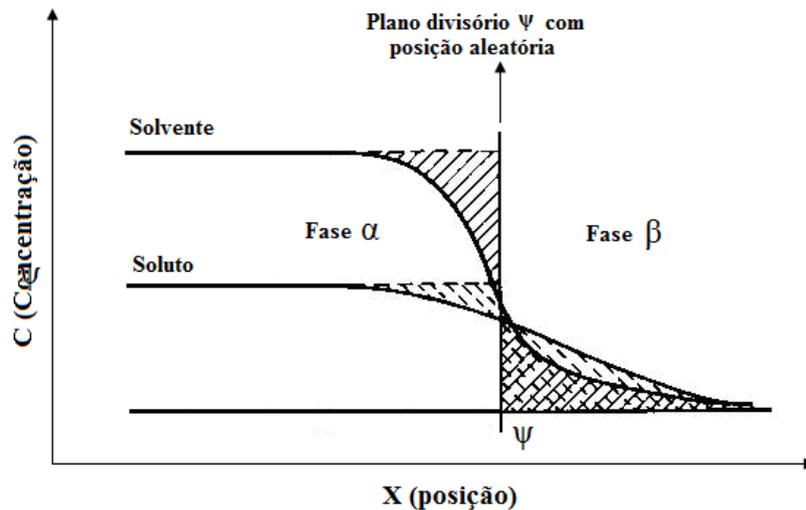


Figura 2. Esquema da variação das concentrações de solvente e soluto na região interfacial entre duas fases α e β . Adaptado de ADAMSON (1990)

$$dU^\psi = TdS^\psi - dw^\psi + \sum_i \mu_i dn_i^\psi \quad (1)$$

equação na qual S representa a entropia do sistema, w , o trabalho realizado durante a mudança reversível e μ_i e n_i o potencial químico e o número de mols do i -ésimo componente, respectivamente. O sobrescrito ψ indica a camada superficial.

O trabalho (w) é aquele requerido para aumentar a área da superfície de uma quantidade infinitesimal (dA), a temperatura (T), pressão (P) e número de mols (n) constantes. Este trabalho é realizado contra a tensão superficial e dado como $w = \gamma.dA$, a qual γ refere-se a tensão superficial.

Então, a equação (1) torna-se:

$$dU^\psi = TdS^\psi + \gamma.dA + \sum_i \mu_i dn_i^\psi \quad (2)$$

Caso se permita que a energia, a entropia e o número de mols dos componentes aumentem de zero para algum valor finito, a equação (2) fica:

$$U^\psi = T.S^\psi + \gamma.A + \sum_i \mu_i n_i^\psi \quad (3)$$

Diferenciando a equação (3) e comparando-a com a equação (2), tem-se que:

$$S^\psi .dT + A.d\gamma + \sum_i n_i^\psi d\mu_i = 0 \quad (4)$$

Para condições isotérmicas, isto é, $dT = 0$, a equação (4) torna-se:

$$-d\gamma = \sum_i \frac{n_i^\psi}{A} d\mu_i \quad (5)$$

Sendo $\Gamma_i = \frac{n_i^\psi}{A}$ a concentração em excesso na interface, obtém-se a seguinte relação para a adsorção isotérmica de compostos na interface gás-líquido, conhecida como isoterma de adsorção de Gibbs:

$$-d\gamma = \sum_i \Gamma_i d\mu_i \quad (6)$$

Para sistemas binários (solvente e soluto), e equação (6) pode ser escrita como:

$$-d\gamma = \Gamma_{\text{solvente}} d\mu_{\text{solvente}} + \Gamma_{\text{soluto}} d\mu_{\text{soluto}} \quad (7)$$

na qual Γ_{solvente} , Γ_{soluto} , μ_{solvente} e μ_{soluto} são as concentrações de excesso na superfície e potenciais químicos do solvente e soluto, respectivamente.

A posição da superfície divisória ψ pode ser escolhida de modo que a concentração em excesso na superfície seja nula para o solvente (ADAMSON, 1990). Logo, a equação (7) torna-se:

$$\Gamma = -\frac{d\gamma}{d\mu} \quad (8)$$

No equilíbrio, os potenciais químicos do soluto na região superficial e no seio do líquido serão iguais, e este pode ser escrito como:

$$\mu = \mu^0 + R.T.\ln a \quad (9)$$

equação na qual μ^0 é o potencial químico de referência, R é a constante universal dos gases, T é a temperatura do sistema e “a” é a atividade do soluto.

Substituindo a equação (9) em (8) e rearranjando, têm-se:

$$\Gamma = -\left(\frac{1}{RT}\right)\left(\frac{d\gamma}{d \ln a}\right) \quad (10)$$

Para sistemas diluídos, a atividade pode ser substituída pela concentração do tensoativo no seio do líquido e a equação (10) torna-se:

$$\Gamma = -\left(\frac{1}{RT}\right)\left(\frac{d\gamma}{d \ln C_b}\right) \quad (11)$$

sendo C_b a concentração do soluto no seio do líquido.

A equação (11) é a forma usual da equação de Gibbs para determinar a isoterma de adsorção de moléculas tensoativas, podendo esta ser facilmente obtida a partir de dados de tensão superficial e de concentração de tensoativos no seio do líquido (FLORENCE; ATWOOD, 2003).

É importante destacar que a equação de Gibbs para a adsorção interfacial é limitada para faixas de concentrações onde ocorre apenas a formação de monocamadas. Observando-se o comportamento da tensão superficial com o $\ln C_b$ (Figura 3) nota-se que a partir de um determinado valor de C_b praticamente não há alteração nos valores da tensão superficial, pois há uma saturação da monocamada molecular e desse modo a concentração superficial torna-se desprezível (CHARM et al, 1966). Para concentrações mais baixas é possível ainda observar que numa ampla faixa de concentrações a concentração superficial permanece praticamente constante. O comportamento de Γ com C_b (Figura 3) é, portanto, válido até a saturação da monocamada (LUCENA, 1995).

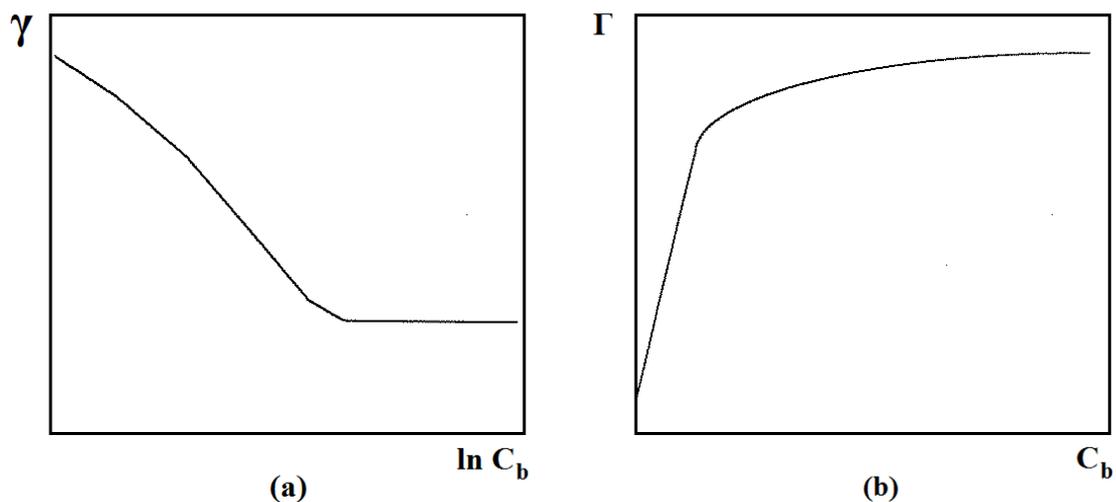


Figura 3 - (a) Comportamento típico da tensão superficial com a concentração para soluções de moléculas com atividade superficial. (b) Comportamento de Γ com C (isoterma de adsorção). Adaptado de LUCENA (1995).

2.3.2. Isoterma de adsorção de Langmuir

Langmuir (1918) foi o primeiro a introduzir uma teoria coerente de adsorção numa superfície plana afirmando que há um constante bombardeamento de moléculas na superfície e uma correspondente dessorção das moléculas adsorvidas de forma a esta superfície manter o equilíbrio (DO, 1998).

A curva de concentração superficial e concentração de tensoativos no seio do líquido podem apresentar diversas formas, dependendo do sistema em questão. Porém, a isoterma de adsorção de Langmuir destaca-se por ser o tipo mais comum encontrado para tensoativos que formam apenas uma camada de adsorção (ROSA, 1996). Diversos solutos podem ser caracterizados por esta isoterma, entre eles: o composto tensoativo CTAB (brometo de hexadeciltrimetil amônio) e a proteína citocromo C.

A equação que descreve o modelo para a isoterma de adsorção de Langmuir é dada por:

$$\Gamma = \frac{\Gamma_{máx} \cdot C_b}{K_d + C_b} \quad (12)$$

equação na qual C_b é a concentração de tensoativo na fase líquida, K_d é a constante de dissociação ou de equilíbrio, Γ e $\Gamma_{máx}$ representam a concentração e concentração máxima de tensoativo adsorvido na interface gás-líquido, expresso em mols por unidade de área, respectivamente.

O modelo da isoterma proposto por Langmuir foi desenvolvido baseando-se nas premissas de que a adsorção é limitada a uma monocamada, a superfície do adsorvente caracteriza-se por ser homogênea, as moléculas adsorvidas não interagem entre si e, no caso da ocorrência de adsorção competitiva de compostos diversos, a entalpia de adsorção é a mesma para todas as moléculas (DO, 1998).

2.4. Leito de espuma

As espumas são sistemas termodinamicamente instáveis que apresentam uma estrutura tridimensional constituídas de células gasosas envolvidas por um filme líquido contínuo (FIGUEREDO et al., 1999). As espumas podem ser formadas por dois métodos: (1) quando um gás contido num sistema à parte é disperso através da fase líquida ou por agitação mecânica ou por borbulhamento através de finos orifícios e (2) ou quando os gases dissolvidos na solução são liberados pela redução de pressão do sistema ou aumento da temperatura. Espumas produzidas em cervejas e bebidas carbonatadas são típicas. Este segundo método originou a tecnologia conhecida como DAF (Dissolved Air Flotation), cuja característica é a geração de microbolhas (LUCENA, 1995).

A geometria normalmente observada em bolhas de espumas pode ser esférica ou poliédrica. As bolhas esféricas são formadas por filmes líquidos espessos e frequentemente são observadas no estágio inicial da formação de uma espuma. Como consequência da drenagem do líquido, os filmes afinam-se diminuindo a distância entre as bolhas de gás, as quais adquirem formato poliédrico (FIGUEREDO et al., 1999; WASAN et al., 1992). O líquido presente em espumas poliedrais distribui-se em duas regiões distintas: nos *filmes*, isto é, nas regiões de conexão entre duas bolhas adjacentes e nas chamadas *bordas* ou *canais de Plateau*, regiões originadas da interseção de três filmes adjacentes, assemelhando-se a um triângulo de faces curvas (Figura 4). Estes canais estão interconectados pelos filmes, estruturando a rede que constitui a fase líquida da espuma (FIGUEREDO et al., 1999; ROSA, 1996).

Em coluna de fracionamento com espumas, as bolhas com geometria esférica existem somente na região próxima à interface das colunas de líquido e de espuma. Em razão disso, as bolhas de gás podem ser consideradas poliédricas em toda a extensão da coluna de espuma (ROSA, 1996).

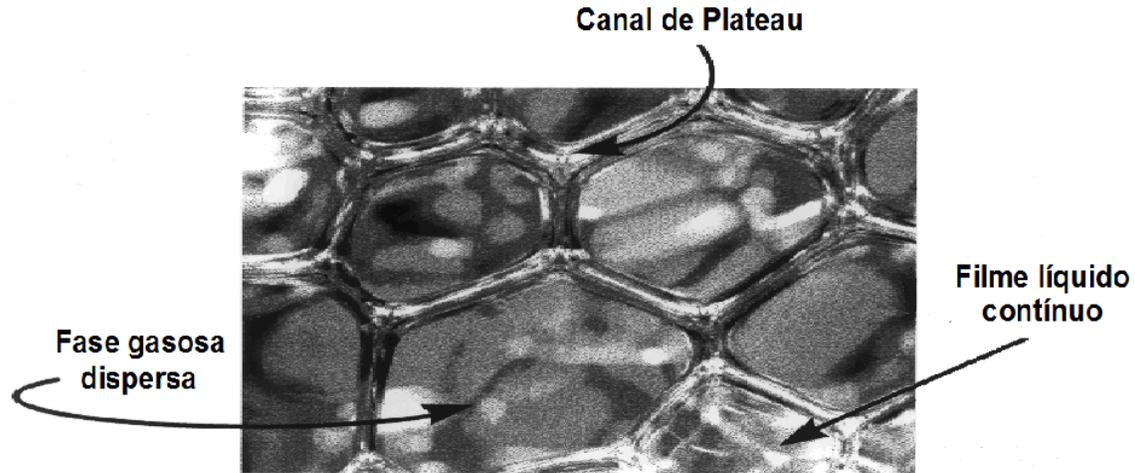


Figura 4 - Estrutura de uma espuma constituída por uma fase gasosa e uma fase líquida (filmes e canais de Plateau) (FIGUEREDO et al., 1999).

Durante a formação de espuma, as bolhas esféricas se aproximam uma das outras expulsando parte do líquido entre elas. Quando a distância entre o centro das bolhas é próxima do diâmetro das bolhas esféricas, ocorrem mudanças da geometria da espuma e a formação de filmes, originados por duas camadas superficiais separadas pelo líquido (ROSA, 1996). Se os filmes forem deformáveis, suas superfícies podem sofrer deformações, apresentando a forma de um sino, fato este que não se observa em filmes formados por superfícies com baixa mobilidade, visto que esta depende de fatores os quais envolvem as viscosidades dilatacional e superficial e de possíveis gradientes de tensão superficial nos filmes (ROSA, 1996). Os formatos de sino também não são observados em filmes com elevada concentração de tensoativos e com raios menores do que 10^{-4} m (WASAN et al., 1992).

Vale ressaltar que durante a formação de uma espuma, três processos podem ocorrer simultaneamente: rearranjo das células gasosas, devido a difusão de gás entre as bolhas, drenagem do líquido intralamelar pelos filmes e canais de Plateau, gerando o afinamento dos mesmos e, por fim, a ruptura da célula (FIGUEREDO et al., 1999).

Um importante fenômeno responsável por um maior enriquecimento do produto de topo diz respeito à drenagem de líquido que ocorre no leito de espuma devido a ação

gravitacional e pela sucção provocada pelos canais de Plateau (LUCENA, 1995). Os canais de Plateau, por apresentarem curvatura, favorecem grande diferença de pressão entre as fases líquida e gasosa, fato este de grande importância para a drenagem em espumas. O líquido é succionado da região lamelar em direção aos canais, região de menor pressão local. Com o escoamento do líquido, os filmes afinam até atingir uma espessura crítica a partir da qual as interações de van der Waals e as propriedades elétricas da superfície, entre outros fatores, passam a governar o processo de afinamento do filme (Figura 5).

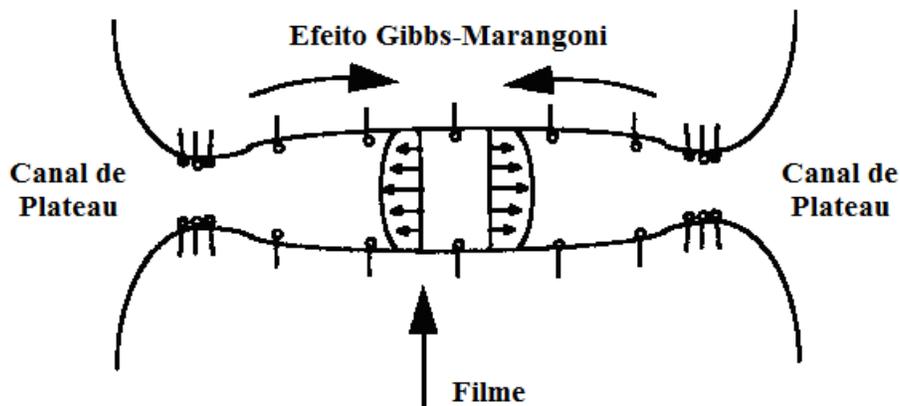


Figura 5 - Esquema da drenagem do filme para os canais de Plateau (ROSA, 1996)

À medida que ocorre a drenagem do líquido, as moléculas tensoativas, adsorvidas na interface gás-líquido, são arrastadas com o fluxo produzindo irregularidades na sua concentração ao longo da interface. Conseqüentemente, este efeito provoca gradientes locais de tensão superficial induzindo as moléculas a difundirem e a tentarem restabelecer a tensão superficial, o que ocasiona o surgimento de uma força contrária ao fluxo (FIGUEREDO et al., 1999; ROSA, 1996). Essa habilidade do filme de espuma em restaurar deformações locais é resultado do efeito combinado da *elasticidade de Gibbs*, que considera uma tensão superficial de equilíbrio e da *elasticidade de Marangoni*, efeito este mais superficial associado às variações instantâneas de tensão superficial. Esse fenômeno é conhecido como *Efeito de Gibbs-Marangoni* sob a qual tende a preservar as interfaces (WASAN et al., 1992).

Em coluna de espumas, a velocidade superficial do gás tem um efeito significativo nas taxas de drenagem. Velocidades maiores tendem a diminuir as taxas de drenagem e, portanto, diminuem o grau de enriquecimento do produto de topo e vice-versa (LUCENA, 1995).

Devido à drenagem, os filmes entre as bolhas tornam-se cada vez mais finos. Quando os efeitos repulsivos e de impedimento estérico (força repulsiva de natureza não-eletrostática) são balanceados pelos efeitos atrativos de van der Waals, os filmes atingem uma espessura de equilíbrio, alcançando o estado metaestável. Neste estado, o filme pode sofrer ruptura acelerada causada por perturbações mecânicas geradas por correntes de ar, vibrações e choques e perturbações térmicas, decorrentes do aumento e redução de temperatura (FIGUEREDO, 1999). Outros fatores, tais como a difusão de gás inter-bolhas, a deformação das bolhas, a movimentação da espuma e a evaporação e a drenagem do líquido presente no filme podem destruir o sistema (ROSA, 1996). Variações rápidas de pressão e espalhamento de agentes sobre o filme que arrastam a solução intralamelar podem provocar afinamento rápido do filme, atingindo a espessura crítica, o que, de fato, aumenta a sua probabilidade de ruptura (FIGUEREDO et al., 1999).

O rompimento do filme entre duas bolhas adjacentes leva a formação de uma bolha com maior diâmetro. Este fenômeno é conhecido como coalescência. Portanto, a coalescência leva a uma maior distribuição do diâmetro das bolhas na coluna de espuma (LEMLICH, 1978; ROSA, 1996). Há relatos na literatura de estudos sobre a coalescência em espumas de tensoativos, como os trabalhos de Jeelani e Uraizee e Narsimham (apud LUCENA, 1995, p. 22).

Outro fenômeno importante que ocorre numa coluna de espuma é a desproporção, caracterizada pela difusão de gás inter-bolhas devido a diferença de tamanho das bolhas. Neste fenômeno, a bolha com menor diâmetro (maior pressão), diminui de tamanho enquanto que a maior (menor pressão) aumenta de tamanho. A taxa de difusão de gás entre as bolhas é uma função da espessura do filme e da solubilidade do gás no líquido (BISPERINK et al., 1992; RAMASWAMI et al., 1993; apud ROSA, 1996, p. 20).

2.5. Processos de separação

2.5.1. Métodos de separação por adsorção em bolhas

São encontradas na literatura diversas publicações clássicas como a de Karger e DeVivo (1968), Lemlich (1972) e de Thomas e Winkler (1977), as quais reportam métodos ou técnicas de separação baseados na adsorção de compostos na superfície de bolhas que, posteriormente, foram revisadas por Grieves (1982) e Uraizee e Narsimhan (1990), destacando características atrativas destes métodos para concentrar e separar proteínas e surfactantes em soluções diluídas (SANTANA, 1994).

Os métodos estão enquadrados em dois grupos (Figura 6): o maior, denominado *separação com espuma*, o qual apresenta maior relevância na separação de materiais biológicos (THOMAS; WINKLER, 1977) e envolve os métodos de *flotação* com suas derivações e *fracionamento com espuma*; e o menor, nomeado como *separação por adsorção em bolhas sem formação de espuma*, cuja subdivisão compreende aos métodos de *sublatação com solvente* e *fracionamento com bolhas*.

Nos processos de sublatação com solvente e fracionamento com bolhas, o material a ser separado adsorve na superfície das bolhas que ascendem na coluna de líquido o qual contém o material. As bolhas, ao atingirem o topo da coluna de líquido, rompem-se liberando o material adsorvido que assim pode ser recuperado. Estes dois processos se diferem pela presença de uma camada de líquido imiscível no topo da coluna de líquido existente no processo de sublatação com solvente. Esta camada tem a finalidade de reter o material adsorvido na superfície das bolhas de gás (LEMLICH, 1972; ROSA, 1996).

Por outro lado, nos processos de flotação e fracionamento com espuma, o material a ser separado adsorve na superfície das bolhas de gás e ascendem através da coluna de líquido. Diferentemente dos processos descritos acima, no topo da coluna de líquido forma-se um leito ou coluna de espuma que, quando colapsada, libera o material adsorvido, promovendo assim, sua separação. O fracionamento com espuma pode ser definido como uma técnica aplicada na separação ou concentração de espécies químicas

presentes em soluções homogêneas, ao passo que a flotação caracteriza-se por ser uma técnica utilizada para separar ou concentrar partículas em suspensão (SANTANA, 1994; THOMAS; WINKLER, 1977).

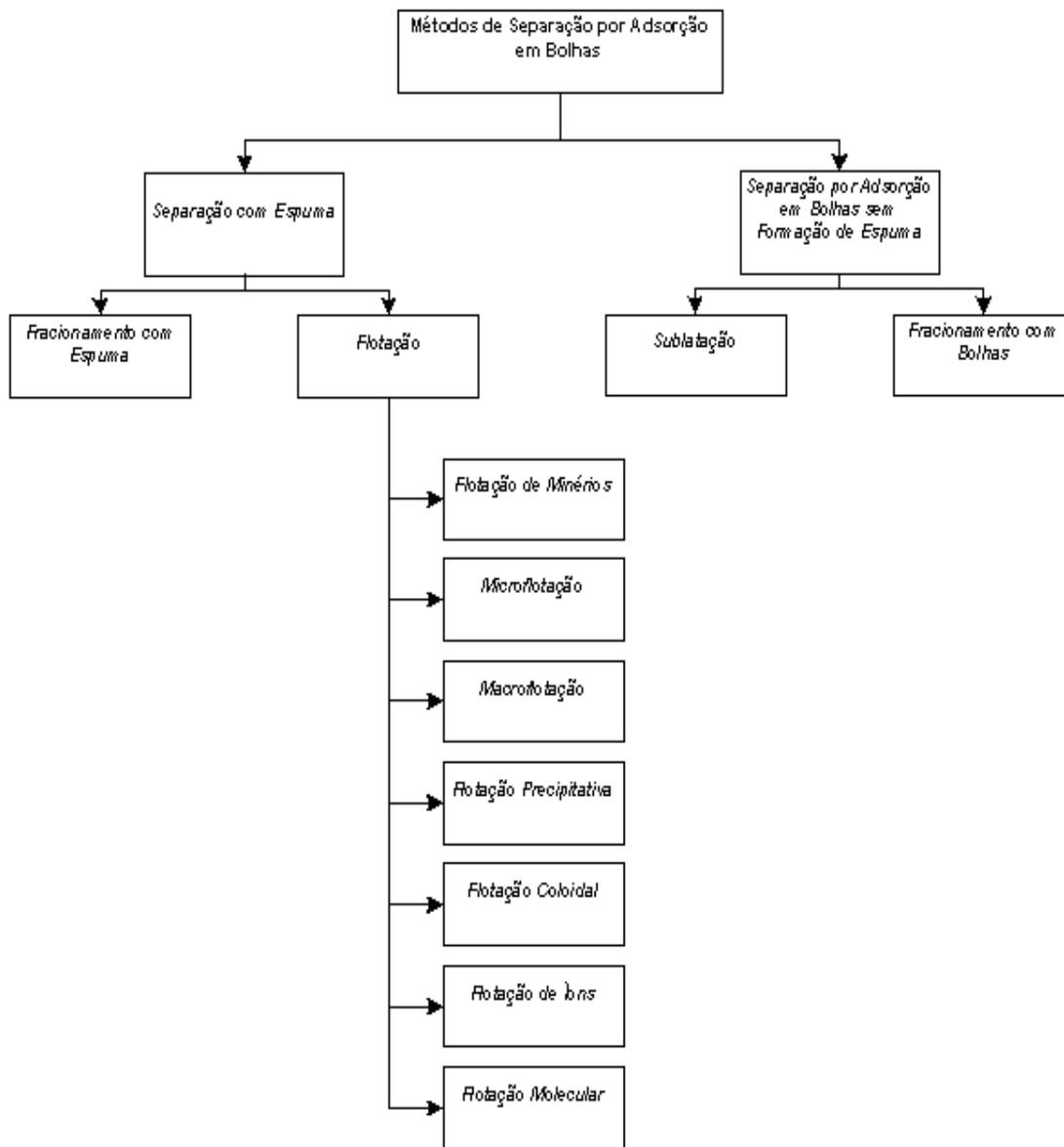


Figura 6 - Esquema da classificação dos métodos de separação envolvendo o fenômeno de adsorção em bolhas (Adaptado de THOMAS; WINKLER, 1977).

Muitos são os trabalhos publicados abordando processos de separação por adsorção em bolhas. Com relação aos métodos de separação sem formação de espuma, vários estudos, baseados em processos de sublatação com solvente, são relatados por Lemlich (1972), como por exemplo, os trabalhos de Caragay e Karger (1966) voltados à remoção de corantes metil-orange e rodamina B utilizando brometo de hexadeciltrimetilamônio e 2-octanol como coletor e camada orgânica imiscível, respectivamente; bem como o trabalho de Spargo e Pinfold (1970), aplicado na remoção de íons hexacianoferrato (II) em meio aquoso, utilizando também 2-octanol como camada orgânica imiscível. Quanto aos processos envolvendo o fracionamento com bolhas, são encontrados na literatura trabalhos aplicando o método para concentrar e separar proteínas (DeSOUZA et al., 1991; MONTERO et al., 1992, apud ROSA, 1996, p. 5).

Quanto aos métodos de separação com espuma, são reportados na literatura alguns trabalhos envolvendo o processo de flotação visando a recuperação de células de meios de cultura (BAHR et al., 1991; HUSBAND et al., 1994; PARTHASARATHY et al., 1988; apud ROSA, 1996, p. 5) e a recuperação de penicilina após sua complexação com surfactantes (GEHLE; SCHUGERL, 1984, apud ROSA, 1996, p. 5). No entanto, muitas aplicações estão depositadas nos processos de fracionamento com espuma, principal objeto de estudo do presente trabalho. Os primeiros trabalhos sobre este processo foram efetuados por Ostwald e Sierh em 1937 quando separaram albumina dos sucos provenientes do processamento de batata e beterraba. A partir de então, tem crescido o interesse pelo processo e suas características operacionais têm sido apontadas em diferentes publicações (LUCENA, 1995). Andrews e Schultz (1945) utilizaram este método para separar renina da pepsina a partir de suas misturas em soluções. Um ano mais tarde, Bader e Schultz (1946) recuperaram e purificaram a enzima colina-esterase a partir do soro sanguíneo. Estudos de fracionamento de albumina do soro bovino (BSA) foram efetuados por Schnepf e Gaden (1959) usando sistema batelada com reciclo e por Ahmad (1975), com processo contínuo. Foram relatados outros estudos envolvendo o fracionamento com espuma como a aplicação do processo para recuperação de lisozima (LALCHEV; EXEROWA, 1981) e recuperação de BSA presente em solução diluída utilizando um sistema operado continuamente (GEHLE; SCHURGEL, 1984). Ostemaier e Dobias (1985) estudaram a separação de

hemoglobina. Mais tarde, foram publicados trabalhos relatando o fracionamento de BSA (BROWN et al., 1990) e a separação e concentração de celulases utilizando coluna de bolhas e espuma (MONTERO et al., 1992, apud ROSA, 1996, p. 5).

2.5.2. Processo de separação com espuma

O estudo do fracionamento de compostos que apresentam atividade de superfície em coluna de bolhas e espuma tem sido realizado por inúmeros pesquisadores em todo o mundo e diversos trabalhos sobre o tema foram publicados mostrando a viabilidade deste processo para a concentração, separação e recuperação de tais compostos a partir de soluções diluídas (BROWN et al., 1990). O método tem sido utilizado em laboratórios com o objetivo em separar e concentrar a baixos custos e, com baixo consumo de energia, soluções diluídas de materiais tensoativos, tais como proteínas, enzimas, surfactante, biossurfactantes, enfim, substâncias anfífilas que, pelo fato de apresentarem atividade superficial, podem ser seletivamente adsorvidas, por exemplo, nas interfaces gás-líquido como as existentes nas bolhas de gás presentes numa solução (LUCENA, 1995). O processo consiste na injeção de gás pela base da coluna de líquido através de placas de vidro sinterizadas ou perfuradas, proporcionando o borbulhamento do gás no interior da solução, na qual está presente o composto tensoativo a ser separado ou concentrado. As bolhas, por sua vez, possibilitam o surgimento de grande área superficial, favorecendo a adsorção das moléculas tensoativas na interface gás-líquido. À medida que as bolhas de gás ascendem através da solução, as moléculas são concentradas na interface gás-líquido e transportadas para a fase espuma que se formará quando as bolhas enriquecidas nas mesmas deixam a fase aquosa. O uso de colunas para a fase espuma permite que a espuma se eleve axialmente ocorrendo, então, a drenagem de uma porção do líquido transportado da fase líquida ocasionando a concentração do soluto com atividade de superfície ao longo da coluna e a solução concentrada, obtida pela remoção e colapso da espuma no topo da coluna, é então coletada como produto.

A vazão de gás pode ser considerada como um dos parâmetros de operação mais relevante do processo, pois através dela pode-se estimar o número de bolhas fluindo pelo líquido num dado intervalo de tempo. A estimativa do diâmetro das bolhas formadas durante o processo também é de grande importância, pois através dele podem-se determinar valores de área superficial e velocidade de ascensão das bolhas na solução de modo a obter o tempo de contato gás-líquido. Quanto à determinação do grau de enriquecimento do soluto com atividade de superfície, três variáveis do processo tornam-se mais significantes: (1) a concentração do soluto na solução, (2) a velocidade superficial do gás e (3) a altura da coluna de espuma onde é coletado o produto.

2.5.3. Modos de operação da coluna de fracionamento

A coluna de fracionamento com espuma, basicamente, pode ser operada de três modos distintos: batelada, semi-batelada e contínuo (Figura 7).

Na operação em batelada, certa quantidade de solução, contendo o material tensoativo, é admitida no interior da coluna de fracionamento e, submetida a um fluxo de gás, com um valor desejado de velocidade superficial, até que se atinja uma altura de coluna de espuma pré-determinada. O suprimento de gás é interrompido e o sistema é mantido em repouso pelo tempo de drenagem desejada para a coluna de espuma. O líquido é separado da espuma e esta é coletada e colapsada, obtendo-se uma solução concentrada em material tensoativo (ROSA, 1996; THOMAS; WINKLER, 1977). Este tipo de operação pode ser empregado no estudo da drenagem da coluna de espuma e aplicada para obtenção de dados de equilíbrio entre os soluto tensoativo adsorvido na interface gás-líquido e presente na coluna de líquido (ROSA, 1996). O fracionamento com espuma operado em batelada foi aplicado nos estudos de drenagem de espumas formadas por soluções de plasma sanguíneo humano (KHACHATURYAN; ZAKHARCHENKO, 1989; ZAKHARCHENKO, 1990) e estudos voltados à cinética de drenagem de várias soluções protéicas (BRITTEN; LAVOIE, 1992; YU; DAMODARAM, 1991).

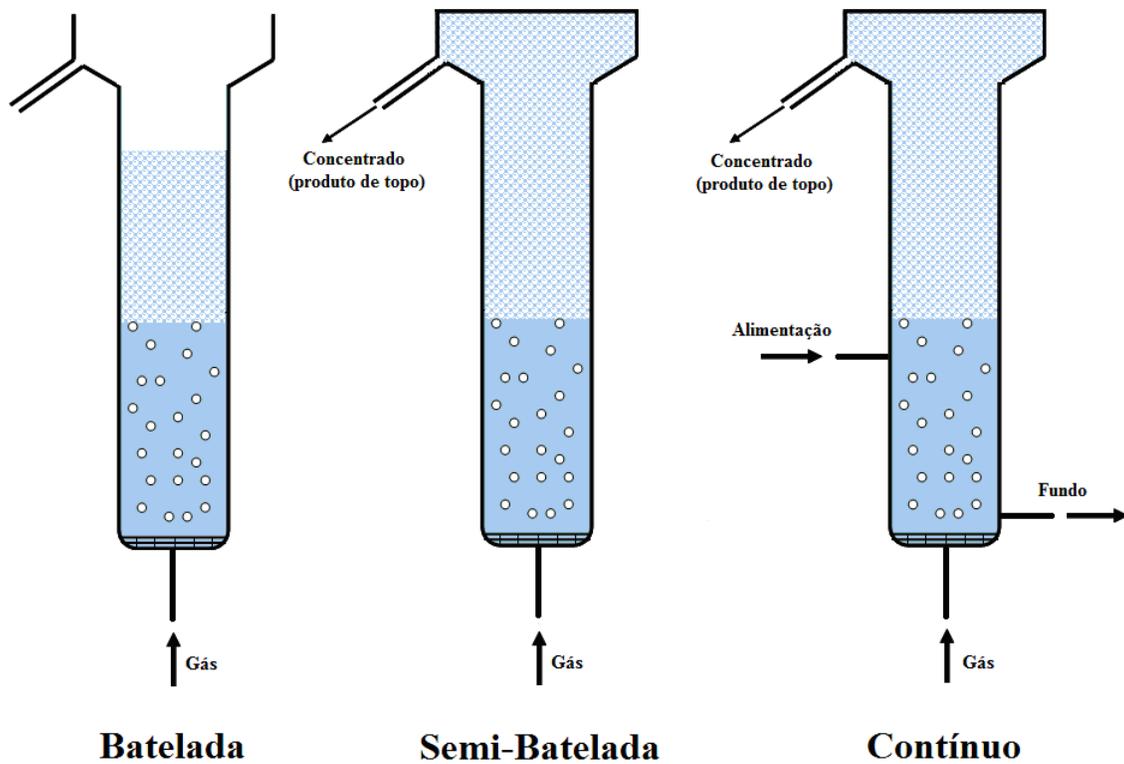


Figura 7 - Esquema dos modos de operação da coluna de fracionamento com espuma (Adaptado de ROSA, 1996).

Na operação semi-batelada, a solução contendo material tensoativo é introduzida na coluna no início do processo e, posteriormente, é iniciada a injeção de gás pela base da coluna, com vazão controlada. A espuma, produzida continuamente, é então coletada e rompida no topo da coluna de fracionamento. A remoção de material tensoativo através da espuma resulta em seu empobrecimento na solução anteriormente introduzida na coluna. O sistema pode ser caracterizado pela variação temporal dos parâmetros como a altura da coluna de líquido, a vazão de espuma, o diâmetro das bolhas formadas pela alimentação de gás e as concentrações do material tensoativo presente na espuma e na coluna de líquido (ROSA et al., 2007). O fracionamento com espuma semi-batelada tem sido utilizado para separar, concentrar e recuperar diversos compostos tensoativos. Desta forma, o processo foi utilizado para a separação de misturas de urease e catalase (LONDON et al., 1954), misturas de amilase e catalase (CHARM et al., 1966) e aplicado em estudos voltados ao fracionamento de albumina de soro bovino (BSA) (LUCENA et al., 1996, 2000; ROSA et al., 2007), citocromo C (LUCENA et al., 1996; 2000), α -amilases de malte cevado (LUCENA et al., 1996) e estudos de concentração e recuperação de surfactina produzida por *Bacillus subtilis* (DAVIS et al., 2001); trabalho este discutido com mais detalhes na seção 2.5.4 deste capítulo.

Na operação contínua, a solução, contendo o material tensoativo, é alimentada continuamente no interior da coluna. Ao decorrer do processo, remove-se tanto a espuma colapsada, ou seja, o produto de topo, como também uma porção da solução presente no fundo da coluna. O processo contínuo é operado em estado estacionário e, por isso, pode ser caracterizado pelos valores constantes com o tempo dos parâmetros envolvidos no sistema (ROSA, 1996; THOMAS; WINKLER, 1977). O fracionamento com espuma operado continuamente tem sido utilizado para a recuperação e purificação de proteases da placenta humana (BHATTACHARYA et al., 1994; SARTAR et al., 1987) e de *Rizhopus oryzae* (BANERJEE et al., 1993).

2.5.4. Estudos de recuperação de surfactina em colunas de fracionamento com espuma

Davis et al., (2001) estudaram a recuperação e a concentração de surfactina produzida pelo cultivo de *Bacillus subtilis* ATCC 21332 utilizando-se colunas de fracionamento com espuma. Seu trabalho foi dividido em duas etapas: a primeira, empregando um sistema de fracionamento constituído por uma coluna de bolhas e espuma e a segunda, utilizando-se um sistema integrado, composto por uma coluna de fracionamento acoplada a um biorreator. A primeira etapa do trabalho foi caracterizada pela avaliação da eficácia da coluna de fracionamento levando-se em consideração resultados de recuperação e enriquecimento para posteriores aplicações do processo em sistemas integrados. O fracionamento de surfactina foi realizado em uma coluna cilíndrica, operada de modo semi-batelada, com diâmetro interno de 25 mm e 30 cm de altura, com curvatura no topo de 180 ° e saída da espuma em um recipiente de coleta (Figura 8). Os estudos de recuperação e concentração do biosurfactante foram efetuados em dois meios de cultura distintos: um previamente centrifugado, isto é, isento de células microbianas e o outro, contendo células em suspensão. A coluna foi alimentada com 25 mL do meio de cultura, ambos apresentando pH 7,0 e concentração de 440 mg/L de surfactina. O fracionamento foi realizado pela injeção de 60 mL/min de ar umidificado pela base da coluna, passando através de uma placa de vidro sinterizada.

Para os estudos de fracionamento de surfactina utilizando-se o meio de cultura com células em suspensão, obteve-se uma recuperação de 97,3 % ao decorrer do processo. Com relação ao enriquecimento, baixos valores foram alcançados. Obtiveram-se enriquecimentos médios de 1,3 e 8,4 vezes para as etapas inicial e final do processo, respectivamente. Por outro lado, nos estudos de fracionamento de surfactina utilizando-se o meio de cultura isento de células, a recuperação obtida foi de 97,1 % e o enriquecimento alcançou valores médios de 2,3 vezes para o estágio inicial e de 51,6 vezes no final do processo.

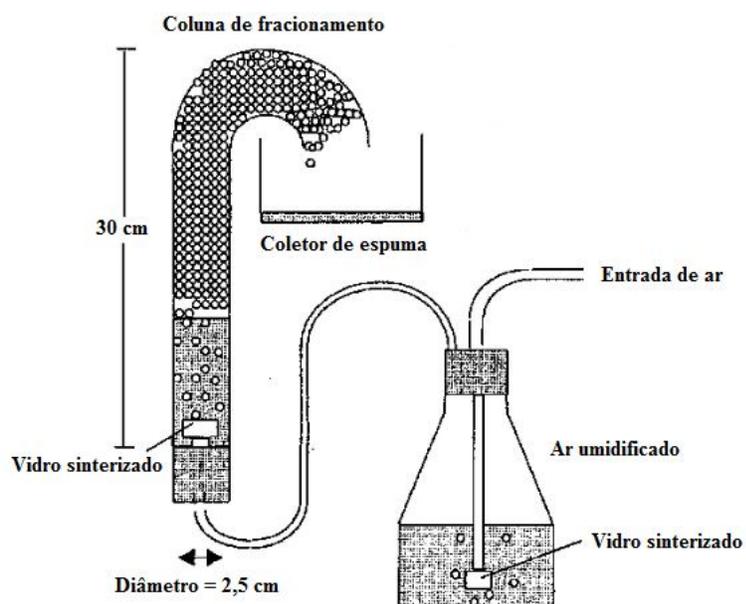


Figura 8 - Aparato experimental utilizado nos estudos de fracionamento de surfactina com espuma (Adaptado de DAVIS et al., 2001).

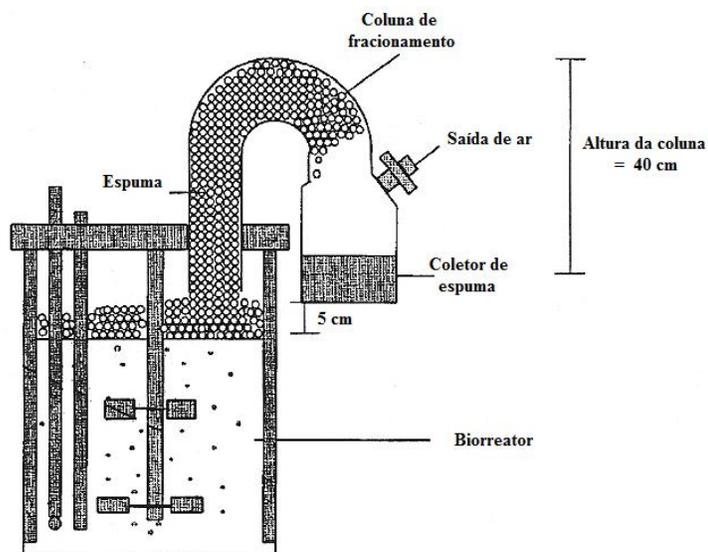


Figura 9 - Aparato experimental (sistema integrado) utilizado durante os estudos de produção e recuperação simultânea de surfactina (Adaptado de DAVIS et al., 2001).

Na segunda etapa do trabalho, foram estudadas a concentração e a recuperação de surfactina em conjunto com sua produção em um sistema integrado, a diferentes velocidades de agitação do meio de cultura. O sistema foi constituído por uma coluna de fracionamento de 25 mm de diâmetro interno e 40 cm de altura acoplada a um biorreator com 9,2 cm de diâmetro e 15 cm de altura (Figura 9). Durante a produção do biossurfactante, a própria agitação do meio de cultura propiciava a formação de espuma que, do biorreator, ascendia para a coluna de fracionamento sendo, ao final, coletada por um vaso aderido no topo da coluna. A concentração de surfactina presente na espuma provinda do meio de cultura em biorreator agitado a 146 rpm foi de 1,7 g/L com recuperação de 64,4 %, ao passo que, com agitação de 166 rpm, a concentração foi de 1,2 g/L e a recuperação de 71,4 % do biossurfactante. Quanto ao enriquecimento, foram obtidos valores da ordem de 60 vezes para ambas as velocidades de agitação.

Outro estudo voltado à produção e recuperação simultânea de surfactina foi reportado por Chen et al., (2006). Em seu trabalho, a surfactina foi produzida, em batelada, pelo cultivo de *Bacillus subtilis* BBK 006 realizado em biorreator com 30 cm de altura e 12 cm de diâmetro, mantido a 30 °C, pH 7,0 (Figura 10). A recuperação do biossurfactante foi realizada em coluna de fracionamento com diâmetro interno de 24 mm e altura de 45 cm, acoplada ao biorreator. No topo da coluna, um recipiente de coleta encontrava-se aderido, na qual hélices, com pás rotativas de 50 mm de diâmetro, eram responsáveis pelo colapso da espuma produzida no biorreator e provinda da coluna de fracionamento. A concentração média de surfactina presente na espuma, formada pela agitação do meio de cultura, foi de aproximadamente 1,8 g/L. Neste estudo, alcançou-se uma recuperação de 92,3 % e um enriquecimento médio em torno de 50 vezes.

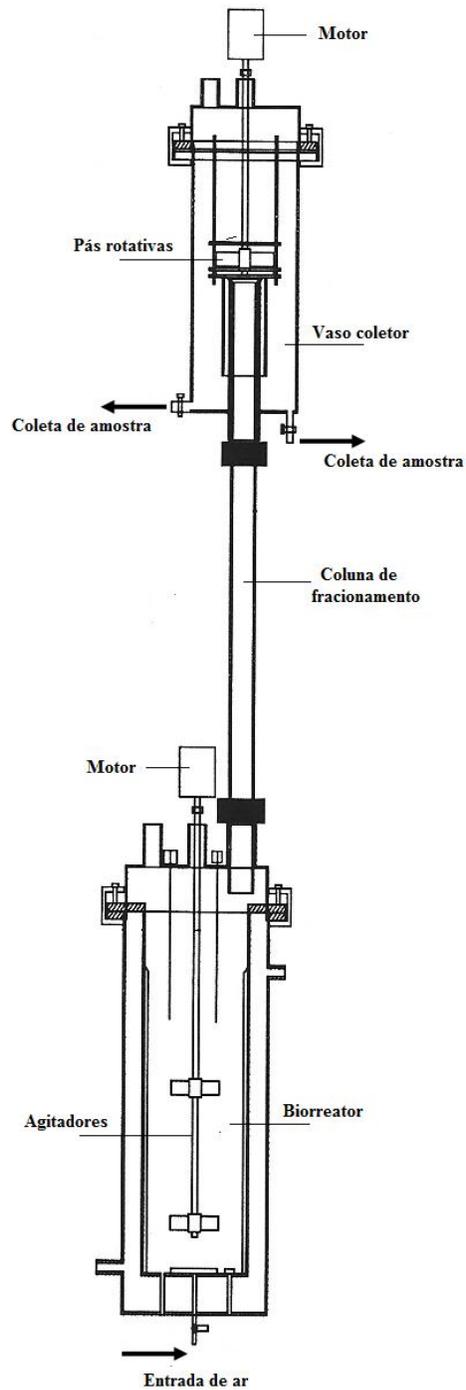


Figura 10 - Diagrama esquemático do aparato experimental utilizado no processo integrado de produção e recuperação de surfactina por fracionamento com espuma (Adaptado de CHEN et al., 2006).

2.5.5. Determinação do diâmetro das bolhas na coluna de líquido

O diâmetro de bolhas pode ser apontado como uma variável importante em processos que utilizam coluna de bolhas e espuma para separar ou concentrar materiais tensoativos visto que há uma relação direta desta variável com a interface gás-líquido, região na qual ocorre a adsorção destes materiais.

Entre os métodos aplicados para se determinar o diâmetro de bolhas em coluna de líquido, citam-se o método fotográfico e a análise de fluxo “drift”, ambos reportados por Rosa (1996).

O método fotográfico permite obter a distribuição do diâmetro de bolhas através de medidas diretas. No entanto, sua aplicação torna-se inviável quando são realizados experimentos utilizando-se altos valores de fração de gás. As imagens, obtidas por este método, podem ainda sofrer distorções devido a curvatura da coluna. Rosa et al., (2007) aplicou o método fotográfico para obter a distribuição do diâmetro de bolhas de gás em uma coluna de fracionamento com espuma. Seu aparato experimental foi constituído por uma câmera equipada com lentes, duas lâmpadas de tungstênio de 250 W e um difusor de luz. A distorção provocada pela curvatura da coluna foi determinada com o auxílio de um fio de aço inoxidável e os diâmetros das bolhas foram obtidos mediante revelação e projeção do filme em papel branco.

Quanto ao método conhecido como análise de fluxo “drift”, vários são os trabalhos que o apontam para a determinação do diâmetro de bolhas, através de medidas indiretas, em processos de flotação (DOBBY et al., 1988; XU; FINCH, 1991). Neste método, mede-se a fração de gás média através da queda de pressão entre dois pontos tomados na coluna e, posteriormente, calcula-se a velocidade terminal das bolhas de gás. Pelas relações matemáticas, apontadas por Dobby et al., (1988), pode-se, então, calcular o diâmetro das bolhas. Apesar da facilidade em se obter os dados para o cálculo do diâmetro das bolhas, o método permite obter apenas o diâmetro médio e ainda, deve-se assumir um modelo hidrodinâmico para a coluna de líquido.

Outros métodos, além dos citados acima, também podem ser empregados na determinação de diâmetro de bolhas; métodos estes desenvolvidos com base em medições ópticas e que são aplicados nos estudos de fluxo gás-líquido em coluna de bolhas. Tais métodos, além de fornecerem a distribuição precisa do diâmetro de bolhas, também fornecem informações valiosas a respeito da fração de vazios de um gás e do campo de velocidade de bolhas gasosas dispersas em um meio líquido.

Zaruba et al., (2005) reporta alguns estudos relatados na literatura enfocando técnicas de medição óptica direcionadas a determinação da distribuição de diâmetros e campo de velocidade de bolhas ou partículas. Assim, são citados os trabalhos de Broder e Sommerfeld (2000) que determinaram o tamanho e a velocidade das bolhas através da combinação das técnicas de velocimetria por acompanhamento de partículas (PTV) e velocimetria por imagem de partícula (PIV) e o trabalho de Nishino et al., (2000), que demonstrou a alta precisão da técnica Shadow Imaging para se determinar a velocidade e o tamanho de partículas, obtidas com o auxílio de duas câmeras CCD e analisadas por softwares que detectam precisamente o perímetro de partículas esféricas e não-esféricas.

A distribuição do diâmetro de bolhas será determinada, no presente trabalho, através da técnica Shadow Imaging (SIT). Baseada em imagens de alta resolução com iluminação a luz pulsada, esta técnica permite investigar tamanhos, velocidades, formas e posições de partículas, bolhas, gotículas e demais estruturas, independentemente da forma e do material que as constitui, abaixo da escala micro utilizando-se um sistema óptico apropriado. A fonte de luz pode ser um laser pulsado com iluminação óptica especial ou uma lâmpada de flash. A técnica será descrita com mais detalhes na seção 3.5 do capítulo 3 deste trabalho.

O diâmetro médio das bolhas que podem ser calculados a partir da distribuição do diâmetro das bolhas envolve (HARTLAND et al., 1993)

- Média aritmética:
$$d_b = \frac{\sum n_i d_{b_i}}{\sum n_i} \quad (13)$$

- Relação área-diâmetro:
$$d_b = \frac{\sum n_i d_{b_i}^2}{\sum n_i d_{b_i}} \quad (14)$$

- Relação volume-diâmetro: $d_b = \sqrt{\frac{\sum n_i d_{b_i}^3}{\sum n_i d_{b_i}}}$ (15)

- Relação volume-área: $d_b = \frac{\sum n_i d_{b_i}^3}{\sum n_i d_{b_i}^2}$ (16)

equações na qual n_i representa a fração de bolhas com diâmetro d_{b_i} .

O diâmetro médio a ser utilizado depende da aplicação desejada. Para o caso envolvendo o fracionamento com espuma, utiliza-se a relação entre o volume e a área das bolhas. Portanto, o diâmetro médio é calculado pela relação (16), obtendo-se, como resultado, o diâmetro médio de Sauter (ROSA, 1996).

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentados e descritos os principais materiais e os métodos utilizados neste trabalho para o fracionamento de soluções de surfactina em coluna de bolhas e espuma operada de modo semi-batelada.

3.1. Surfactinas utilizadas

As surfactinas utilizadas neste trabalho provieram de duas fontes: (i) surfactina padrão de *Bacillus subtilis*, lote 1224932, massa molar 1036,34 g/mol com pureza de 98 %, adquirida da Sigma-Aldrich, utilizada para a obtenção da curva analítica; e (ii) surfactina semipurificada, produzida por *Bacillus subtilis* linhagem LB5a, fornecida pelo Laboratório de Bioaromas da Faculdade de Engenharia de Alimentos (DCA/FEA/UNICAMP), utilizada para a obtenção das isotermas de adsorção de Gibbs.

3.2. Curva analítica de surfactina

Uma suspensão de surfactina padrão com 98 % de pureza foi preparada na concentração de 20 mg/L, pesando-se aproximadamente 2,0 mg do biosurfactante em balança analítica Mettler/AJ150 e adicionando-o em 100 mL de água ultra pura, com resistividade de 18,2 Mohm/cm. A suspensão foi agitada constantemente através de agitador magnético durante 24 horas e mantida a 45 °C em banho termostatizado. Em intervalos de 12 horas de agitação, a suspensão era sonicada em sonicador Cole-Parmer ® / modelo 8892 por 35 minutos, visando acelerar a solubilização de surfactina em meio

aquoso. Partindo-se dessa solução, foram obtidas através de sucessivas diluições, soluções com concentração variando-se de 0 a 20 mg/L de surfactina, as quais, mediram-se suas respectivas tensões superficiais, a 25 °C, adotando-se o método do anel de Du Nouy (1919), a qual será descrito com detalhes na seção 3.3.5 deste capítulo (Figura 11). Então, obteve-se a curva analítica que relaciona a tensão superficial de surfactina, dada mN/m, com a sua concentração, expressa em mg/L.

3.3. Fracionamento de surfactina

3.3.1. Preparação e padronização das soluções de surfactina

A solução de surfactina foi cedida pelo Laboratório de Bioaromas da Faculdade de Engenharia de Alimentos (DCA/FEA/UNICAMP). Foi obtida a partir da liquefação da espuma, recolhida do interior do biorreator e colapsada, naturalmente, em frasco coletor, acoplado ao sistema. A surfactina foi produzida durante a fermentação da manipueira (resíduo líquido gerado pela prensagem de raízes de mandioca nos processos de fabricação de farinha e fécula) através da bactéria *Bacillus subtilis* linhagem LB5a. A solução, previamente centrifugada para a remoção das células microbianas, foi fornecida numa faixa de concentração de surfactina de 1,5 a 2,0 g/L com pH variando-se entre 6,5 a 7,2.

Para a realização dos experimentos, a solução de surfactina foi diluída em balão volumétrico de 500 mL com água ultra pura obtida do processo Milli-Q Plus a 14 % (v/v), 23 % (v/v) e 40 % (v/v), correspondendo às concentrações de 240, 400 e 700 mg/L de surfactina, respectivamente. O pH das soluções foi medido em pHmetro da marca Digimed®/ modelo DM-20 e corrigido, quando necessário, para pH 7,0 pela adição de NaOH 0,1 mol/L e HCl 0,1 mol/L, ambos adquiridos da Labsynth®.

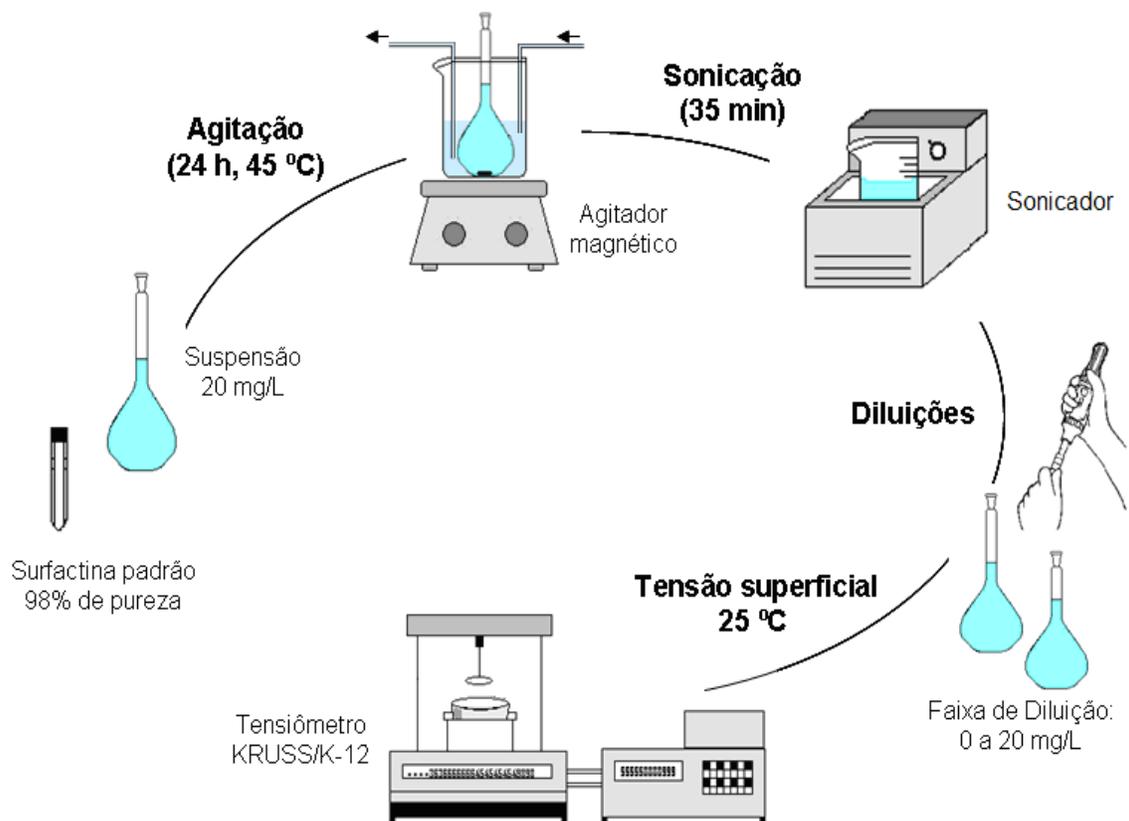


Figura 11 - Esquema experimental utilizado para a dissolução de surfactina padrão e obtenção da curva analítica.

3.3.2. Planejamento experimental

Para a identificação das possíveis variáveis que afetam ou não significativamente o processo de fracionamento de surfactina em coluna de bolhas e espuma e a escolha de seus respectivos níveis os quais permitem obter os melhores resultados experimentais, foi utilizado neste trabalho um planejamento de experimentos (BARROS NETO et al., 2007) que consistiu de um fatorial completo 2^3 com três repetições no ponto central, totalizando um conjunto de 11 ensaios. Foram estudadas no processo as seguintes variáveis: a vazão volumétrica de gás nitrogênio introduzido na coluna (mL/min), a concentração de surfactina presente na solução (mg/L) e a temperatura de operação da coluna de fracionamento ($^{\circ}\text{C}$), todas avaliadas em três níveis (Tabela 5).

Tabela 5. Variáveis avaliadas com seus respectivos níveis utilizados no planejamento fatorial completo 2^3 .

Variáveis		Níveis		
<i>Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)</i>	X_1	15	25	35
<i>Vazão vol. (mL/min)</i>	X_2	20	40	60
<i>Concentração inicial (mg/L)</i>	X_3	240	400	700

Os valores dos níveis das respectivas variáveis avaliadas foram codificados conforme a seguinte equação:

$$x_i = \left[\frac{(X_i - X_0)}{(\Delta X_i / 2)} \right] \quad (17)$$

na qual x_i é o valor adimensional (codificado) do nível da variável avaliada, X_i e o valor do nível da variável escolhida a ser codificado, X_0 é o valor do nível médio ou do ponto central da variável e ΔX_i é a amplitude da variável, ou seja, a diferença entre os valores de seus níveis superior e inferior.

Os ensaios, realizados aleatoriamente na coluna de fracionamento, estão dispostos em ordem padrão na matriz do planejamento fatorial (Tabela 6). Como repostas do planejamento, foram obtidos dados de recuperação (R), em porcentagem, e enriquecimento (E) de surfactina na coluna de bolhas e espuma para todas as possíveis combinações dos níveis das variáveis. Seus valores foram utilizados para estimar os efeitos das variáveis (vazão, concentração e temperatura) sobre as respostas e, então, definir estatisticamente, quais e quanto estas variáveis afetam significativamente o processo de fracionamento do biosurfactante.

Tabela 6. Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 com replicata no ponto central.

Variáveis Ensaio	Níveis codificados			Níveis reais		
	x_1	x_2	x_3	Vazão vol. (mL/min)	Concentração (mg/L)	Temperatura (°C)
1	-1	-1	-1	20	240	15
2	1	-1	-1	60	240	15
3	-1	1	-1	20	700	15
4	1	1	-1	60	700	15
5	-1	-1	1	20	240	35
6	1	-1	1	60	240	35
7	-1	1	1	20	700	35
8	1	1	1	60	700	35
9	0	0	0	40	400	25
10	0	0	0	40	400	25
11	0	0	0	40	400	25

3.3.3 Aparato experimental

O aparato utilizado nos experimentos consiste em uma coluna de fracionamento totalmente construída em vidro com 120 cm de altura que, durante sua operação, pode ser dividida em duas porções: uma inferior, denominada coluna de líquido ou de bolhas, e a outra superior, denominada coluna de espuma com diâmetros internos de 75 e 30 mm,

respectivamente (Figura 12). A coluna, posicionada verticalmente, possui ao longo de seu comprimento uma jaqueta térmica por onde foi realizada a circulação de água com a temperatura controlada por um banho termostático da marca Endocol® / modelo RTE-110. Na porção inferior da coluna, há um prolongamento lateral constituído por uma mangueira de silicone aderida a um funil de vidro por onde se alimenta inicialmente a coluna. Na extremidade inferior dessa porção, há um distribuidor constituído por um disco de vidro sinterizado e através do qual o gás é introduzido pela base da coluna. A cinco centímetros acima do distribuidor, encontra-se um canalículo inserido para retiradas de amostras do líquido alimentado. O gás utilizado no processo foi nitrogênio pressurizado, fornecido pela White Martins® e armazenado em tubo de aço cilíndrico localizado próximo ao sistema. A vazão volumétrica do gás foi controlada manualmente por uma válvula agulha inserida na tubulação e medida com o auxílio de um rotâmetro, devidamente calibrado, da marca ALLBORG® com faixa de leitura compreendida de 0 a 100 mL/min. Antes de ser introduzido na coluna, o gás foi previamente borbulhado em água destilada contida em um umidificador.

Na extremidade da porção superior da coluna há uma região com curvatura acentuada que possibilitava a remoção da espuma arrastada pelo gás. Nesta região, está acoplado um termômetro de mercúrio utilizado para medidas de temperatura da espuma ao decorrer do processo e, posicionado justamente abaixo da mesma, há um recipiente de vidro para a coleta de espuma proveniente da coluna. Por sua vez, no interior do recipiente, encontra-se um quebrador de espuma constituído por uma haste de agitador com duas pás. Esta haste era impulsionada por um motor elétrico cuja rotação podia ser ajustada manualmente. O líquido ou produto de topo, resultante da ruptura das células de espuma, dirigia-se para o fundo do recipiente sendo, então, coletado como amostra para análise.

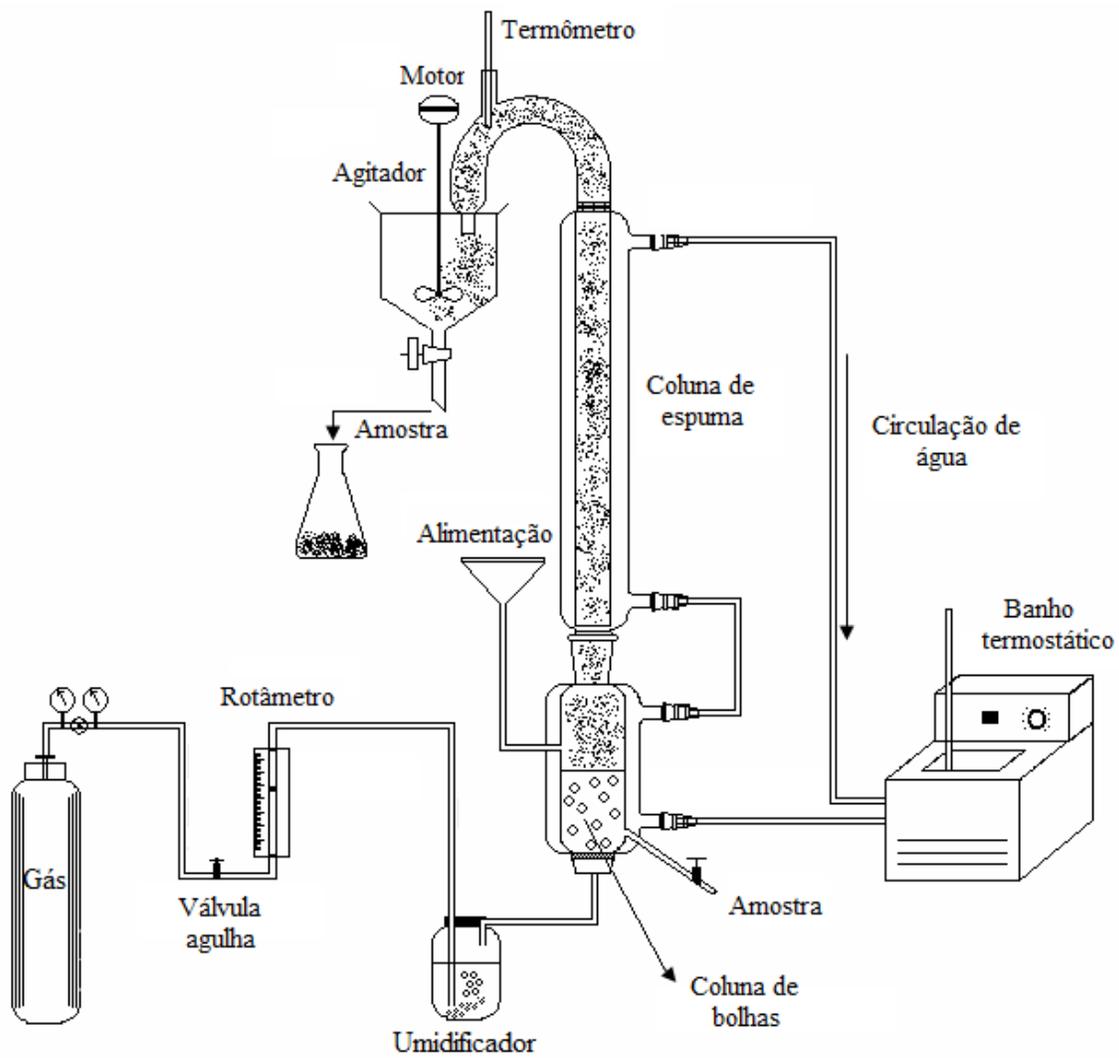


Figura 12 - Esquema do aparato experimental utilizado no fracionamento de surfactina em coluna de bolhas e espuma operada de modo semi-batelada.

3.3.4 Operação da coluna

Os experimentos iniciavam-se com a introdução de 500 mL de solução de surfactina, previamente preparada e padronizada, nas concentrações de 240, 400 e 700 mg/L na coluna de fracionamento, gerando uma coluna de líquido com 12 cm de altura. Após a alimentação da solução, aguardava-se um determinado intervalo de tempo para que o mesmo atingisse o equilíbrio térmico. Quando a solução de surfactina atingia a temperatura desejada (15, 25 e 35 °C), introduzia-se o gás nitrogênio umidificado pela base da coluna, nas vazões de 20, 40 e 60 mL/min. Provocava-se então o surgimento de bolhas através do distribuidor de vidro sinterizado e estas ascendiam na coluna de líquido. Um cronômetro era disparado quando as primeiras bolhas atingiam o ápice da coluna de líquido e aí, tem-se, então uma coluna de bolhas. Em intervalos de tempo regulares, 10 mL de amostra da coluna de bolhas eram coletadas através do canalículo localizado próximo ao distribuidor. As bolhas de gás ao saírem da coluna de bolhas provocavam o surgimento de uma coluna de espuma. A espuma formada era arrastada pelo gás e quando a mesma atingia o topo da coluna de fracionamento, coletava-se aproximadamente 1,5 mL de amostras do líquido ou produto de topo ao longo do tempo em intervalos pré-estabelecidos. A obtenção do produto de topo se dava pela ruptura das células de espuma que deixava a coluna devido à ação do agitador instalado no interior do recipiente de vidro, local sob a qual a espuma era despejada. As amostras do produto de topo e da solução de surfactina presente na coluna de bolhas eram coletadas em frascos apropriados e liam-se suas respectivas tensões superficiais a 25 °C. Após o término das leituras, as amostras eram descartadas.

A corrida experimental era finalizada quando se observava que a solução passava-se a formar pouca espuma, impossibilitando manter a sustentação da coluna de espuma até o topo, para a mesma vazão de gás. A partir de então, interrompia-se o fornecimento de gás para a coluna e desligava-se o motor que impulsionava o agitador.

Após o término de cada experimento, retirava-se a solução remanescente na coluna de fracionamento e todo o aparato experimental era lavado duas vezes com água destilada e finalmente enxaguada com água ultra pura obtida pelo processo Milli-Q Plus.

Os parâmetros monitorados durante os experimentos foram a altura da coluna de líquido, as concentrações de surfactina nas colunas de bolhas e de espuma, a temperatura de operação da coluna de fracionamento, a vazão volumétrica de gás nitrogênio e o volume de líquido ou produto de topo gerado pela ruptura das células de espuma.

3.3.5. Quantificação das amostras coletadas da coluna de bolhas e espuma

As amostras coletadas na coluna de bolhas (solução de surfactina) e espuma (produto de topo) foram quantificadas por tensiometria através de medidas realizadas por tensiômetro KRUSS/modelo K-12. As medidas foram efetuadas a 25 °C adotando-se o método do anel de Du Nouy (1919), em que se mede a força necessária para destacar um anel de platina de uma superfície líquida. As amostras, quando necessário, eram primeiramente diluídas para que os valores de tensão superficial medidos se enquadrassem na faixa de sensibilidade da curva analítica. As medidas eram iniciadas adicionando-se 10 mL da amostra a ser quantificada em uma célula de vidro e esta, por sua vez, era introduzida no tensiômetro, devidamente calibrado. A célula era elevada até uma posição em que o anel osculasse a superfície do líquido. Assim, as medidas de tensão superficial eram efetuadas (em mN/m) e as amostras quantificadas, em unidade de concentração, com o auxílio da curva analítica de surfactina.

Ao término de cada medida, a célula de vidro era lavada abundantemente com água destilada e levada à estufa para secagem. O anel de platina era flambado duas vezes: primeiro quando imerso em solução de etanol 70% (v/v) e, posteriormente, em água ultra pura obtida do processo Milli-Q Plus.

3.4. Obtenção das isotermas de Gibbs

Preparou-se uma solução aquosa pesando-se 5,0 mg de surfactina semipurificada em balança analítica Mettler/AJ150 e fazendo-se sua dissolução em água ultra pura sob agitação manual através de um bastão de vidro. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 250 mL e este, aferido com água ultra pura. Então, foi obtida uma solução com concentração de surfactina de 20 mg/L. Esta, por sua vez, foi sucessivamente diluída e, outras soluções, na faixa de concentração de 0 a 20 mg/L do biossurfactante foram obtidas e armazenadas em tubos Falcon. Os tubos eram encubados em banho termostaticado, mantido na mesma temperatura em que as tensões superficiais das respectivas soluções eram medidas (Figura 13). A tensão superficial foi medida nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C, adotando-se o método do anel de Du Nouy (1919) e realizada com o auxílio do tensiômetro KSV/ modelo Sigma 701, fornecido pelo Laboratório de Físico-química /Polímeros e surfactantes do Instituto de Química (DFQ/IQ/UNICAMP). A solução, quando retirada do banho, era imediatamente transferida para a célula de vidro e esta, por sua vez, introduzida no tensiômetro para realização das medidas, conforme método descrito na seção 3.3.5 deste capítulo. Assim, foram obtidas curvas de tensão superficial em função da concentração de surfactina para as temperaturas mencionadas. Aplicando-se a equação que descreve a lei de adsorção de Gibbs, foi possível obter as isotermas de adsorção, a qual relaciona a concentração de surfactina em excesso na superfície (Γ), dada em mol/cm², com a sua concentração molar, expressa em mol/cm³. As curvas da isoterma de adsorção de Gibbs foram ajustadas com base no modelo de adsorção de Langmuir. O modelo, por sua vez, foi validado através da análise de variância ANOVA (BARROS NETO et al., 2007), essencial para testar sua significância e a sua adequação às curvas experimentais.

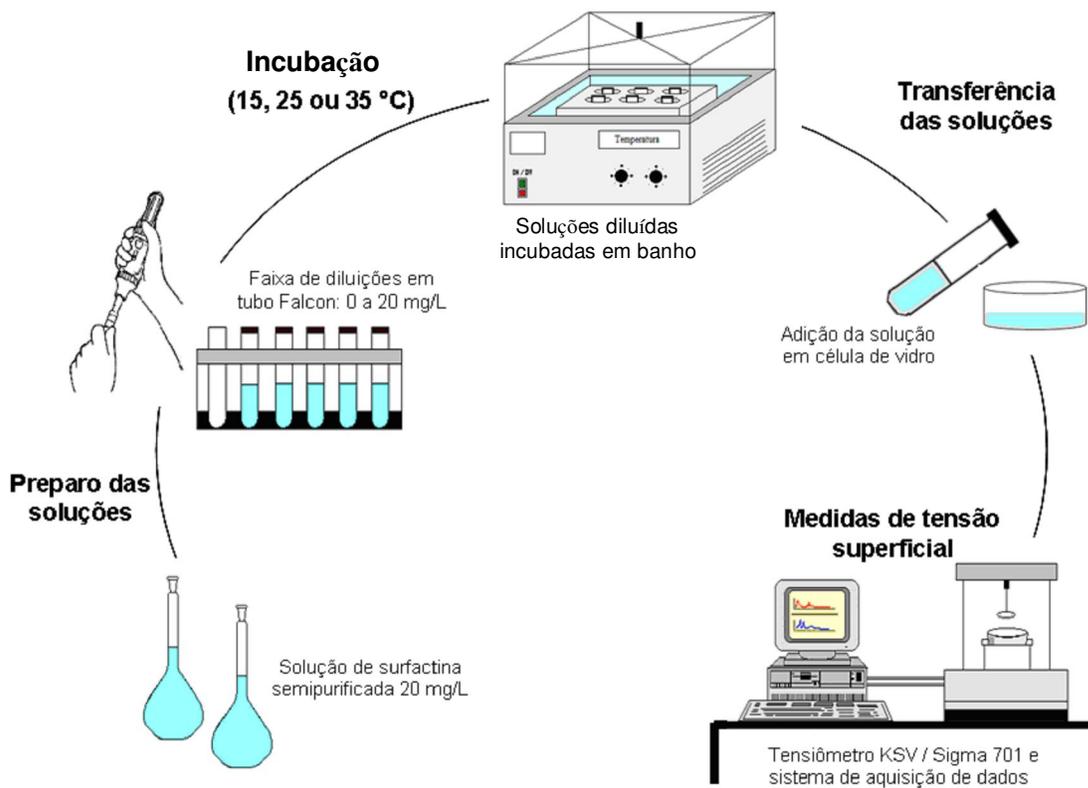


Figura 13 - Esquema experimental utilizado para obtenção das isotermas de adsorção de Gibbs.

3.5. Diâmetro das bolhas

3.5.1. Aparato experimental

O aparato utilizado nos experimentos para a determinação da distribuição do diâmetro de bolhas consiste basicamente por uma coluna integrada a um sistema de iluminação e detecção de imagens que, quando agrupados, compõem integralmente a técnica Shadow Imaging, aplicada neste trabalho (Figura 14).

A coluna utilizada foi totalmente construída em material acrílico com dimensões de 75 x 75 mm e altura de 80 cm. Em sua base, há um distribuidor constituído por um disco de vidro sinterizado através do qual o gás é introduzido. O gás utilizado foi o nitrogênio pressurizado, adquirido da White Martins ®, cujo armazenamento se deu em tubo de aço cilíndrico localizado próximo à coluna. A vazão volumétrica do gás foi controlada manualmente por uma válvula agulha inserida na tubulação e medida em rotâmetro ALLBORG ® com faixa de leitura compreendida entre 0 a 100 mL/min, devidamente calibrado com o próprio gás. Antes de ser introduzido na coluna, o gás foi previamente borbulhado em água destilada contida em umidificador.

O sistema de iluminação foi constituído por dois geradores de energia de 700 volts, ambos integrados a duas fontes geradoras de laser de alta potência da Quantel. Feixes de laser Nd:YAG (Neodímio-dopado Ítrio Alumínio Garneto, $\text{Nd:Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$) foram gerados por íons de neodímio (Nd^{3+}) e emitidos no comprimento de onda $\lambda = 532$ nm, através de pulsos de 5 a 10 nanosegundos de duração com energia de até 400 mJ. Integrado às fontes, há um colimador LaVision®, responsável pela convergência dos feixes de raio laser, o qual encontra-se conectado, através de cabos de fibra óptica, a um difusor LaVision® com 135 mm de diâmetro, cuja entrada acomoda uma lente esférica negativa com abertura de foco f 10 mm e, a saída, um prato fluorescente.

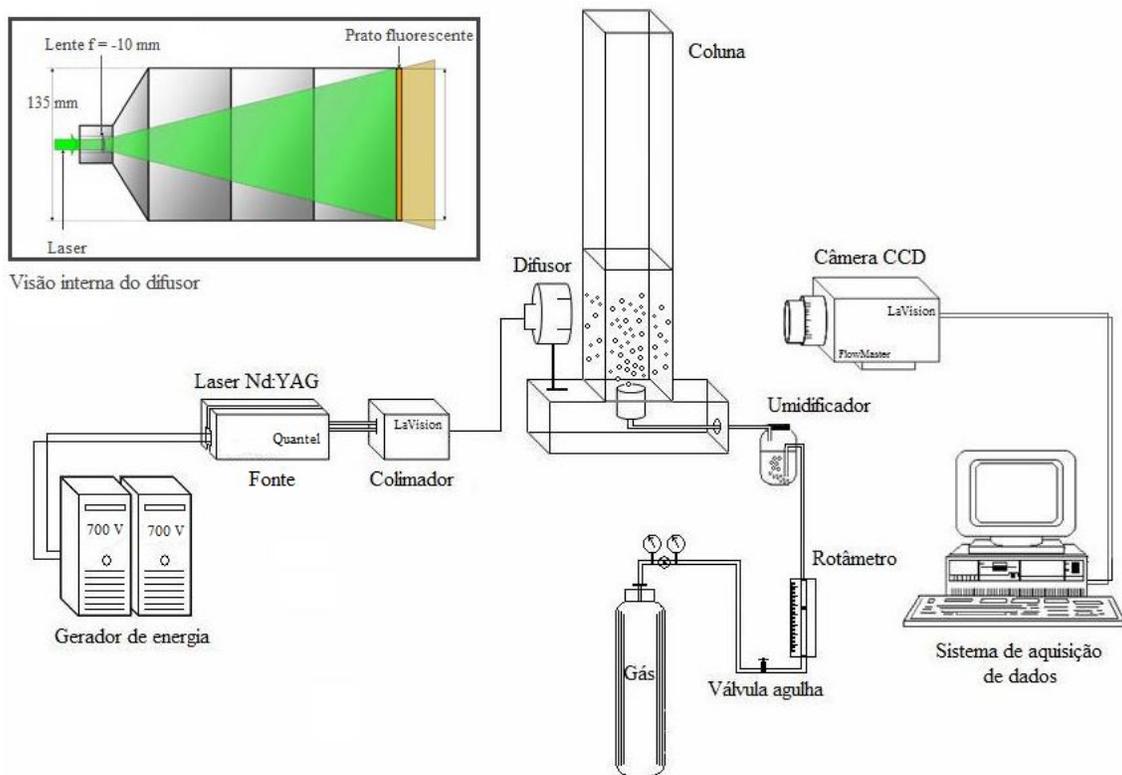


Figura 14 - Esquema do aparato experimental utilizado para a determinação da distribuição do diâmetro de bolhas

O sistema de detecção de imagens, localizado a 2 metros da coluna, foi constituído por uma câmara modelo Imager Intense cross-correlation da Lavision®, de alta resolução e alta sensibilidade, dotada de sensores CCD (Charge-Coupled Device) as quais convertem luz (fótons) em cargas elétricas (elétrons). A câmara foi equipada com uma lente objetiva Nikon Micro 60 mm focal length, F/2.8, F-mount, abertura de foco f 4 mm, com capacidade de detecção de bolhas com tamanhos entre 5 a 500 μm , além de uma sincronizadora PTU-9 Internal, 10 ns de tempo de resolução da Lavision®. A câmara está integrada a um microcomputador de alto desempenho, INTEL quad core 2 com 4 Gb de memória e 250 Gb de disco rígido, utilizado para a aquisição dos dados obtidos. Estes, por sua vez, foram analisados com o auxílio do software DaVis ® versão 7.2 da LaVision®, das quais foram obtidos a fonte e o processamento das imagens (tamanho das bolhas) e resultados estatísticos (diâmetros de Sauter).

3.5.2. Determinação do diâmetro das bolhas

A distribuição do diâmetro das bolhas foi obtida para a solução de surfactina, previamente preparada e padronizada, para as vazões do gás de 20, 40 e 60 mL/min e concentrações do biossurfactante iguais a 240, 400 e 700 mg/L.

Os experimentos foram realizados em coluna de acrílico sem curvatura para garantir maior transmissão de luz e minimizar os efeitos de distorção das imagens obtidas. O sistema de detecção de imagem foi calibrado fazendo-se ajustes do plano focal através de regulagens manuais da lente da câmara com o auxílio de um objeto com espaçamento conhecido (régua metálica) localizado em um plano no centro da coluna. Com o ajuste do foco realizado, fez-se na sequência a capturação de uma imagem para a determinação da relação pixel versus comprimento. Assim, definiu-se um fator de conversão, utilizado pelo software, de 0,0600962 pixel/mm. Foi necessário também calibrar o sistema de iluminação, realizando-se sucessivos ajustes de intensidade do raio laser a ser emitido para que as imagens capturadas apresentassem boa resolução. Associado a calibração, foi preciso obter

uma imagem de referência da solução de surfactina (Apêndice C) sem a presença de bolhas, utilizada para inverter a imagem contrastada, subtraindo da imagem de referência a imagem capturada. Com a imagem invertida, as maiores intensidades da escala de cinza estão nas bolhas e as menores, ao fundo. A imagem de referência também foi indispensável para a normalização da imagem resultante, evitando erros sistemáticos de iluminação não homogênea do fundo.

Os experimentos iniciavam-se com a adição de 500 mL de solução de surfactina, gerando uma coluna de líquido com 12 cm de altura. Introduzia-se, então, o gás nitrogênio umidificado pela base da coluna, provocando-se o surgimento de bolhas através do distribuidor de vidro sinterizado e estas ascendiam na coluna de líquido. Em ambiente escuro, os sistemas de iluminação e detecção de imagens eram acionados, imediatamente. A luz, obtida a partir do raio laser gerado, era emitida pelo difusor e varria toda a altura da coluna que continha a solução. Com a passagem de luz pela solução, as imagens das sombras formadas pelas bolhas eram captadas pela câmera que, instantaneamente, enviavam-nas ao software para tratamento dos dados obtidos. Pelo sistema de detecção, foi possível obter 5 imagens por segundos para cada experimento. No entanto, foram tratadas pelo software somente as imagens em que as bolhas apareciam nitidamente.

Ao término de cada experimento, a solução de surfactina era removida da coluna e esta, lavada com água ultra pura obtida pelo processo Milli-Q Plus. Os sistemas de iluminação e detecção de imagens eram novamente calibrados.

Com os valores dos diâmetros das bolhas determinou-se a distribuição dos diâmetros das bolhas e então se calculou um diâmetro médio para representar as bolhas na coluna de líquido. Utilizou-se o diâmetro médio de Sauter (equação 16) para calcular o diâmetro médio das bolhas.

CAPÍTULO 4

MODELAGEM MATEMÁTICA

Neste capítulo é mostrado o modelo que descreve a variação da concentração de material tensoativo com o tempo na coluna de bolhas e espuma, demonstrado por ROSA (1996). Foram realizados balanços de massa para o tensoativo na coluna de líquido e na superfície das bolhas em conjunto com o balanço global de massa aplicado na coluna de líquido.

4.1. Interpretação física do processo

Considere a coluna de bolhas e espuma esquematizada na Figura 15. Injeta-se gás na base da coluna de líquido gerando bolhas que, durante sua ascensão, adsorvem moléculas tensoativas as quais são levadas à seção de espuma ou enriquecimento. As moléculas, presentes em uma fina camada ao redor das bolhas, são adsorvidas de maneira completa e instantânea na interface gás-líquido. Nesta formulação matemática, considera-se ainda que as concentrações de tensoativo presentes na superfície e na camada ao redor das bolhas se encontram em equilíbrio. A concentração de tensoativo na camada ao redor das bolhas aumenta durante a ascensão das bolhas de gás na coluna de líquido como resultado da transferência de massa que ocorre devido ao gradiente de concentração existente entre essa região e o seio do líquido. Por sua vez, na interface entre a coluna de líquido e a seção de espuma, uma determinada quantidade de líquido é arrastada pelas bolhas e uma fração do mesmo retorna para a coluna de líquido devido à drenagem resultante no processo (LUGON Jr. et al., 2009).

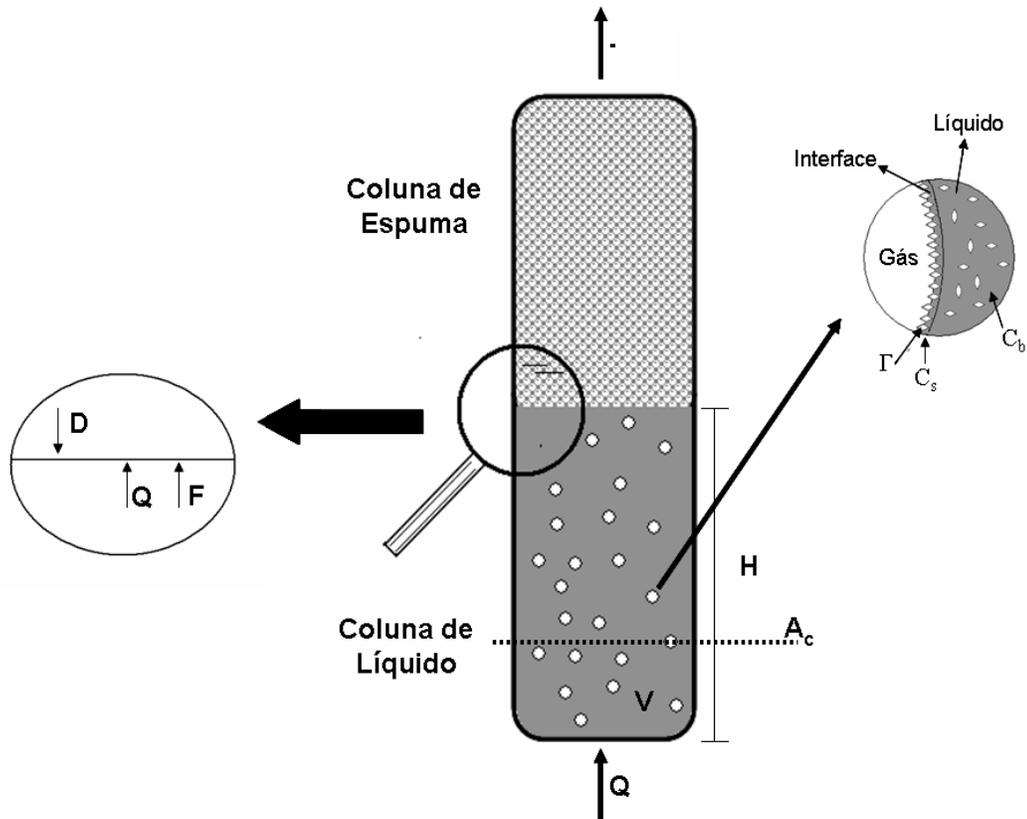


Figura 15 - Desenho esquemático da coluna de bolhas e espuma e da adsorção de material tensoativo na superfície das bolhas de gás.

Q – vazão volumétrica do gás;

F – vazão volumétrica de líquido arrastado da coluna de líquido;

D – vazão volumétrica de líquido drenado para a coluna de líquido;

H – altura da coluna de líquido;

C_S – concentração de tensoativo na camada ao redor das bolhas;

C_b – concentração de tensoativo no seio do líquido;

Γ – concentração superficial do tensoativo;

A_c – área da seção transversal da coluna de líquido;

V – volume da coluna de líquido.

4.2. Balanço de massa para o tensoativo na coluna de líquido

Partindo-se da expressão geral para o balanço de massa, tem-se que:

$$\boxed{\text{Acúmulo de tensoativo na coluna de líquido}} = \boxed{\text{Massa de tensoativo que entra na coluna de líquido por unidade de tempo}} - \boxed{\text{Massa de tensoativo que sai da coluna de líquido por unidade de tempo}} \quad (18)$$

podendo, em termos matemáticos, ser escrita como:

$$\frac{d(m_{CL})}{dt} = m_D - m_F \quad (19)$$

equação na qual m_{CL} representa a massa de tensoativo presente na coluna de líquido e m_D e m_F referem-se às vazões mássicas de tensoativo drenado e arrastado na coluna, respectivamente.

A vazão mássica de líquido drenado da coluna de espuma para a coluna de líquido pode ser expressa como o produto entre a vazão volumétrica de líquido drenado e a concentração de tensoativo presente neste líquido, representada por C_D . Logo,

$$m_D = D.C_D \quad (20)$$

Quanto ao líquido arrastado da coluna de líquido, considera-se a sua distribuição em duas regiões: no líquido presente na região superficial e na região intersticial das bolhas. O volume de líquido associado com a espuma na interface entre ambas as colunas é grande e sua maior parte localiza-se na região intersticial da espuma (ROSA, 1996). A região superficial apresenta um pequeno volume e baixa fração de líquido. Portanto, considera-se que a vazão volumétrica de líquido arrastado é aproximadamente igual a vazão volumétrica de líquido na região intersticial, ou seja,

$$F = F_i + F_s \approx F_i \quad (21)$$

equação na qual F_i e F_s representam as vazões volumétricas de líquido nas regiões intersticial e superficial, respectivamente.

Com relação a vazão mássica do tensoativo, não se pode aplicar a mesma consideração adotada acima uma vez que a concentração superficial das moléculas é elevada devido ao fenômeno de adsorção que ocorre na superfície das bolhas. Logo, a vazão mássica total de líquido arrastado pode ser matematicamente representada por:

$$m_F = m_i + m_s \quad (22)$$

a qual m_i e m_s referem-se às vazões mássicas de tensoativo presente nas regiões intersticial e superficial, respectivamente.

A vazão mássica intersticial pode ser dada pelo produto entre a vazão volumétrica intersticial e a concentração de tensoativo presente nesta corrente. Já a vazão mássica superficial é igual ao produto entre o número de bolhas produzidas por unidade de tempo, a área de cada bolha e a concentração superficial do tensoativo. Portanto, a equação (22) pode ser escrita como:

$$m_F = F_i \cdot C_F + \eta \cdot A_b \cdot \Gamma_{saída} = F_i \cdot C_F + \left(\frac{Q}{V_b} \right) \cdot A_b \cdot \Gamma_{saída} \quad (23)$$

a qual η é o número de bolhas produzidas por unidade de tempo e obtido através da razão entre a vazão volumétrica de gás, Q , e o volume de uma bolha, V_b ; A_b é a área de uma bolha de gás, $\Gamma_{saída}$ é a concentração superficial de tensoativo na saída da coluna de líquido e C_F refere-se a concentração de tensoativo na região intersticial.

A massa total de tensoativo existente na coluna de líquido está distribuída na superfície das bolhas e dissolvida no seio do líquido da coluna, sendo matematicamente escrita como:

$$m_{CL} = (1 - \varepsilon_g) \cdot V \cdot C_b + \left(\frac{V}{V_b} \right) \cdot \varepsilon_g \cdot A_b \cdot \Gamma_m \quad (24)$$

O primeiro e o segundo termo da equação (24) referem-se às massas de tensoativo dissolvida no líquido e distribuída na superfície das bolhas, respectivamente. Na equação, V é o volume da coluna de líquido, ε_g a fração gasosa, Γ_m é a concentração superficial média do tensoativo na coluna de líquido e C_b a concentração do tensoativo presente no líquido da coluna.

Substituindo as equações (20), (23) e (24) na equação (19), obtém-se a equação do balanço de massa para o tensoativo na coluna de líquido, dada por:

$$\frac{d}{dt} \left[C_b V \cdot (1 - \varepsilon_g) + \left(\frac{V}{V_b} \right) \varepsilon_g \cdot A_b \cdot \Gamma_m \right] = D \cdot C_D - F \cdot C_F - \left(\frac{Q}{V_b} \right) \cdot A_b \cdot \Gamma_{saída} \quad (25)$$

No entanto, a equação (25) pode ser simplificada aplicando-se três considerações relevantes apontadas por ROSA (1996):

- (i) O segundo termo da derivada pode ser desprezado, pois a quantidade de tensoativo presente no líquido é muito maior que a distribuída na superfície das bolhas, ou seja:

$$C_b \cdot V \cdot (1 - \varepsilon_g) \gg \left(\frac{V}{V_b} \right) \cdot \varepsilon_g \cdot A_b \cdot \Gamma_m$$

- (ii) A concentração de tensoativo no líquido intersticial é igual a concentração de tensoativo na coluna de líquido, pois o líquido intersticial é proveniente do arraste da solução que compõe a coluna de líquido, isto é, $C_F = C_b$;
- (iii) A concentração de tensoativo presente na corrente de drenagem é aproximadamente igual a concentração de tensoativo existente no líquido da

coluna, condição esta válida para taxa de coalescência baixa das bolhas na coluna de espuma. Portanto, $C_D \approx C_b$.

Finalmente, a equação (25) resume-se a:

$$\frac{d}{dt} [C_b \cdot V \cdot (1 - \varepsilon_g)] = D \cdot C_b - F \cdot C_b - \left(\frac{Q}{V_b} \right) \Gamma_{saída} \cdot A_b \quad (26)$$

que, quando manipulada algebricamente, torna-se:

$$\left\{ D - F - \frac{d}{dt} [V \cdot (1 - \varepsilon_g)] \right\} \cdot C_b = \left(\frac{Q}{V_b} \right) \cdot A_b \cdot \Gamma_{saída} + V \cdot (1 - \varepsilon_g) \frac{dC_b}{dt} \quad (27)$$

4.3. Balanço global de massa na coluna de líquido

Na saída da coluna de líquido, uma determinada quantidade de líquido é arrastada pelas bolhas de gás que entram na coluna de espuma e uma fração do mesmo retorna à coluna de líquido pelo efeito da drenagem da espuma (Figura 15). Assume-se que o gás, utilizado no processo, entra na coluna saturado com água, evitando a evaporação do líquido; portanto, a concentração do gás permanece constante ao longo da coluna de fracionamento (ROSA et al., 2007)

Aplicando-se a equação (18), ou seja, a equação geral do balanço de massa na coluna de líquido, obtém-se que:

$$\frac{dm_{CL}}{dt} = D \cdot \rho_D - F \cdot \rho_F \quad (28)$$

equação na qual m_{CL} é a massa de tensoativo presente na coluna de líquido, D é a vazão volumétrica de líquido drenado da coluna de espuma na entrada da coluna de líquido, F é a

vazão volumétrica de líquido arrastado pelas bolhas na saída da coluna de líquido, e ρ_D e ρ_F correspondem às densidades das correntes de drenagem e de arraste, respectivamente.

Sendo ainda

$$m_{CL} = (1 - \varepsilon_g).V.\rho_l \quad (29)$$

na qual ρ_l representa a densidade do líquido presente na coluna; e assumindo que $\rho_l \approx \rho_D \approx \rho_F$ e constante, a equação (28) pode ser escrita como:

$$\rho_l \frac{d}{dt} [(1 - \varepsilon_g).V] = \rho_l.(D - F) \quad (30)$$

que, ao ser simplificada e manipulada algebricamente, obtém-se:

$$D - F - \frac{d}{dt} [V.(1 - \varepsilon_g)] = 0 \quad (31)$$

Observa-se que o termo da equação (27) que multiplica a concentração de tensoativo na coluna de líquido (C_b) torna-se igual a zero pela substituição da equação (31), obtida do balanço global de massa. Assim, a equação (27) pode ser escrita como:

$$\frac{dC_b}{dt} = - \left(\frac{A_b}{V_b} \right) \cdot \frac{Q.\Gamma_{saída}}{(1 - \varepsilon_g).V} \quad (32)$$

Assumindo que as bolhas presentes na coluna de líquido são esféricas como conseqüências de suas baixas velocidades de ascensão e de seus pequenos diâmetros, tem-se que:

$$\left(\frac{A_b}{V_b} \right) = \frac{6}{d_b} \quad (33)$$

a qual d_b é o diâmetro médio das bolhas.

A vazão volumétrica de gás (Q) foi definida como sendo igual ao produto entre a velocidade superficial do gás (V_g) e a área da seção transversal da coluna de líquido (A_c), isto é:

$$Q = V_g \cdot A_c \quad (34)$$

Substituindo as equações (33) e (34) em (32), obtém-se:

$$\frac{dC_b}{dt} = - \left(\frac{6}{d_b} \right) \left(\frac{A_c}{V} \right) V_g \frac{\Gamma_{saída}}{(1 - \varepsilon_g)} \quad (35)$$

Por sua vez, a razão entre a área da seção transversal (A_c) e o volume da coluna de líquido (V) é igual ao inverso da altura da coluna de líquido (H), obtendo-se, portanto a equação (36) que representa a variação da concentração do tensoativo na coluna de líquido com o tempo para uma coluna de fracionamento com espuma operada em regime semi-batelada, dada por:

$$\frac{dC_b}{dt} = - \frac{6 \cdot V_g}{H \cdot (1 - \varepsilon_g) \cdot d_b} \cdot \Gamma_{saída} \quad (36)$$

Para se obter a solução da equação (36), necessita-se conhecer o valor da concentração superficial de tensoativo na saída da coluna de líquido, ou seja, obter o valor de $\Gamma_{saída}$. Esse valor pode ser obtido fazendo-se um balanço de massa para o tensoativo na superfície das bolhas.

4.4. Balanço de massa para o tensoativo na superfície das bolhas

Segundo relatado por ROSA et al., (2007), o modelo para a adsorção de materiais tensoativos na superfície das bolhas é similar ao modelo proposto por Ward e Tordai (1946).

A equação do balanço de massa interfacial obtido por este sistema por ser escrita como:

$$\frac{d\Gamma}{d\tau} = \frac{k_L a.(C_b - C_s)}{\varepsilon_g} \left(\frac{V_b}{A_b} \right) = \frac{k_L a.(C_b - C_s).d_b}{6.\varepsilon_g} \quad (37)$$

no qual Γ representa a concentração superficial do tensoativo, τ o tempo durante a ascensão das bolhas, $k_L a$ o coeficiente volumétrico de transferência de massa e C_s a concentração de tensoativo na camada ao redor das bolhas.

A variação da concentração do tensoativo com o tempo pode ser convertida para variações com a posição axial na coluna de líquido:

$$\frac{d\Gamma}{d\tau} = \frac{d\Gamma}{dz} \frac{dz}{d\tau} = v \frac{d\Gamma}{dz} = \frac{V_g}{\varepsilon_g} \frac{d\Gamma}{dz} \quad (38)$$

onde v é a velocidade de ascensão das bolhas na coluna de líquido.

Substituindo a equação (38) em (37), e rearranjando-a, pode-se mostrar que

$$\frac{d\Gamma}{dz} = \frac{k_L a.(C_b - C_s).d_b}{6.V_g} \quad (39)$$

Se o coeficiente volumétrico de transferência de massa ($k_L a$) e o diâmetro médio das bolhas (d_b) não variarem com a altura do líquido presente na coluna de líquido, a equação (39) pode ser integrada, obtendo-se:

$$\int_0^{\Gamma_{saída}} \frac{d\Gamma}{(C_b - C_s)} = \int_0^H \frac{k_L a \cdot d_b}{6 \cdot V_g} dz = \frac{k_L a \cdot d_b \cdot H}{6 \cdot V_g} \quad (40)$$

Portanto, pela equação (40), pode-se determinar o valor da concentração superficial do tensoativo na saída da coluna de líquido. Porém, para a solução deste problema, exige-se, ainda, o conhecimento do coeficiente volumétrico de transferência de massa e das isotermas de adsorção que relacionam Γ e C_s .

4.5. Resolução das equações do balanço de massa: simulação do processo

As curvas de depleção, que representam o decréscimo da concentração de tensoativo na coluna de líquido em função do tempo, foram obtidas através da resolução das equações (36) e (40), geradas a partir dos balanços de massa para o tensoativo na coluna de líquido e na região superficial das bolhas, respectivamente. Com o auxílio do software PI / ACF versão 1.0, desenvolvido pelo Instituto Politécnico da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ) através da modelagem matemática apresentada acima, foi possível simular as curvas de depleção para o tensoativo.

Primeiramente, foram definidas as condições iniciais a serem simuladas pelo software (Figura 16). Foram consideradas constantes a altura da coluna de líquido e a tensão superficial. Adotou-se o modelo de Langmuir para a isoterma de adsorção do tensoativo e a correlação de Ozturk et al., (1987) para o cálculo do coeficiente volumétrico de transferência de massa. Segundo Rosa (1996), Deckwer e Schumpe (1993) apresentaram uma comparação entre diversas correlações para estimar $k_L a$ e recomendaram a utilização da correlação proposta por Ozturk et al., (1987) para colunas de bolhas com diâmetros inferiores a 9,5 cm. A correlação é dada por:

$$\left(\frac{k_L a \cdot d_b^2}{D_i} \right) = 0,62 \cdot \left(\frac{\mu_l}{\rho_l D_i} \right)^{0,5} \left(\frac{g \cdot \rho_l \cdot d_b^2}{\gamma} \right)^{0,33} \left(\frac{g \cdot \rho_l^2 \cdot d_b^3}{\mu_l^2} \right)^{0,29} \left(\frac{V_g}{\sqrt{g \cdot d_b}} \right)^{0,68} \left(\frac{\rho_g}{\rho_l} \right)^{0,04} \quad (41)$$

equação na qual D_i é o coeficiente de difusão do tensoativo, μ_l é a viscosidade do líquido, g é a aceleração gravitacional, γ é a tensão superficial e ρ_l e ρ_g são as densidades do líquido e do gás, respectivamente.

Posteriormente, foram atribuídos os dados de entrada ao software dando sequência à simulação. Foram atribuídos valores referentes ao número de experimentos, às densidades do líquido e do gás, a viscosidade do gás, ao diâmetro da coluna de líquido, ao coeficiente de difusão do tensoativo e a tensão superficial (Figura 17).

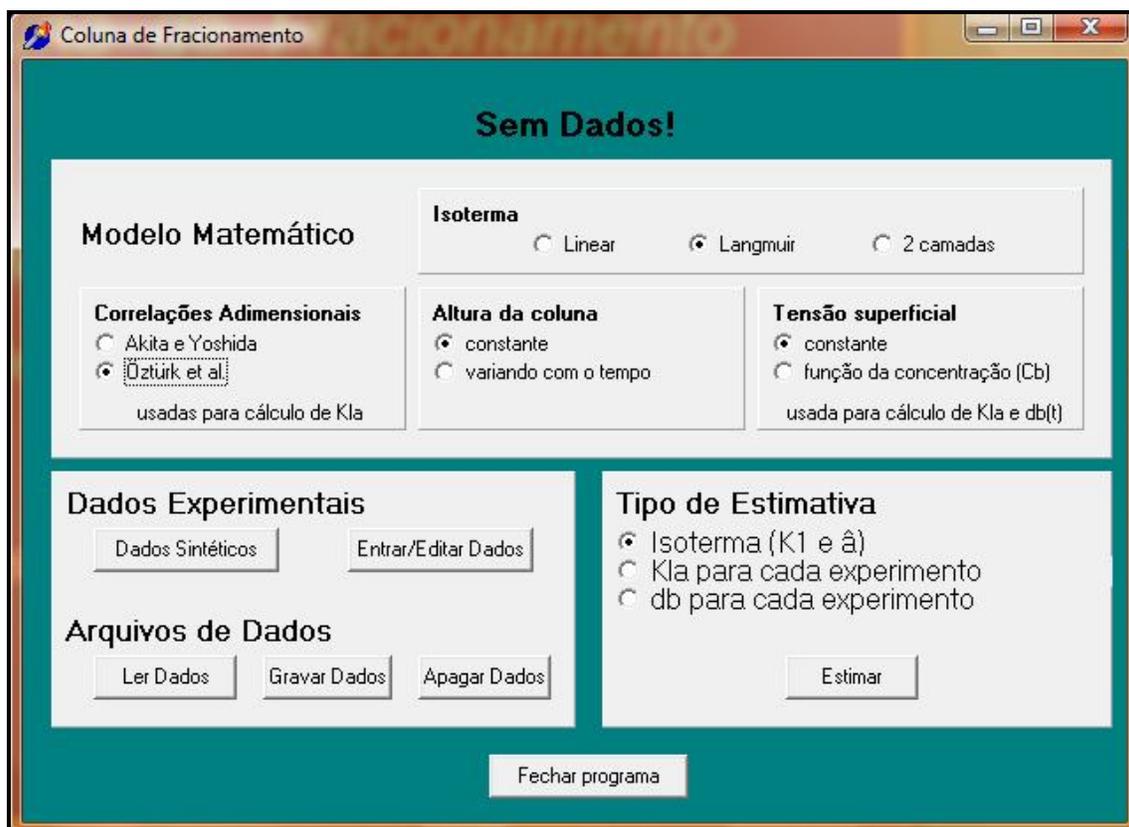


Figura 16 - Imagem ilustrativa das condições iniciais adotadas a serem simuladas pelo software.

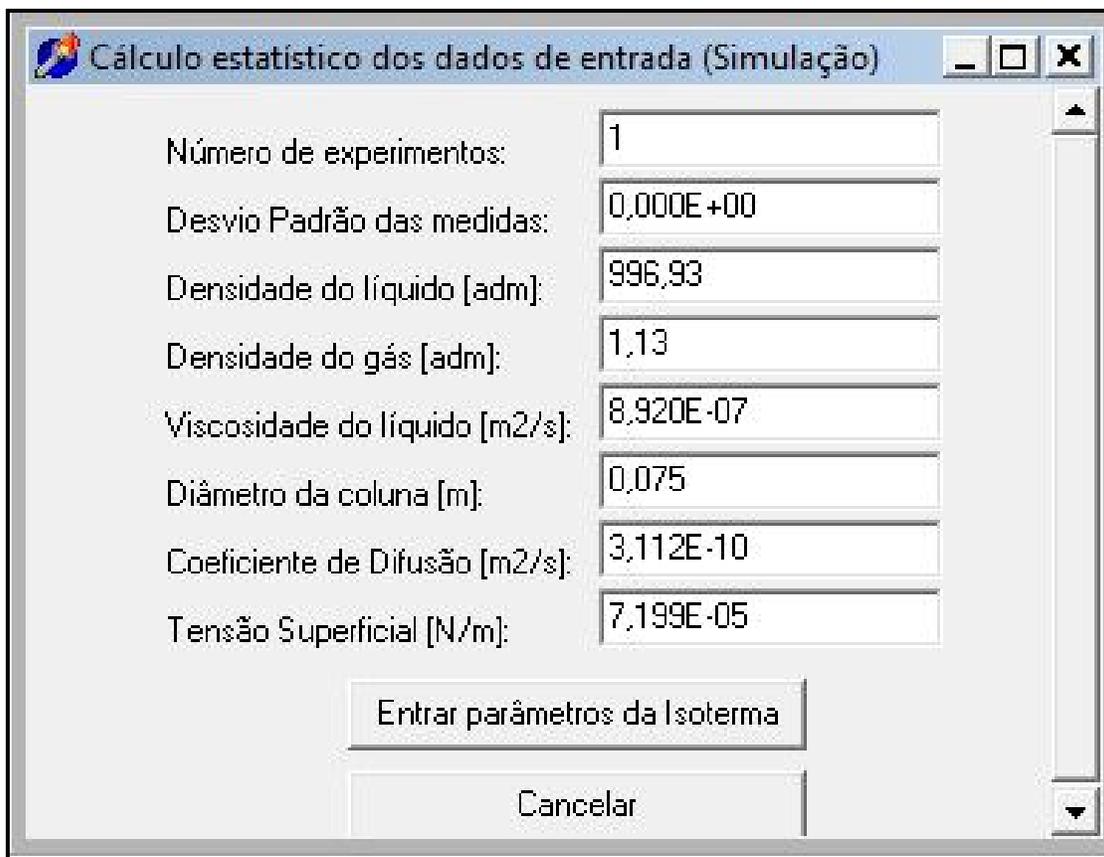


Figura 17 - Imagem ilustrativa para os dados de entrada do software. Os valores, apresentados na figura, referem-se à temperatura de 25 °C.

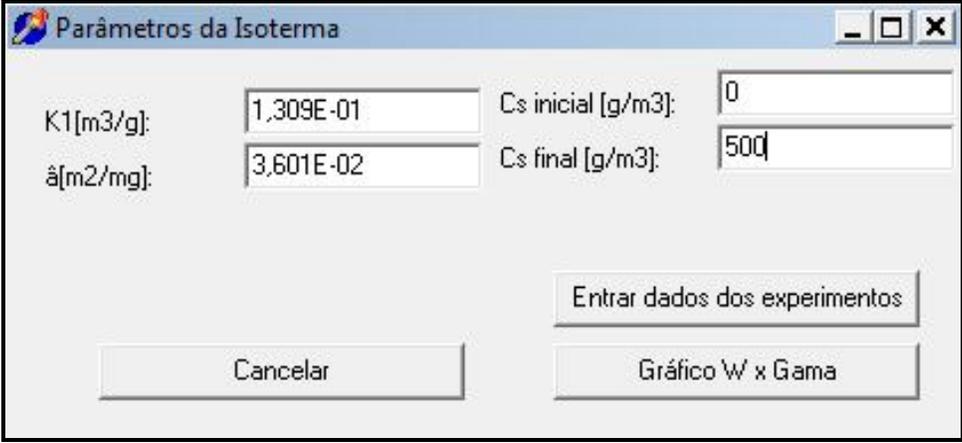
Segundo GEANKOPLIS (1983) o coeficiente de difusão de solutos biológicos em meio líquido pode ser estimado pela correlação dada por:

$$D_i = \frac{9,40 \cdot 10^{-15} \cdot T}{\mu_f \cdot M_i^{1/3}} \quad (42)$$

equação na qual T é a temperatura (K), μ_f é a viscosidade do fluido (Pa.s) e M_i é a massa molar do soluto (kg/kmol).

A próxima etapa da simulação foi atribuir, ao software, os valores dos parâmetros da isoterma de Langmuir, obtidos experimentalmente, e a faixa de concentração

do tensoativo presente na camada ao redor das bolhas (C_s) (Figura 18). Assim, foram atribuídos os valores para a constante de equilíbrio (K_1) e para a relação “área ocupada / massa de tensoativo na superfície das bolhas” (\hat{a}).



Parâmetro	Valor
K_1 [m ³ /g]	1,309E-01
\hat{a} [m ² /mg]	3,601E-02
C_s inicial [g/m ³]	0
C_s final [g/m ³]	500

Figura 18 - Imagem ilustrativa do software para entrada dos valores dos parâmetros da isoterma de Langmuir, para a temperatura de 25 °C, e a faixa de concentração do tensoativo presente na camada ao redor das bolhas.

Na última etapa da simulação, foram atribuídos ao software, os valores referentes aos dados do experimento como a altura da coluna de líquido, o diâmetro e a velocidade superficial das bolhas formadas pela injeção de gás, a concentração inicial de material tensoativo presente no líquido e os tempos da primeira e última coleta de amostras, assim como o tempo entre cada coleta (Figura 19). Finalmente, após a etapa de atribuição de dados de entrada, os valores de concentração de tensoativo na coluna de líquido com o tempo foram gerados instantaneamente, obtendo-se, então, as curvas de depleção de acordo com as condições impostas durante a simulação.

Altura da coluna [m]:	0,12
Diâmetro das bolhas [m]:	3,86E-04
Velocidade das bolhas [m/s]:	1,51E-04
Tempo da primeira coleta [s]:	300
Tempo entre cada coleta [s]:	300
Tempo final do experimento [s]:	3600
Concentração inicial [g/m ³]:	400

Figura 19 - Imagem ilustrativa do software para dados de entrada do experimento referentes a concentração inicial de tensoativo de 400 mg/L e vazão volumétrica de gás de 400 mL/min.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são demonstrados, analisados e discutidos os resultados obtidos do fracionamento de soluções de surfactina em coluna de bolhas e espuma. Os resultados do modelo matemático apresentado no Capítulo 4 também são apresentados.

5.1. Concentração de surfactina na coluna de líquido

As Figuras 20 a 28 mostram as variações da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo (curvas de depleção) para o biossurfactante em diferentes condições experimentais (concentração inicial de surfactina, vazão volumétrica de gás e temperatura de operação da coluna) definidas e combinadas entre si a partir do planejamento de experimentos (seção 3.3.2, capítulo 3).

Foi observado que a variação da concentração de surfactina na coluna de líquido ocorreu a uma baixa taxa nos primeiros 5 minutos das corridas experimentais. Neste intervalo, possivelmente ocorreram altas taxas de rompimento das bolhas presentes na coluna de espuma, justificadas devido à presença da interface espuma-ar e de superfícies da coluna de vidro que não se encontravam completamente molhadas. Portanto, as altas taxas de rompimento das bolhas na coluna de espuma foram responsáveis pelas menores taxas de decréscimo na concentração do biossurfactante. O rompimento das bolhas favorece ao aumento da concentração de surfactina nas regiões intersticiais do leito de espuma. Consequentemente, uma porção do biossurfactante que deixa a coluna de líquido adsorvido nas bolhas de gás retorna para a mesma através do líquido drenado da espuma.

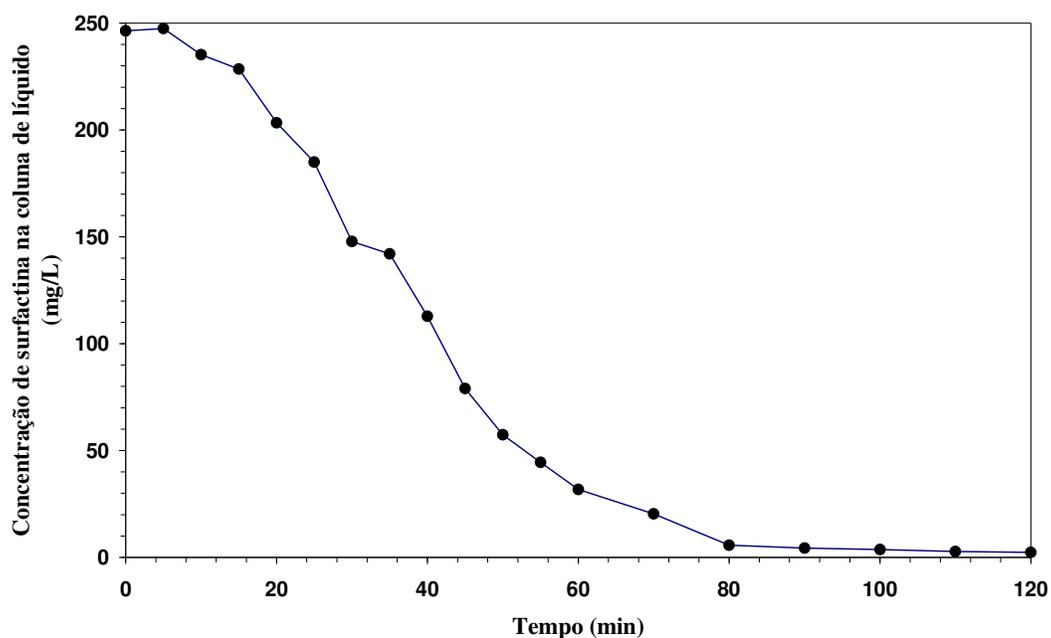


Figura 20 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 15$ °C).

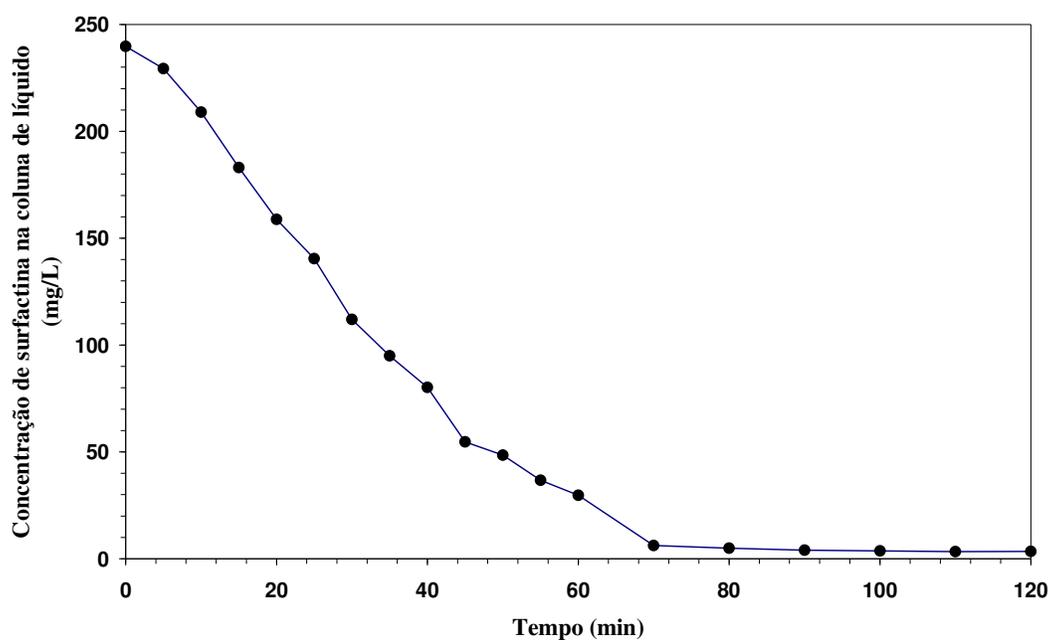


Figura 21 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 35$ °C).

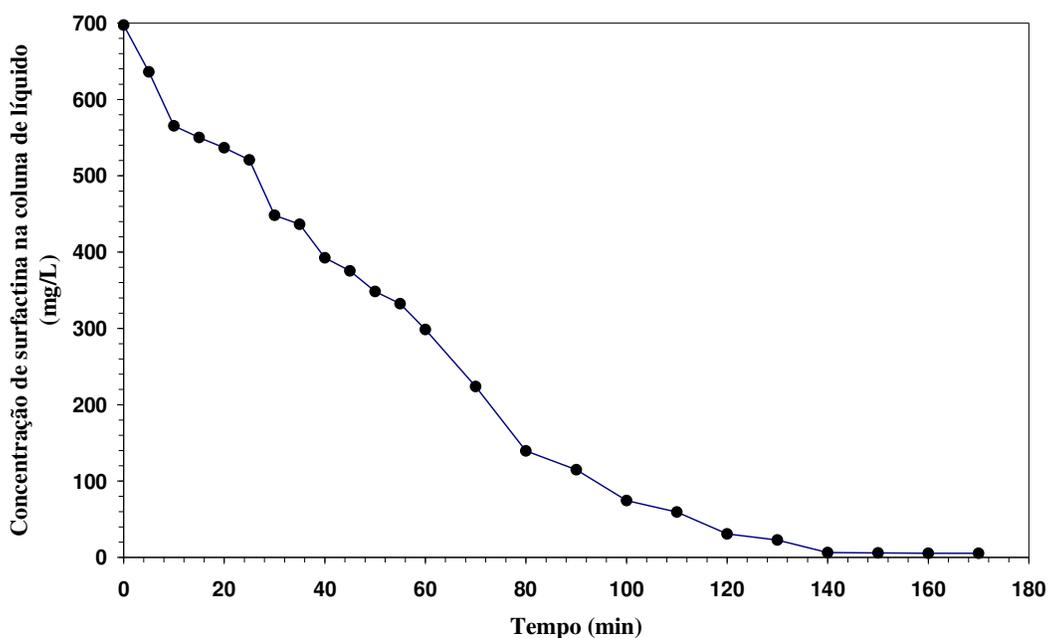


Figura 22 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 15$ °C).

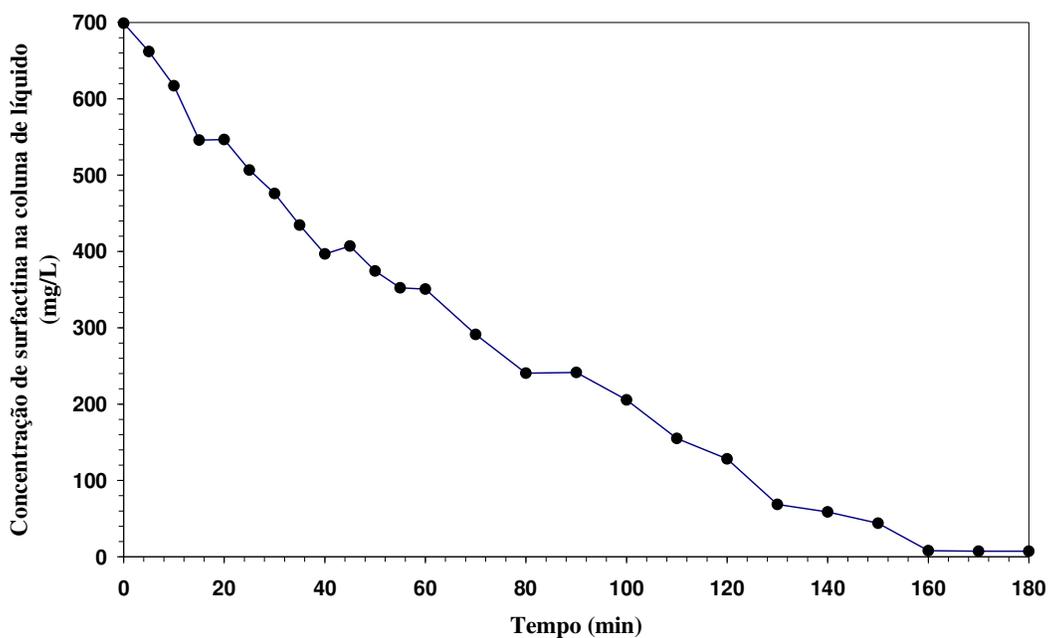


Figura 23 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 35$ °C)

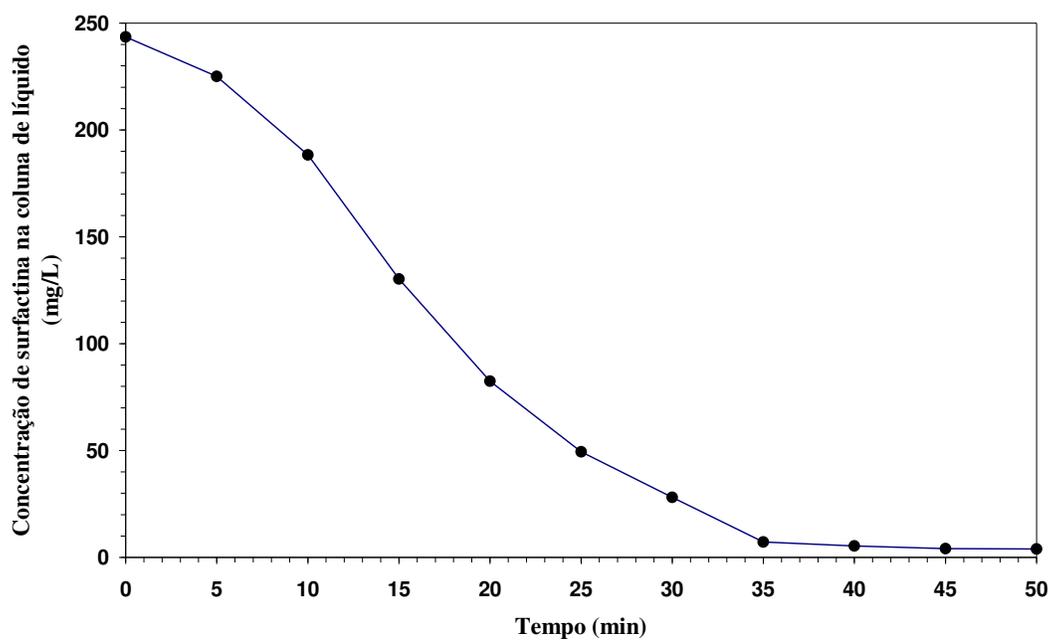


Figura 24 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).

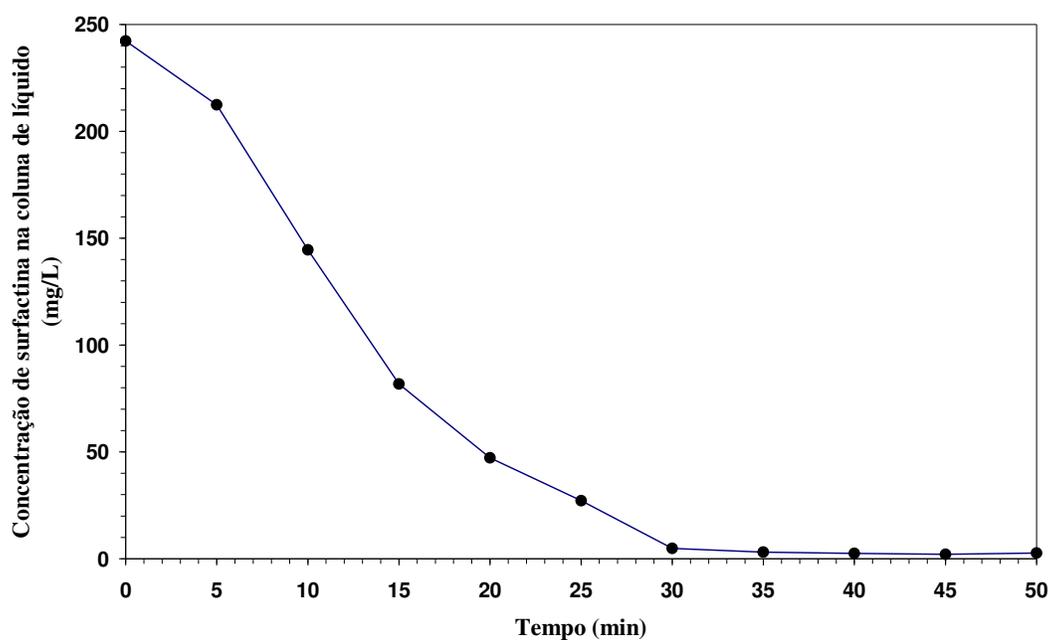


Figura 25. - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 35$ °C).

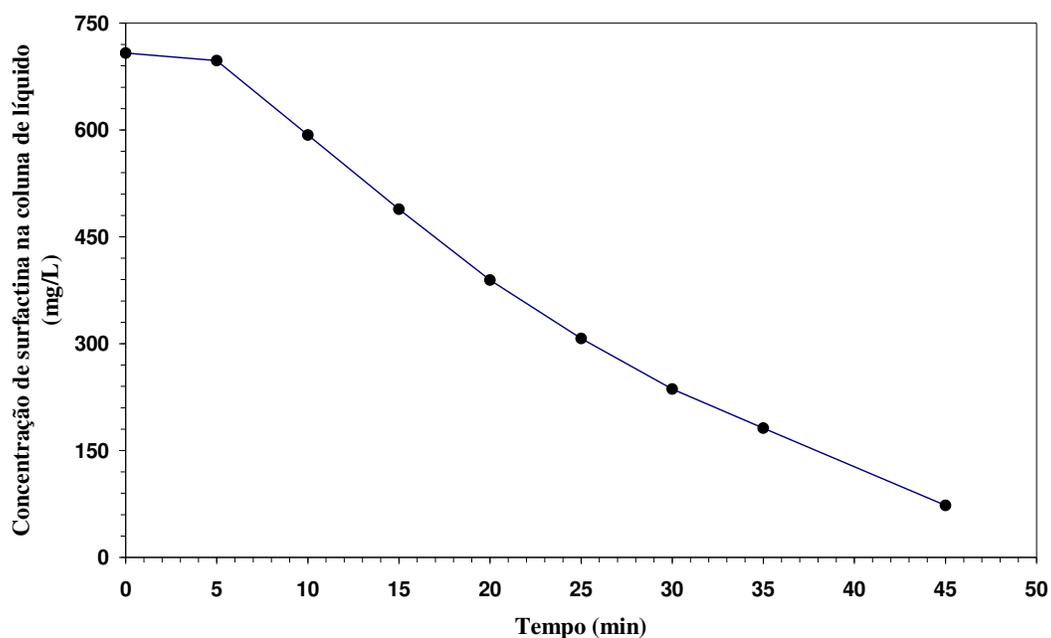


Figura 26 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).

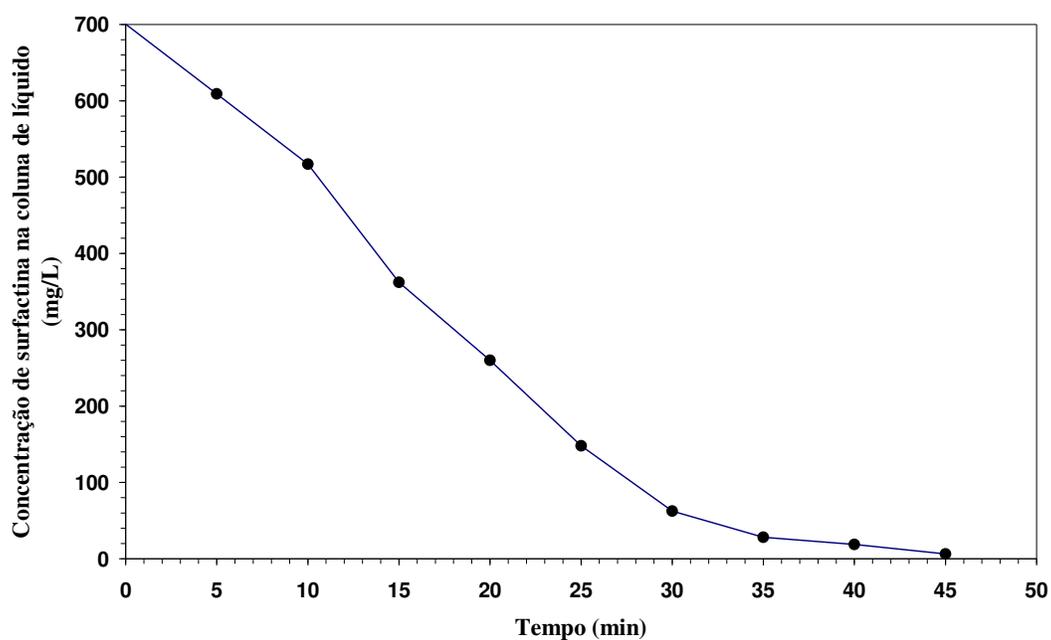


Figura 27 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 35$ °C).

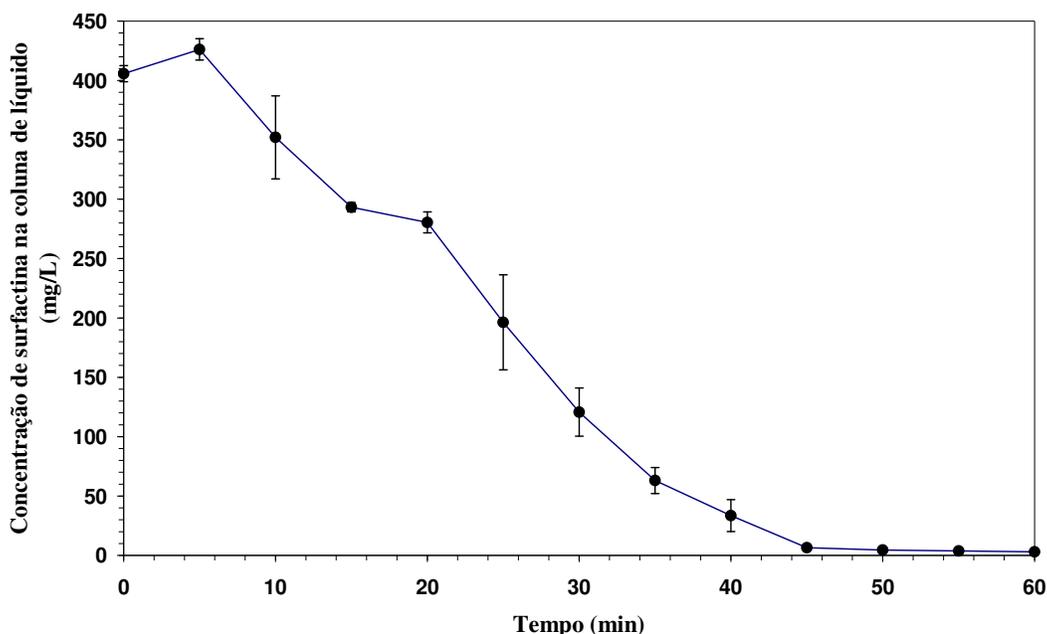


Figura 28 - Variação da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo ($C_0 = 400 \text{ mg/L}$; $Q = 40 \text{ mL/min}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

Ao decorrer dos experimentos, as taxas de rompimento das bolhas na coluna de espuma diminuem e uma queda na concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo pôde ser observada. As reduções da concentração de surfactina na coluna de líquido mostram que o biossurfactante estava sendo removido da solução e esta remoção foi resultado das maiores taxas de transferência de massa devido a gradientes de concentração existentes entre a interface gás-líquido e o seio da solução. As curvas de depleção também mostraram que a taxa de redução da concentração de surfactina na coluna de líquido foi maior para vazões volumétricas elevadas de gás. Esta observação pode ser justificada pelo aumento nas taxas de formação de área superficial gás-líquido, pois maiores vazões de gás levam a um número maior de bolhas na coluna de líquido o que, de fato, favorece o fenômeno de adsorção. É válido ressaltar que a área superficial das bolhas é muito importante para a operação da coluna de fracionamento com espuma uma vez que o biossurfactante adsorve nesta região (ROSA, 1996). Maiores taxas de redução da concentração de surfactina na coluna de líquido também foram observadas para

temperaturas de operação da coluna relativamente elevadas. Isto indica que a adsorção das moléculas de surfactina na interface gás-líquido pode ser favorecida pelo aumento da temperatura.

5.2. Concentração de surfactina na espuma

As Figuras 29 a 37 mostram as variações da concentração de surfactina na espuma com tempo para diferentes condições experimentais, dadas pela concentração inicial do biossurfactante presente em solução, da vazão volumétrica de gás e da temperatura de operação da coluna de fracionamento.

Analisando-se as figuras, foi observado que quando o processo de fracionamento com espuma é submetido a altas vazões volumétricas de gás, os valores de concentração média de surfactina na espuma variaram de 1,2 a 3,8 g/L, ao passo que, para baixas vazões volumétricas, os valores de concentração do biossurfactante foram mais expressivos, ficando entre 6,3 a 19,7 g/L. Para altas e baixas vazões, os maiores valores de concentração de surfactina ocorreram principalmente quando o processo foi efetuado a temperaturas relativamente mais elevadas. Portanto, a concentração de surfactina na espuma mostrou-se maior para menores vazões de gás devido ao maior tempo de residência das bolhas na coluna de espuma e pela menor quantidade de solução arrastada da coluna de líquido pelas bolhas de gás. Quanto ao efeito da temperatura, presume-se que o seu aumento reduza a viscosidade da solução o que, de fato, melhora e facilita a drenagem do líquido intersticial da espuma. O aumento das taxas de drenagem leva a formação de espumas mais secas, aumentando a importância da camada de surfactina adsorvida na interface gás-líquido (ROSA, 1996).

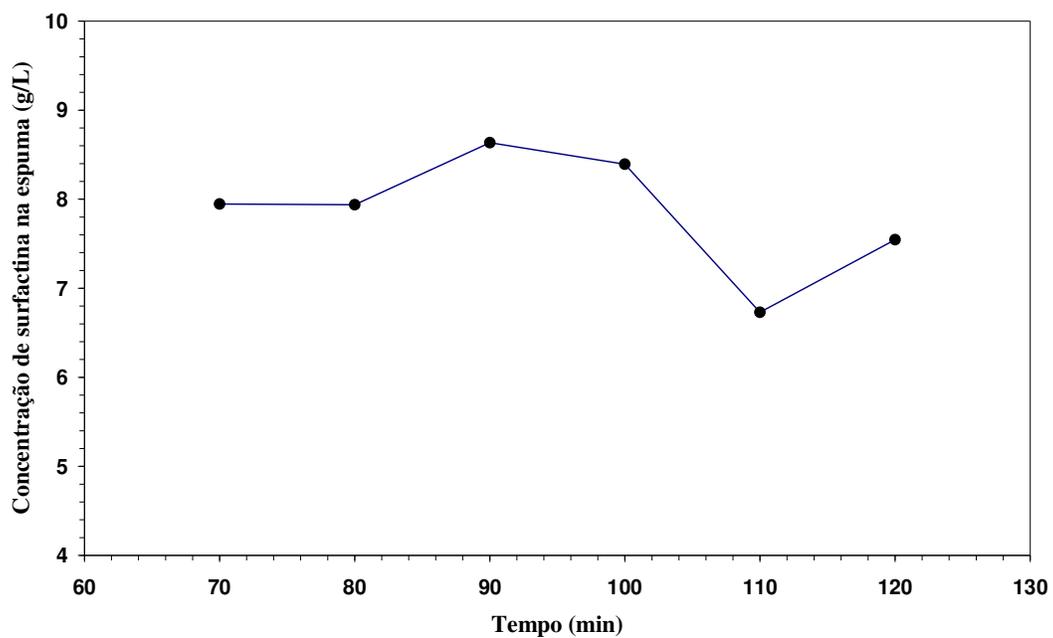


Figura 29 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 15$ °C)

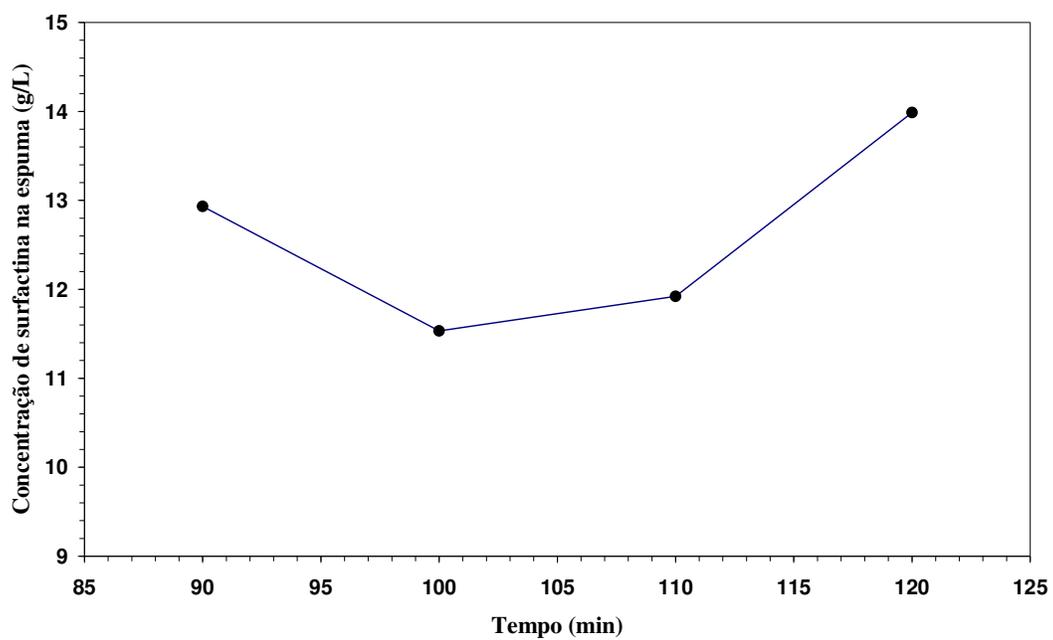


Figura 30 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 35$ °C).

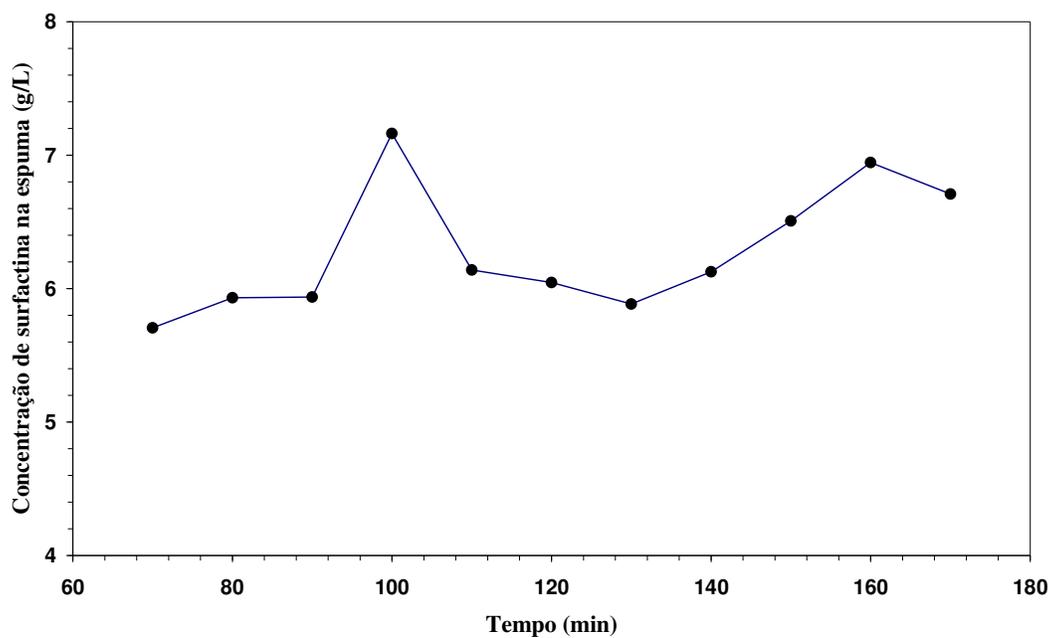


Figura 31 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 15$ °C).

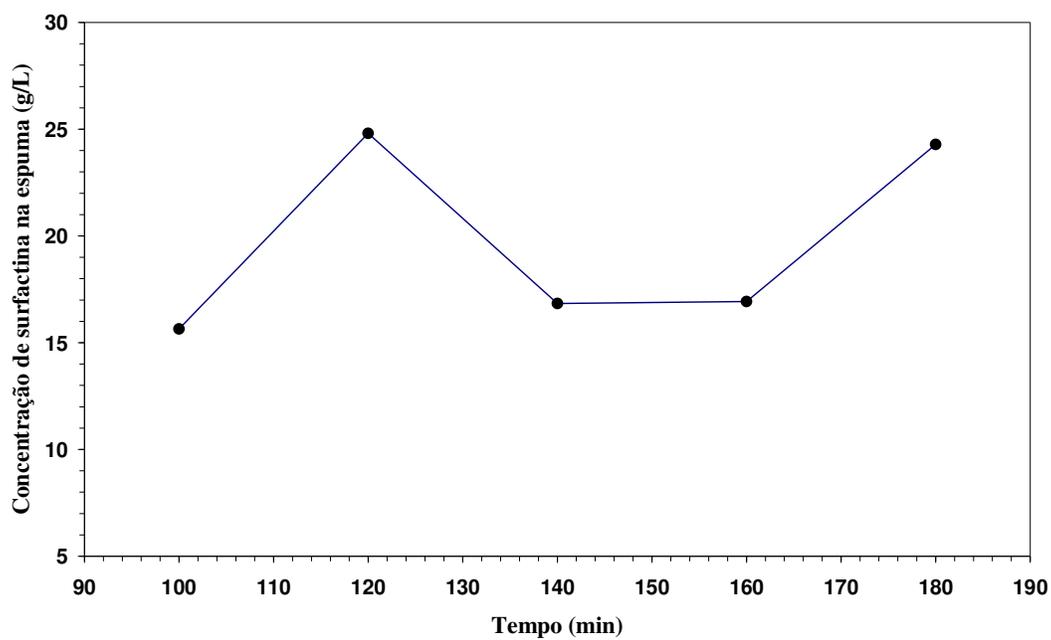


Figura 32 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 35$ °C).

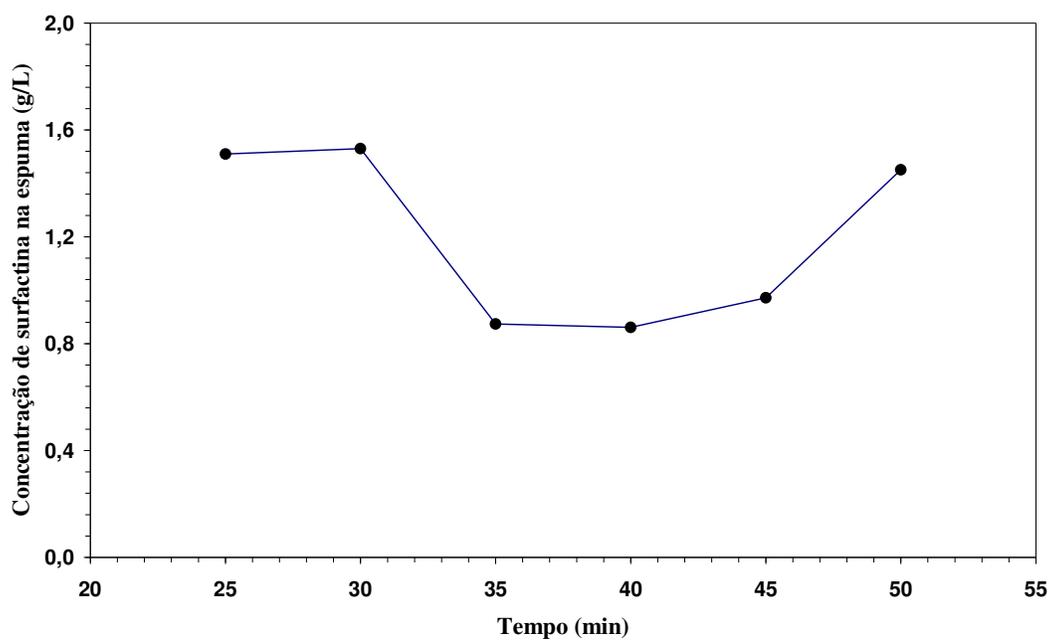


Figura 33 - Concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 15$ °C)

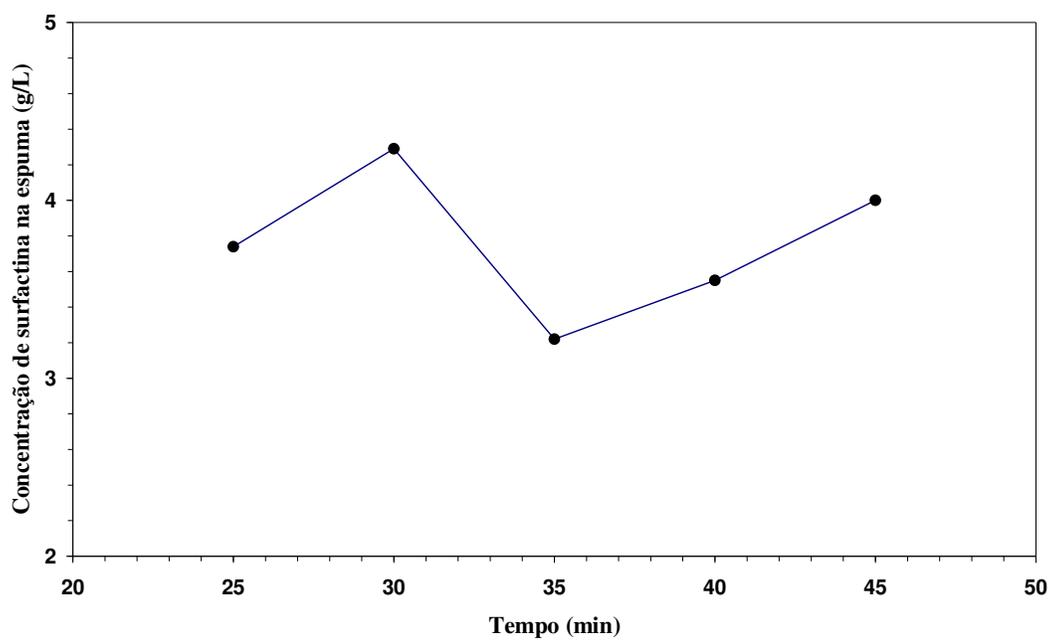


Figura 34. - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 35$ °C)

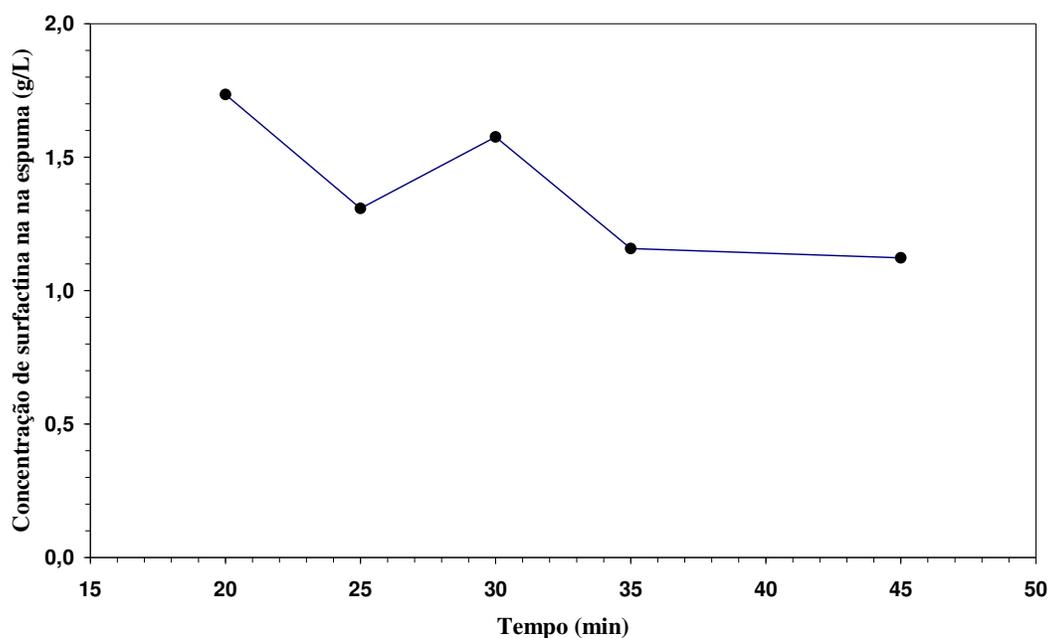


Figura 35 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).

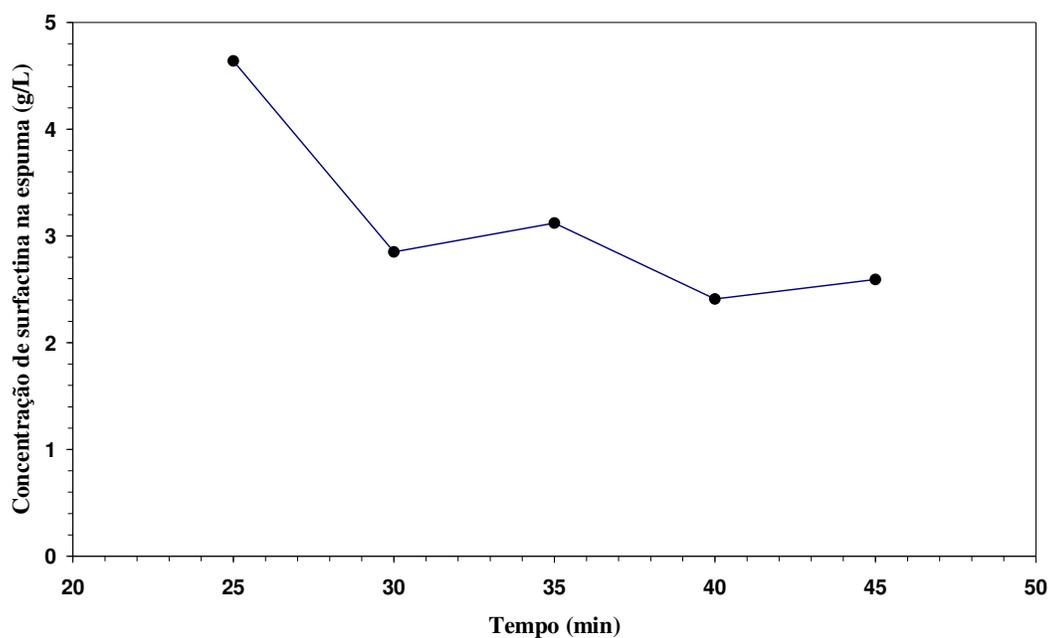


Figura 36 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 700$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 35$ °C).

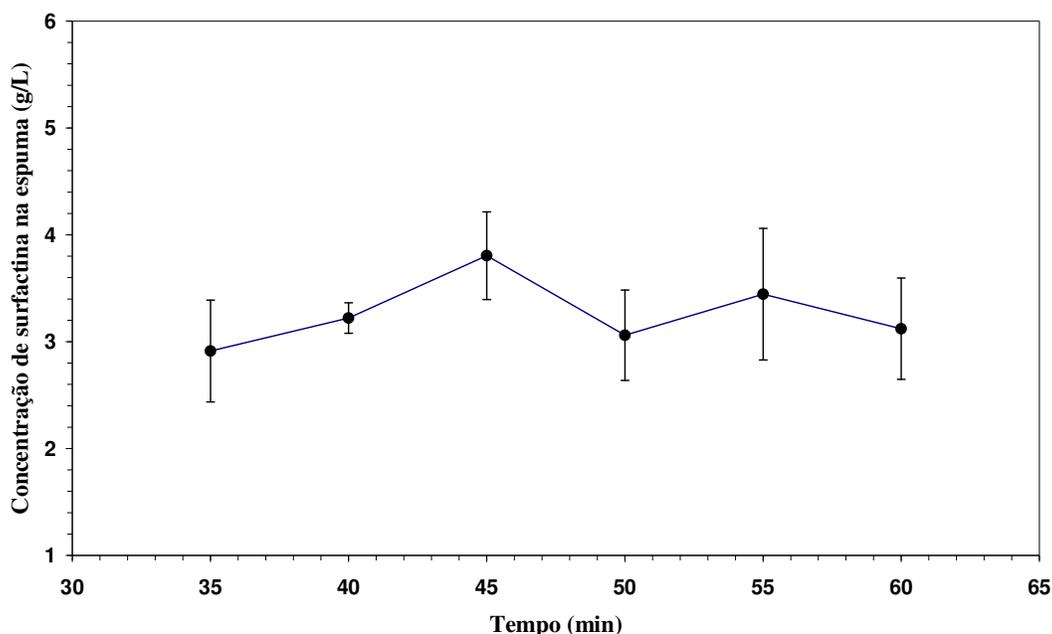


Figura 37 - Variação da concentração de surfactina na espuma com o tempo ($C_0 = 400$ mg/L; $Q = 40$ mL/min; $T = 25$ °C).

Foi observado também que para altas vazões de gás, principalmente quando este é borbulhado em soluções com concentração relativamente elevada de surfactina, o primeiro ponto experimental, com relação ao ponto posterior, apresentou maior valor de concentração do biossurfactante na espuma. Uma explicação para este fato pode ser dada pela elevada taxa de rompimento das bolhas que ocorrem na coluna de espuma que favorece a liberação de moléculas de surfactina adsorvidas na interface gás-líquido. Altas vazões ocasionam o maior arraste de surfactina para a espuma o que pode aumentar a sua concentração nos interstícios da espuma e esta concentração, por sua vez, pode aumentar quanto maior for a concentração da solução de surfactina presente na coluna de líquido.

Com os valores de concentração de surfactina e dos volumes do produto de topo coletado a partir do colapso da espuma, foi possível determinar valores de recuperação e enriquecimento totais do biossurfactante (Tabela 7). O enriquecimento (E) e a recuperação (R) de surfactina foram calculados pelas seguintes equações:

$$E = \frac{C_{espuma}^*}{C_0} \quad (43)$$

$$R(\%) = \left[\frac{m_{espuma}}{(m_{espuma} + m_{solução})} \right] \cdot 100 \quad (44)$$

equações nas quais C_{espuma}^* e C_0 correspondem às concentrações médias de surfactina presentes na espuma e na solução inicial, respectivamente; m_{espuma} a massa de surfactina na espuma e $m_{solução}$ a sua massa presente na solução remanescente na coluna de líquido.

Tabela 7. Valores de enriquecimento e recuperação obtidos para o fracionamento de soluções de surfactina em diferentes condições experimentais.

Vazão Vol. (mL/min)	Concentração (mg/L)	Temperatura (°C)	Enriquecimento	Recuperação (%)
20	240	15	31,2	97,0
		35	52,5	85,3
	700	15	9,0	98,3
		35	28,2	96,0
40 ^(*)	400	25	8,2 ± 1,46	98,0 ± 0,38
60	240	15	4,9	92,7
		35	15,5	97,3
	700	15	1,9	80,5
		35	4,5	96,4

(*) experimento realizado em triplicata.

Analisando-se a Tabela 7, foi observado que os maiores valores de enriquecimento foram obtidos para soluções que apresentavam menores valores de concentração de surfactina e operando a coluna com baixa vazão de gás. A menor vazão volumétrica proporcionou menor arraste de solução da coluna de líquido para a espuma e um maior tempo de residência das bolhas na coluna de espuma, levando a maiores taxas de drenagem. Diante destas condições experimentais, obteve-se maior valor de

enriquecimento, 52,5 vezes, para a surfactina operando a coluna de fracionamento em temperatura relativamente elevada (35 °C) o que indica a influência do efeito térmico envolvido na adsorção. Quanto a recuperação do biossurfactante, foram obtidos valores entre 80,5 a 98,3 %. Não foram observadas variações significativas de recuperação para as vazões de gás utilizadas.

Os valores de enriquecimento e recuperação de surfactina obtidos neste trabalho foram próximos dos valores obtidos nos estudos de Davis et al., (2001) e Chen et al., (2006), conforme mostrado na seção 2.5.4 do capítulo 2. Para um sistema sem integração, ou seja, formado apenas pela coluna de fracionamento, Davis et al., (2001) obteve uma recuperação de surfactina de 97,1 % e valores de enriquecimento entre 2,3 a 51,6 vezes; ao passo que, com a utilização do sistema integrado, composto pela coluna de fracionamento e o biorreator, foram obtidos valores de recuperação na faixa de 64,4 % a 71,4 % e um enriquecimento de aproximadamente 60 vezes. Por outro lado, nos estudos de Chen et al., (2006), foram alcançados, para um sistema integrado, valores de recuperação de 92,3 % e de enriquecimento em torno de 50 vezes.

5.3. Análise estatística das variáveis estudadas no processo de fracionamento de surfactina em coluna de bolhas e espuma

Um planejamento fatorial completo 2^3 com ponto central foi aplicado para investigar a influência dos fatores *concentração inicial de surfactina* (níveis: 240, 400 e 700 mg/L) *temperatura de operação da coluna* (níveis: 15, 25 e 35 °C) e *vazão volumétrica de gás* (níveis: 20, 40 e 60 mL;min) sobre as respostas *enriquecimento* (E) e *recuperação* (R). A utilização do planejamento experimental multivariado permitiu estudar a variação simultânea dos fatores envolvidos neste trabalho com um número reduzido de experimentos. A matriz do planejamento (Tabela 8) mostra as respostas obtidas experimentalmente através da combinação de todos os níveis dos fatores (e suas interações), apresentados na forma real e codificada. Na matriz, Q, C e T correspondem a

vazão, concentração e temperatura, respectivamente. Os sinais das colunas referentes às interações foram obtidos multiplicando-se os sinais das colunas dos fatores.

A Tabela 8 contém todos os sinais necessários para o cálculo dos efeitos dos fatores e de suas interações. O valor do efeito de cada fator foi calculado pela diferença entre a média de todos os valores das respostas do fator estudado com sinais positivos e a média de todos os valores das respostas com sinais negativos para este mesmo fator. Para exemplificar, foi demonstrado o cálculo do efeito do fator temperatura sobre a resposta enriquecimento:

$$Efeito(T) = \frac{(52,5 + 15,5 + 28,2 + 4,5)}{4} - \frac{(31,9 + 4,9 + 9,0 + 1,9)}{4} = 13,25$$

Tabela 8. Resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para estudo dos efeitos da vazão, concentração e temperatura sobre o enriquecimento e a recuperação de surfactina.

Ensaio	Níveis codificados							Níveis reais			Respostas	
	Fatores			Interação de fatores				Vazão	Conc	Temp	E	R
	Q	C	T	QC	QT	CT	QTC	<i>mL/min</i>	<i>mg/L</i>	<i>°C</i>		%
1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	20	240	15	31,9	97,0
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	60	240	15	4,9	92,7
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	20	700	15	9,0	98,3
4	1	1	-1	1	-1	-1	-1	60	700	15	1,9	80,5
5	-1	-1	1	1	-1	-1	1	20	240	35	52,5	85,3
6	1	-1	1	-1	1	-1	-1	60	240	35	15,5	97,3
7	-1	1	1	-1	-1	1	-1	20	700	35	28,2	96,0
8	1	1	1	1	1	1	1	60	700	35	4,5	96,4
9	0	0	0	0	0	0	0	40	400	25	9,7	97,5
10	0	0	0	0	0	0	0	40	400	25	6,8	98,0
11	0	0	0	0	0	0	0	40	400	25	7,9	98,3

Os valores calculados para os efeitos dos fatores sobre as respostas enriquecimento e recuperação de surfactina em coluna de bolhas e espuma são mostrados nas Tabelas 9 e 10, respectivamente. Os fatores cujos valores de efeitos calculados foram negativos são indicativos de que o fator age em direção contrária.

A partir dos valores de efeitos calculados para os fatores principais e suas respectivas interações, foi possível determinar, de forma quantitativa, quais destes efeitos são estatisticamente significativos e, portanto, merecedores de interpretação. São considerados estatisticamente significativos os efeitos cujas estimativas (obtidas no experimento) são superiores, em valor absoluto, ao produto do desvio padrão pelo ponto da distribuição de Student (BARROS NETO et al., 2007), ou seja, $Efeito (fator) > t (student) \times s (desvio\ padrão)$.

Tabela 9. Valores dos efeitos calculados sobre a resposta enriquecimento para os fatores principais e suas respectivas interações.

Fatores	Valor do efeito
Fatores principais	
<i>Vazão (Q)</i>	-23,70
<i>Concentração (C)</i>	-15,33
<i>Temperatura (T)</i>	13,25
Interação de dois fatores	
<i>Vazão-concentração (QC)</i>	8,31
<i>Vazão-temperatura (QT)</i>	-6,67
<i>Concentração-temperatura (CT)</i>	-2,38
Interação de três fatores	
<i>Vazão-concentração-temperatura (QCT)</i>	-1,66

Tabela 10. Valores dos efeitos calculados sobre a resposta recuperação para os fatores principais e suas respectivas interações.

Fatores	Valor do efeito
Fatores principais	
<i>Vazão (Q)</i>	-2,46
<i>Concentração (C)</i>	-0,27
<i>Temperatura (T)</i>	1,67
Interação de dois fatores	
<i>Vazão-concentração (QC)</i>	-6,29
<i>Vazão-temperatura (QT)</i>	8,62
<i>Concentração-temperatura (CT)</i>	5,16
Interação de três fatores	
<i>Vazão-concentração-temperatura (QCT)</i>	0,49

Dos três ensaios repetidos no ponto central, obteve-se a estimativa dos desvios padrão de 1,465 e 0,383 para as respostas enriquecimento e recuperação, respectivamente. Neste caso, o desvio padrão de uma resposta é igual ao desvio padrão de um efeito.

Tomando-se um intervalo com 95 % de confiança e tendo-se 2 graus de liberdade, obteve-se um valor para t (student) igual a 4,303. Então, foi possível determinar a significância estatística dos efeitos dos fatores sobre as respostas enriquecimento (Tabela 11) e recuperação (Tabela 12).

Finalmente, foi possível dar uma interpretação geométrica aos efeitos calculados que apresentaram significância estatística para cada uma das respostas estudadas. Como os efeitos de interação mostraram-se significativos, os efeitos principais devem ser interpretados conjuntamente (BARROS NETO et al., 2007). A melhor forma de fazer isso foi traçar diagramas (Figuras 38 a 42) contendo as respectivas médias das respostas enriquecimento e recuperação avaliadas neste trabalho. Analisando-se a Figura 38, pode-se dizer que, independentemente da temperatura, os maiores valores de enriquecimento (31,9 e 52,5 vezes) foram obtidos operando a coluna de fracionamento com

vazões relativamente baixas e quando se tem soluções mais diluídas de surfactina. Porém, este enriquecimento é mais pronunciado quando se opera a coluna com temperaturas relativamente elevadas. Foi observado que se trabalhando com soluções mais concentradas do biossurfactante, ocorre uma diminuição do enriquecimento: 22,91 e 23,72 vezes para as temperaturas de 15 e 35 °C, respectivamente. O mesmo ocorre quando se aumenta a vazão de gás injetado na coluna, ou seja, com o aumento da vazão de 20 mL/min para 60 mL/min, o enriquecimento cai cerca de 26,99 vezes quando se opera a coluna a 15 °C e 37 vezes a 35 °C. Analisando-se a Figura 39, foi observado que, independentemente da concentração da solução de surfactina, os maiores valores de enriquecimento são obtidos operando-se a coluna de fracionamento a baixas vazões e a temperaturas relativamente mais elevadas. Nota-se que, aumentando-se a temperatura, ocorre um aumento de enriquecimento em torno de 20 vezes para ambas as concentrações avaliadas. Porém, um aumento da vazão ocasiona a queda de enriquecimento que se torna mais evidente quando se opera a coluna a baixas concentrações.

Tabela 11. Avaliação da significância estatística dos efeitos dos fatores principais com suas respectivas interações sobre a resposta enriquecimento.

Efeito	Teste da significância estatística	Conclusão
Fatores principais	$t_{2, 95\%} \times s = 6,302$	
<i>Vazão (Q)</i>	$ -23,70 > 6,302$	Significativo
<i>Concentração (C)</i>	$ -15,33 > 6,302$	Significativo
<i>Temperatura (T)</i>	$13,25 > 6,302$	Significativo
Interação de dois fatores		
<i>Vazão-concentração (QC)</i>	$8,31 > 6,302$	Significativo
<i>Vazão-temperatura (QT)</i>	$-6,67 > 6,302$	Significativo
<i>Concentração-temperatura (CT)</i>	$ -2,38 < 6,302$	Não-significativo
Interação de três fatores		
<i>Vazão-concentração-temperatura (QCT)</i>	$ -1,66 < 6,302$	Não-significativo

Tabela 12. Avaliação da significância estatística dos efeitos dos fatores principais com suas respectivas interações sobre a resposta recuperação.

Efeito	Teste da significância estatística	Conclusão
Fatores principais	$t_{2, 95\%} \times s = 1,647$	
<i>Vazão (Q)</i>	$ -2,46 > 1,647$	Significativo
<i>Concentração (C)</i>	$ -0,27 < 1,647$	Não-significativo
<i>Temperatura (T)</i>	$1,67 > 1,647$	Significativo
Interação de dois fatores		
<i>Vazão-concentração (QC)</i>	$ -6,29 > 1,647$	Significativo
<i>Vazão-temperatura (QT)</i>	$8,62 > 1,647$	Significativo
<i>Concentração-temperatura (CT)</i>	$5,16 > 1,647$	Significativo
Interação de três fatores		
<i>Vazão-concentração-temperatura (QCT)</i>	$0,49 < 1,647$	Não-significativo

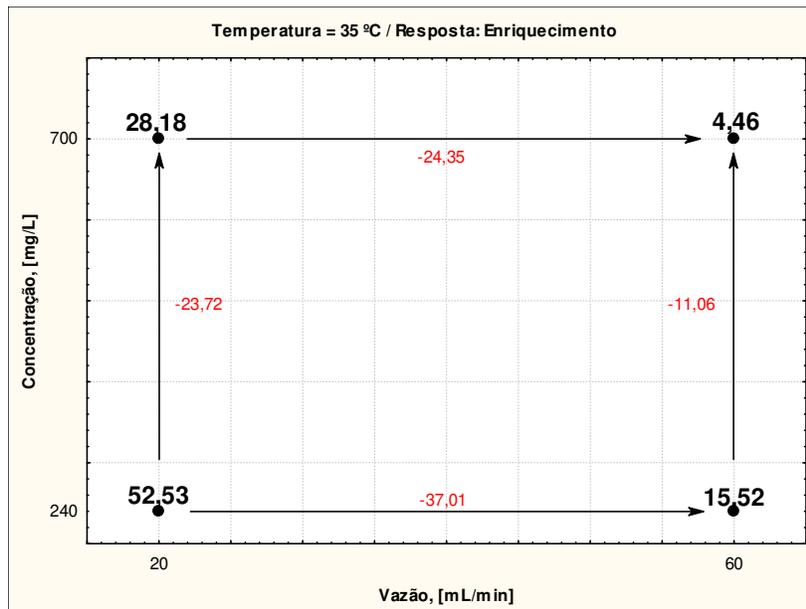
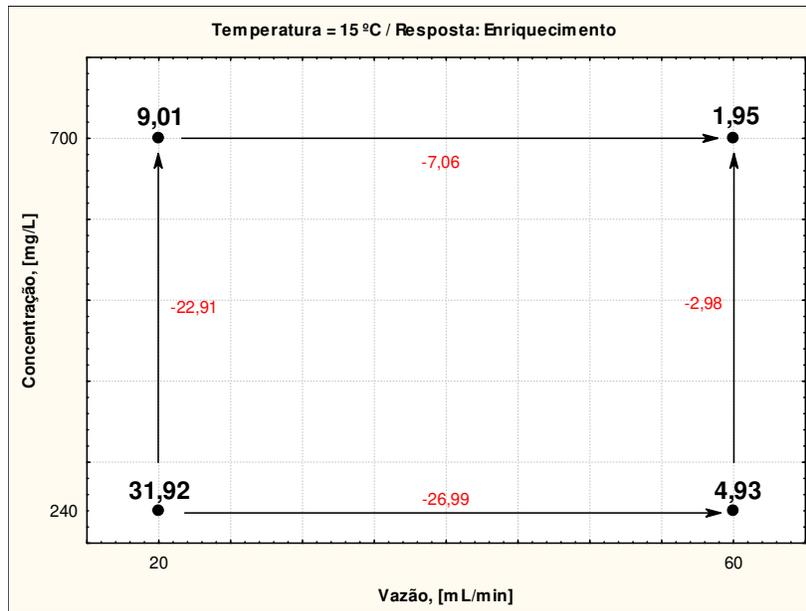


Figura 38 - Diagrama para interpretação dos resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para as temperaturas de 15 e 35 °C. Os valores nos vértices do retângulo são as respostas de enriquecimento.

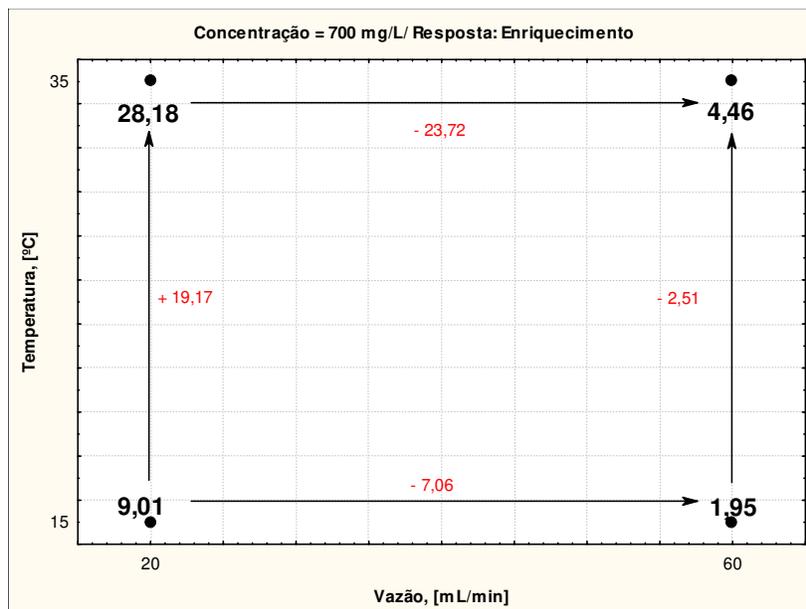
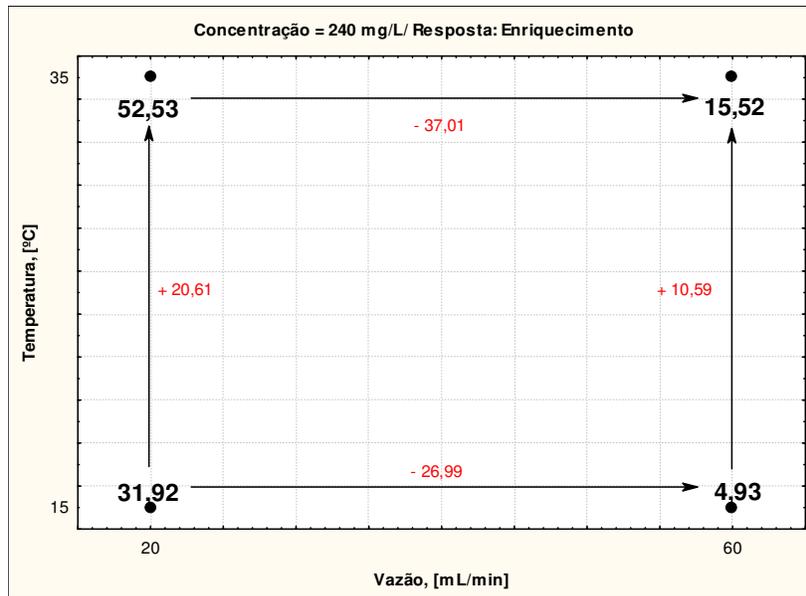


Figura 39 - Diagrama para interpretação dos resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para as concentrações de 240 e 700 mg/L. Os valores nos vértices do retângulo são as respostas de enriquecimento.

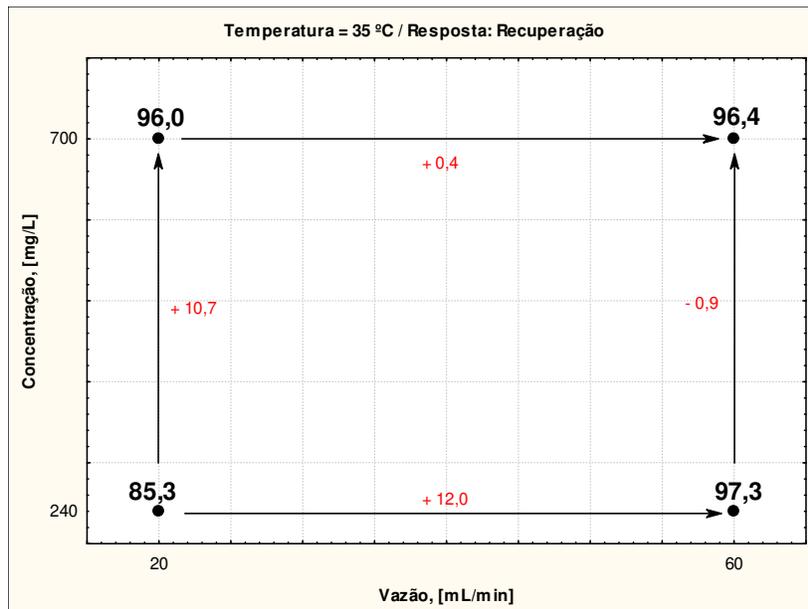
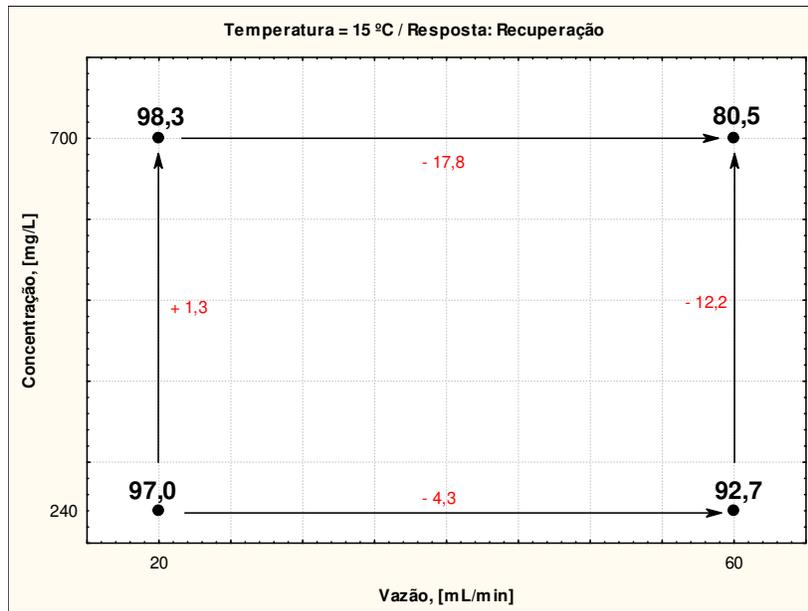


Figura 40 - Diagrama para interpretação dos resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para as temperaturas de 15 e 35 °C. Os valores nos vértices do retângulo são as respostas de recuperação.

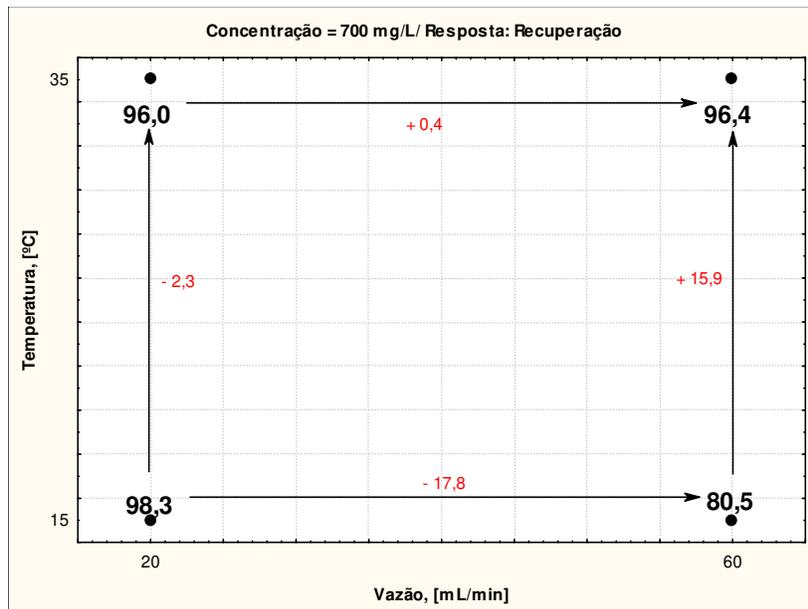
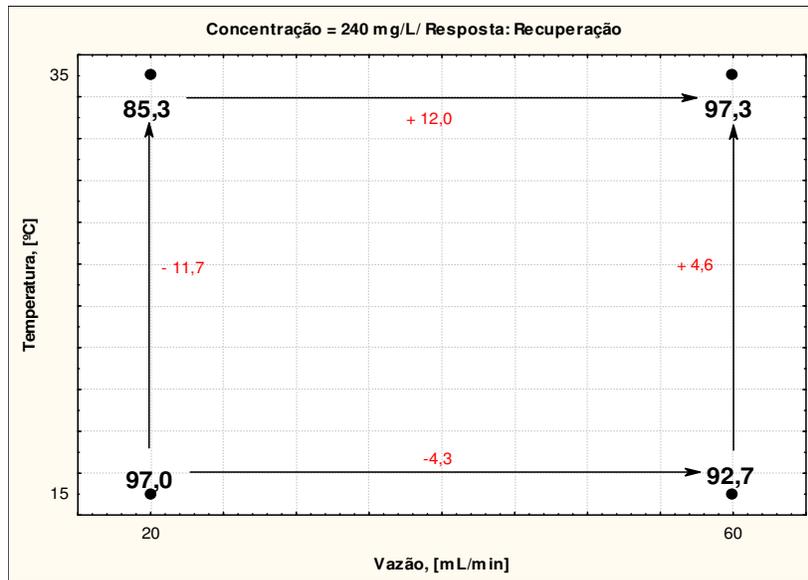


Figura 41 - Diagrama para interpretação dos resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para as concentrações de 240 e 700 mg/L. Os valores nos vértices do retângulo são as respostas de recuperação.

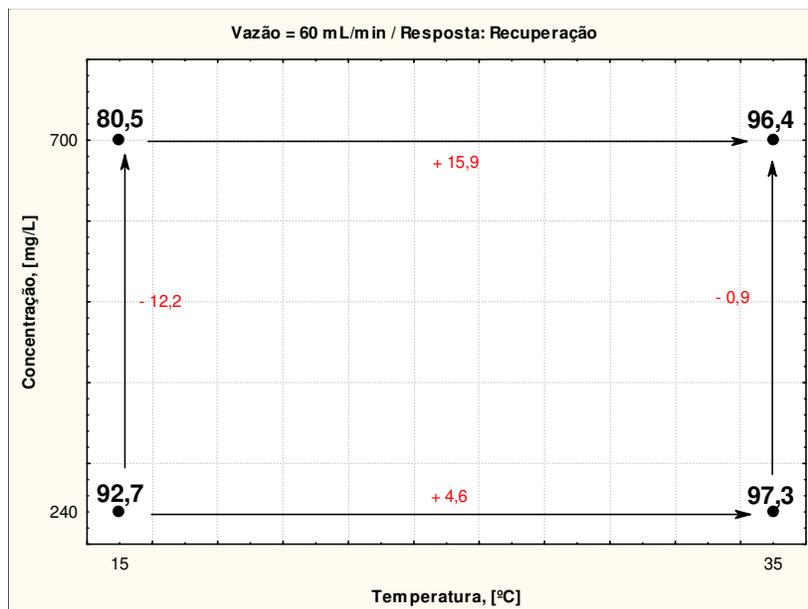
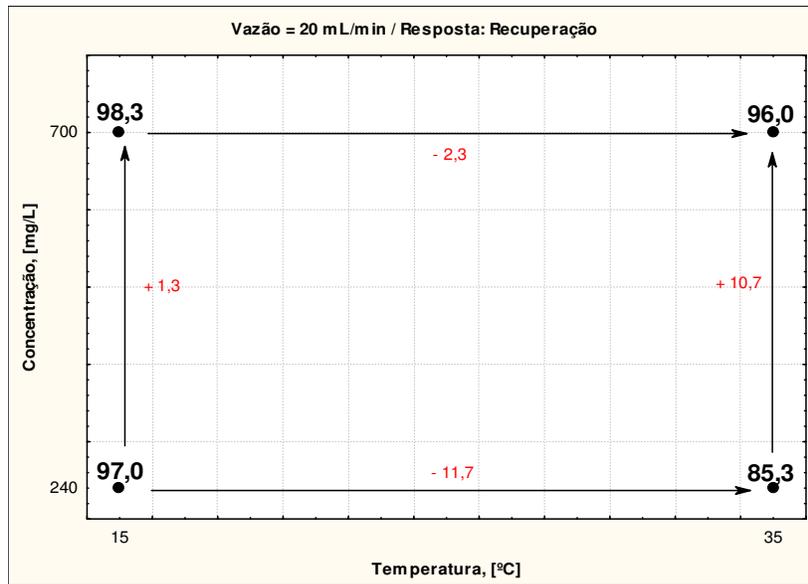


Figura 42 - Diagrama para interpretação dos resultados do planejamento fatorial 2^3 com ponto central para as vazões de 20 e 60 mL/min. Os valores nos vértices do retângulo são as respostas de recuperação.

As Figuras 40, 41 e 42 mostram os diagramas obtidos para o estudo da resposta recuperação. Na Figura 40 foi verificado que, para baixas temperaturas, os maiores valores de recuperação (98,3 %) ocorrem quando se trabalha com soluções apresentando alta concentração de surfactina e quando se opera a coluna com baixa vazão de gás. Por outro lado, para temperaturas superiores, os maiores valores de recuperação (97,3 %) são observados quando se tem soluções diluídas de surfactina e quando injeta-se, na coluna, gás a altas vazões.

Observando-se a Figura 41, pode-se dizer que, para concentrações relativamente baixas do biossurfactante na solução, os maiores valores de recuperação (97,3 %) são obtidos quando a coluna de fracionamento pode ser operada a altas temperaturas e elevadas vazões de gás. Este aumento na recuperação torna-se mais pronunciado quando se trabalha a altas temperaturas, a qual o aumento da vazão de gás de 20 para 60 mL/min provoca um salto no valor de recuperação de aproximadamente 12 %. Para baixas temperaturas e baixas concentrações, observa-se que a recuperação cai 4,3 % quando se eleva a vazão de gás.

Por outro lado, para concentrações elevadas de surfactina em solução, os maiores valores de recuperação (98,3 %) foram verificados para vazões reduzidas de gás e temperaturas relativamente baixas. Nota-se que, quando se eleva a vazão, para a temperatura de 15 °C, a recuperação reduz cerca de 17,8 %.

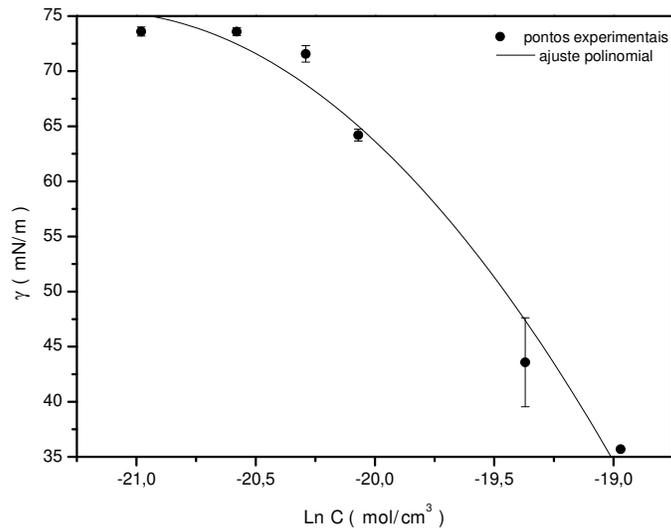
Finalmente, analisando-se a Figura 42, pode-se afirmar que, para vazões reduzidas de gás os maiores valores de recuperação (98,3 %) são vistos quando a coluna de fracionamento é operada a baixas temperaturas e com soluções relativamente concentradas do biossurfactante; ao passo que, para vazões elevadas do gás, os melhores valores de recuperação são obtidos operando-se a coluna a altas temperaturas e com soluções diluídas de surfactina.

5.4. Isotermas de adsorção

A equação de Gibbs (equação 11) foi utilizada para calcular a concentração superficial de surfactina, Γ , como uma função de sua concentração no seio da solução, em diferentes temperaturas. A partir da estimativa numérica dos valores da primeira derivada, obtida de equações polinomiais de 2ª ordem (funções quadráticas) ajustadas em gráficos de tensão superficial versus concentração do biossurfactante, em escala logarítmica (Figuras 43, 44 e 45), foi possível efetuar os cálculo de concentrações superficiais para as temperaturas de 15, 25 e 35 °C. Os valores de concentração superficial foram plotados em relação à concentração de surfactina em solução aquosa, obtendo-se curvas que representam o equilíbrio estabelecido entre as moléculas do biossurfactante na superfície gás-líquido e aquelas presentes no seio da solução, ou seja, foram obtidas as isotermas de Gibbs. Os pontos experimentais das isotermas foram ajustados de acordo com o modelo de adsorção proposto por Langmuir (Figura 46), que pode ser utilizado para prever a concentração superficial de surfactina como uma função de sua concentração no seio da solução, nas condições de equilíbrio. Foram estimados os dois parâmetros da equação que descreve o modelo (equação 12): a concentração máxima de surfactina adsorvida na superfície gás-líquido, $\Gamma_{máx.}$, e a constante de dissociação ou equilíbrio, K_d . Na Tabela 13 são mostrados os valores dos parâmetros estimados para as três temperaturas avaliadas.

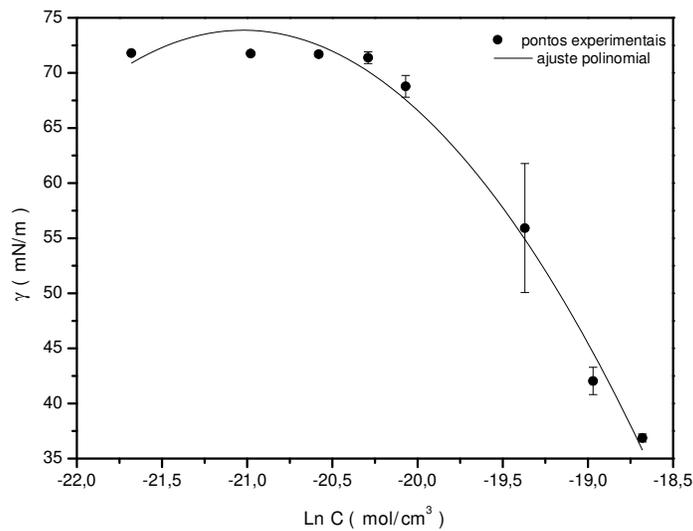
Tabela 13. Valores dos parâmetros estimados a partir da equação que descreve o modelo de adsorção de Langmuir.

Temperatura (°C)	$\Gamma_{máx.}$ (mol/cm ²)	K_d (mol/cm ³)
15	$3,320 \times 10^{-9} \pm 1,236 \times 10^{-10}$	$6,556 \times 10^{-9} \pm 6,306 \times 10^{-10}$
25	$2,682 \times 10^{-9} \pm 8,089 \times 10^{-11}$	$7,372 \times 10^{-9} \pm 5,490 \times 10^{-10}$
35	$2,182 \times 10^{-9} \pm 3,156 \times 10^{-11}$	$4,274 \times 10^{-9} \pm 1,911 \times 10^{-10}$



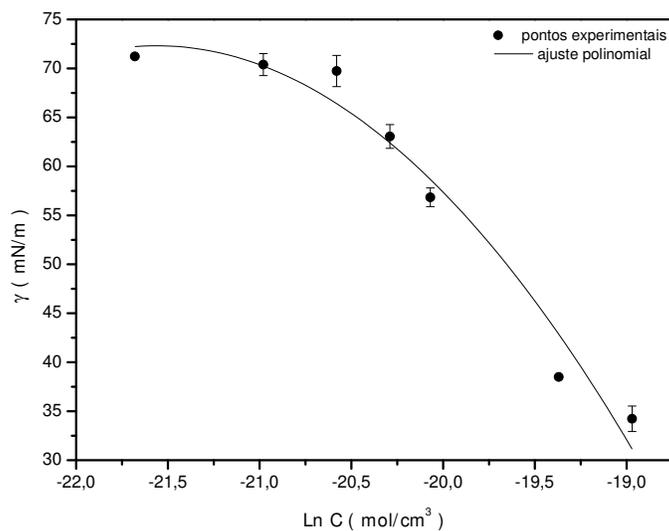
$$\gamma = -3836,612 - 369,733 \cdot \ln C - 8,736 \cdot (\ln C)^2 \quad R^2 = 0,977$$

Figura 43 - Tensão superficial da surfactina em função da sua concentração (em escala logarítmica) no seio da solução, medida a 15 °C



$$\gamma = -2993,222 - 291,779 \cdot \ln C - 6,939 \cdot (\ln C)^2 \quad R^2 = 0,988$$

Figura 44 - Tensão superficial da surfactina, em função da sua concentração (em escala logarítmica) no seio da solução, medida a 25 °C.



$$\gamma = -2777,676 - 264,356 \cdot \ln C - 6,130 \cdot (\ln C)^2 \quad R^2 = 0,969$$

Figura 45 - Tensão superficial da surfactina em função da sua concentração (em escala logarítmica) no seio da solução, medida a 35 °C.

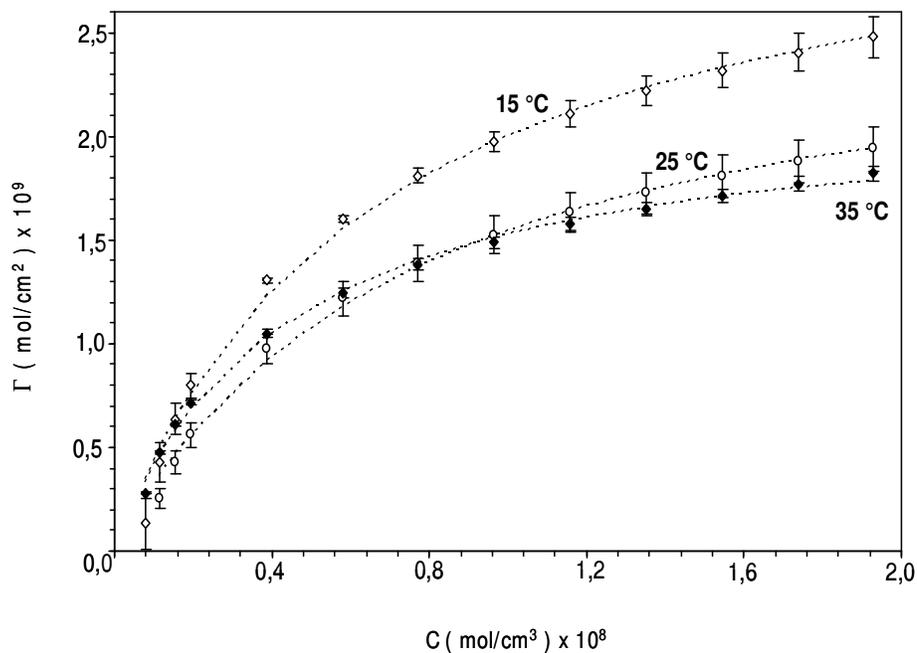


Figura 46 - Isothermas de adsorção de Gibbs para a surfactina, obtidas nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C e as respectivas curvas ajustadas pelo modelo de adsorção de Langmuir.

Segundo HAMILTON (1989), para um sistema com apenas um tensoativo, a equação que descreve o modelo de Langmuir para a adsorção também pode ser escrita por:

$$\Gamma = \frac{K.C_b}{a.(1 + K.C_b)} \quad (45)$$

equação na qual \hat{a} é a relação área/molécula da monocamada e K é a constante de equilíbrio.

Pode ser demonstrado, matematicamente, que os parâmetros \hat{a} e K são iguais ao inverso dos parâmetros $\Gamma_{máx.}$ e K_d , respectivamente. Seus valores foram calculados a partir dos parâmetros estimados da equação (12) e são mostrados na Tabela 14. Os valores de \hat{a} e K foram utilizados como dados de entrada do software PI / ACF ® versão 1.0, sendo indispensáveis à simulação das curvas de depleção de surfactina, conforme apresentado na seção 4.5 do capítulo 4.

Tabela 14. Valores dos parâmetros \hat{a} e K calculados a partir dos parâmetros $\Gamma_{máx.}$ e K_d , estimados pelo modelo de adsorção de Langmuir.

Temperatura (°C)	\hat{a} (m ² /mg)	K (m ³ /g)
15	0,0290	0,1455
25	0,0360	0,1309
35	0,0443	0,2244

Analisando-se a Figura 46, foi observado que as curvas obtidas para os pontos experimentais, nas temperaturas estudadas, apresentaram comportamento típico àquelas caracterizadas por uma isoterma de Langmuir. Verificou-se que, após um determinado valor de concentração de surfactina, as curvas tenderam à formação de patamares, a partir do qual as concentrações superficiais tornam-se máximas e se mantêm constantes. A obtenção destes patamares ocorre devido à saturação da camada de adsorção que, a partir

deste limite, perde sua capacidade de adsorver mais moléculas de surfactina. Foi observado também que a temperatura afetou o mecanismo de adsorção do biossurfactante. As curvas mostraram que as quantidades de surfactina adsorvidas na superfície gás-líquido decresceram com o aumento da temperatura. Uma observação dos valores do parâmetro que expressa a concentração máxima de surfactina adsorvida, $\Gamma_{máx.}$, mostrados na Tabela 13, reforçam a análise. Os valores destes parâmetros aumentaram linearmente com a redução da temperatura, aproximadamente 1,2 vezes. Portanto, o aumento da temperatura implicou, de fato, na diminuição da quantidade do biossurfactante adsorvido, o que justifica a natureza exotérmica do processo de adsorção. É válido ressaltar ainda que, os valores de $\Gamma_{máx.}$ estimados pelo ajuste apresentaram ordem de grandeza de 10^{-9} . Segundo Lemlich (1972), surfactantes que se adsorvem em monocamadas apresentam comumente valores de $\Gamma_{máx.}$ na ordem de 10^{-10} e 10^{-9} , o que foi verificado para o caso da adsorção de surfactina.

A qualidade do ajuste das curvas das isotermas (Figura 46) foi avaliada numericamente pela análise de variância (ANOVA). Os experimentos foram realizados em duplicata e as barras, observadas em cada ponto experimental, referem-se aos desvios padrão. Os valores em duplicatas foram utilizados para estimar o erro aleatório que permitiu julgar se o modelo de Langmuir descreve ou não satisfatoriamente os dados experimentais. Os resultados da ANOVA aplicada ao ajuste do modelo de Langmuir com dois parâmetros, para as temperaturas de 15, 25 e 35 °C estão reunidos nas Tabelas 15, 16 e 17, respectivamente. As somas quadráticas, apresentadas nas tabelas a seguir, referem-se às somas de quadrados dos desvios dados em relação à regressão (soma quadrática devida à regressão, SQ_R) e aos resíduos (soma quadrática residual, SQ_r). A soma quadrática residual pode ser decomposta pelas somas quadráticas devido ao erro puro (SQ_{ep}), que fornece medidas do erro aleatório, e à falta de ajuste (SQ_{faj}), que fornece medidas da falta de ajuste do modelo aos dados experimentais. Os desvios da regressão são definidos como a diferença entre os valores de Γ previstos pela equação do modelo de Langmuir e o valor médio de Γ , obtido a partir de todos os valores experimentais, ao passo que os desvios residuais são definidos como a diferença entre os valores experimentais de Γ e seus respectivos valores previstos pela equação do modelo. Dividindo-se as somas quadráticas pelos seus respectivos números de graus de liberdade, são obtidas as médias quadráticas

(MQ), cujos valores foram utilizados para avaliar a significância estatística da equação do modelo e verificar se o mesmo apresenta ou não falta de ajuste.

Observou-se na Tabela 15 que a percentagem de variação explicada pela regressão (R^2), isto é, a razão entre as somas quadráticas devida à regressão e a total foi de 98,67 %, indicando que o ajuste do modelo aos pontos experimentais foi satisfatório. Essa afirmação foi reforçada através da aplicação do teste F, para um intervalo de confiança de 95 %. Verificou-se que a equação que descreve o modelo de Langmuir foi estatisticamente significativa, pois o valor da razão (MQ_R/MQ_r) foi expressivamente maior que o valor de $F_{1,24}$, (valor obtido de tabelas estatísticas de distribuição F), isto é, $1780,89 \gg 4,26$. Também pelo teste F, foi observado que o modelo não apresentou falta de ajuste, pois o valor da razão (MQ_{faj}/MQ_{ep}) foi menor que o valor de $F_{11,13}$ tabelado ($2,09 < 2,64$).

Tabela 15. Análise de variância para o ajuste, pelo método dos mínimos quadrados, do modelo de Langmuir para dois parâmetros, avaliado na temperatura de 15 °C.

Fonte de variação	Soma quadrática	n.º graus de liberdade	Média quadrática
<i>Regressão</i>	$1,473 \times 10^{-17}$	1	$1,473 \times 10^{-17}$
<i>Resíduos</i>	$1,986 \times 10^{-19}$	24	$8,273 \times 10^{-21}$
<i>Falta de ajuste</i>	$1,269 \times 10^{-19}$	11	$1,153 \times 10^{-20}$
<i>Erro puro</i>	$7,168 \times 10^{-20}$	13	$5,514 \times 10^{-21}$
<i>Total</i>	$1,493 \times 10^{-17}$	25	
<i>% de variação explicada</i>			98,67
<i>% de variação máxima explicada</i>			99,52

Tabela 16. Análise de variância para o ajuste, pelo método dos mínimos quadrados, do modelo de Langmuir para dois parâmetros, avaliado na temperatura de 25 °C.

Fonte de variação	Soma quadrática	n.º graus de liberdade	Média quadrática
<i>Regressão</i>	$7,312 \times 10^{-18}$	1	$7,312 \times 10^{-18}$
<i>Resíduos</i>	$1,260 \times 10^{-19}$	22	$5,727 \times 10^{-21}$

Continua

Fonte de variação	Soma quadrática	n.º graus de liberdade	Média quadrática
<i>Falta de ajuste</i>	$3,751 \times 10^{-20}$	10	$3,751 \times 10^{-21}$
<i>Erro puro</i>	$8,848 \times 10^{-20}$	12	$7,374 \times 10^{-21}$
<i>Total</i>	$7,438 \times 10^{-18}$	23	
<i>% de variação explicada</i>			98,31
<i>% de variação máxima explicada</i>			98,81

Tabela 17. Análise de variância para o ajuste, pelo método dos mínimos quadrados, do modelo de Langmuir para dois parâmetros, avaliado na temperatura de 35 °C.

Fonte de variação	Soma quadrática	n.º graus de liberdade	Média quadrática
<i>Regressão</i>	$1,408 \times 10^{-17}$	1	$1,408 \times 10^{-17}$
<i>Resíduos</i>	$2,370 \times 10^{-20}$	24	$9,876 \times 10^{-22}$
<i>Falta de ajuste</i>	$1,573 \times 10^{-20}$	11	$1,430 \times 10^{-21}$
<i>Erro puro</i>	$7,971 \times 10^{-21}$	13	$6,131 \times 10^{-22}$
<i>Total</i>	$1,410 \times 10^{-17}$	25	
<i>% de variação explicada</i>			99,83
<i>% de variação máxima explicada</i>			99,94

Pela análise da Tabela 16, observou-se que 98,31 % da variação total em torno da média foi explicada pela regressão e apenas 1,69 % pelos resíduos. Pela aplicação do teste F, no nível de 95% de confiança, verificou-se que a razão (MQ_R/MQ_r) foi superior ao valor de $F_{1,22}$ ($1276,77 \gg 4,30$) e que a razão (MQ_{faj}/MQ_{ep}) foi menor que o valor de $F_{10,12}$ ($0,51 < 2,75$). O mesmo foi observado através da análise da Tabela 17, o qual a percentagem de variação explicada apresentou valor de 99,83 % e as razões (MQ_R/MQ_r) com relação a $F_{1,24}$ e (MQ_{faj}/MQ_{ep}) diante de $F_{11, 13}$ foi superior ($14256,87 \gg 4,26$) e inferior ($2,33 < 2,64$), respectivamente. Estes valores comprovaram, de fato, que os ajustes do modelo de Langmuir aos pontos experimentais das curvas mostradas na Figura 46 para as temperaturas de 25 e 35 °C também foram satisfatórios, visto que o modelo não indicou falta de ajuste e a equação pelo qual é descrito apresentou significância estatística.

5.5. Diâmetro das bolhas na coluna de líquido

Os diâmetros das bolhas presentes na coluna de líquido do fracionamento de soluções de surfactina com concentrações iniciais de 240 e 400 mg/L e vazões do gás de 20, 40 e 60 mL/min foram determinados pelo método Shadow Imaging. No entanto, não foi possível obter o valor do diâmetro das bolhas para soluções de surfactina com 700 mg/L, pois a mesma apresentou aspecto turvo e, com a execução do experimento, um turbilhão de bolhas com pequenos diâmetros foi gerado. Ambos os fatores comprometeram a qualidade das imagens, as quais apresentaram baixa definição mesmo quando altas intensidades de raio laser eram emitidas na solução.

Imagens de referências sem a presença de bolhas foram obtidas para as soluções de surfactina utilizadas no experimento. Estas imagens foram utilizadas pelo software para inverter imagens contrastadas, subtraindo da imagem de referência a imagem capturada. O método permitiu observar, em tempo real, as imagens das bolhas, as quais foram estatisticamente tratadas para a obtenção da distribuição de seus diâmetros. As imagens de referência e as que envolvem a presença das bolhas na coluna de líquido com suas respectivas condições experimentais podem ser vistas do Apêndice C.

A distribuição do diâmetro das bolhas (Figuras 47, 48 e 49), foi obtida para o início dos experimentos, visando determinar o diâmetro médio de Sauter, um dos principais dados de entrada utilizado para obtenção das curvas de depleção de surfactina, apresentadas neste trabalho. Um exemplo da distribuição do diâmetro das bolhas obtida pelo método óptico pode ser observado na Figura 47. Milhares de bolhas foram tratadas pelo software, obtendo-se, a partir da distribuição destas bolhas, um diâmetro médio de Sauter (d_b) de 0,371 mm em solução de surfactina com concentração de 240 mg/L e injeção de gás na coluna de líquido na vazão de 20 mL/min. Valores próximos de diâmetros médio de Sauter foram obtidos para as demais condições experimentais (Tabela 18).

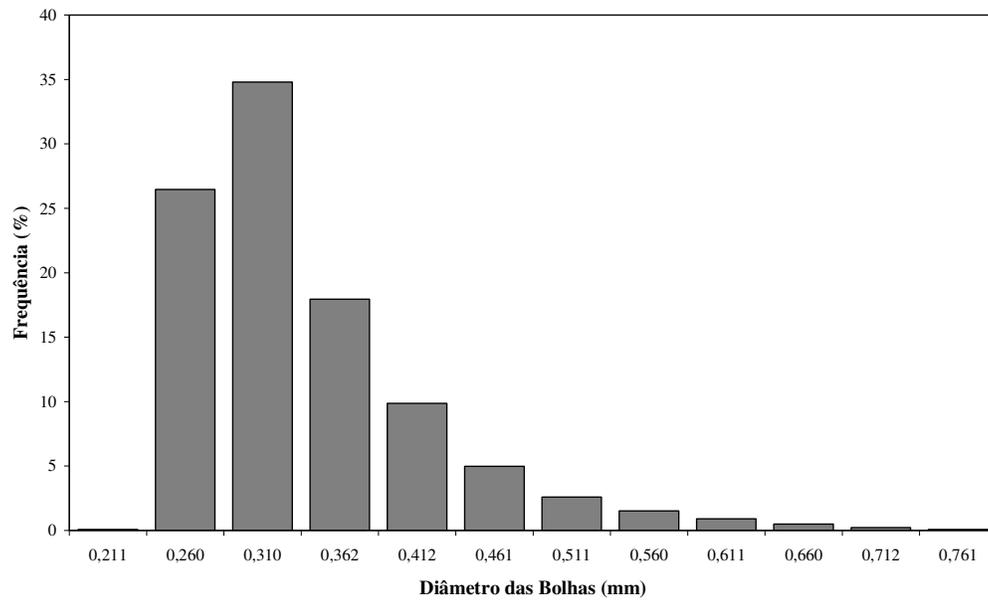


Figura 47 - Distribuição do diâmetro das bolhas presentes na coluna de líquido no início do experimento ($C_0 = 240 \text{ mg/L}$; $Q = 20 \text{ mL/min}$)

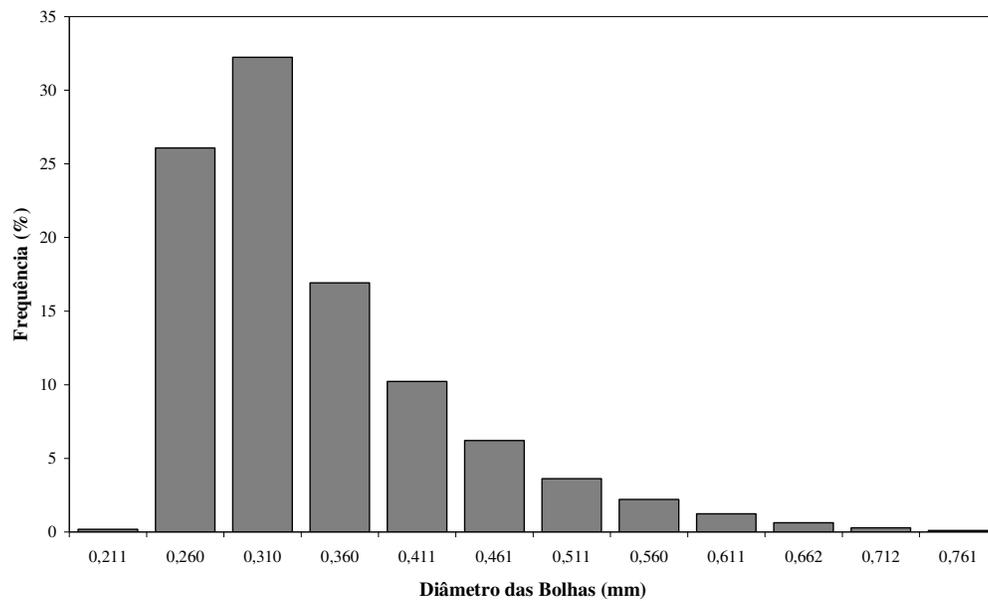


Figura 48 - Distribuição do diâmetro das bolhas presentes na coluna de líquido no início do experimento ($C_0 = 400 \text{ mg/L}$; $Q = 40 \text{ mL/min}$).

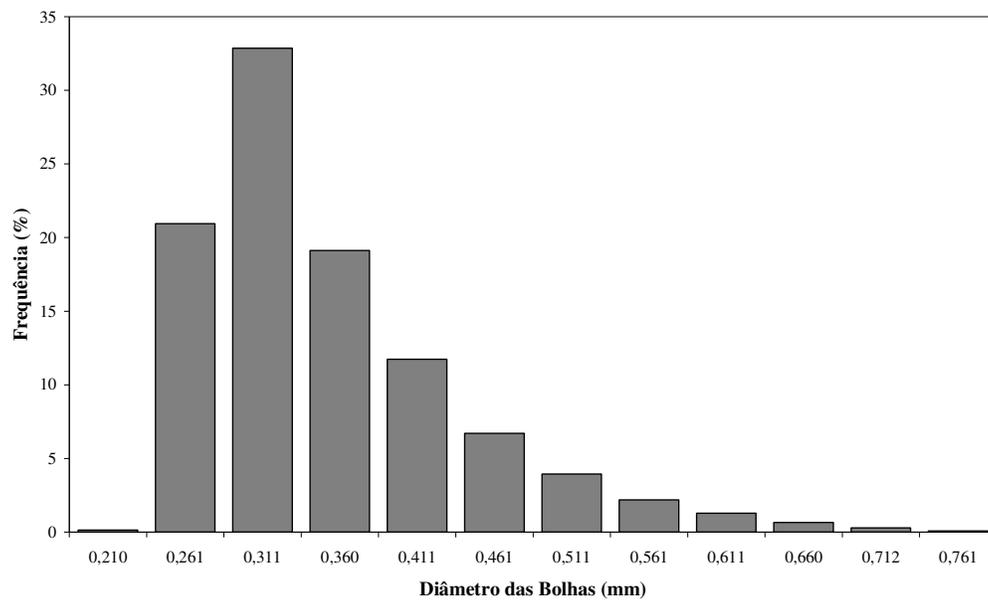


Figura 49 - Distribuição do diâmetro das bolhas presentes na coluna de líquido no início do experimento ($C_0 = 240 \text{ mg/L}$; $Q = 60 \text{ mL/min}$).

Tabela 18. Valores de d_b obtidos a partir da distribuição do diâmetro de bolhas em coluna de líquido em diferentes condições experimentais.

Concentração (mg/L)	Vazão (mL/min)	N.º de bolhas analisadas	d_b (mm)
240	20	60042	0,371
400	40	158400	0,386
240	60	17825	0,390

5.6. Comparação entre as variações experimentais e simuladas da concentração de surfactina na coluna de líquido com o tempo para fracionamento com espuma

Para verificar se o modelo matemático proposto para a coluna de líquido no processo de fracionamento com espuma (Capítulo 4) descreve satisfatoriamente os resultados experimentais da variação da concentração de surfactina com o tempo, estes foram comparados aos resultados obtidos através de simulações. As Figuras 50 a 58 mostram a comparação dos resultados simulados e experimentais.

A resolução do modelo foi realizada utilizando-se os valores do coeficiente volumétrico de transferência de massa (k_{La}) preditos pela correlação de Ozturk et al., (1987). A escolha dessa correlação baseou-se nos estudos de Deckwer e Schumpe (1993) que recomendam sua aplicação para colunas de líquido com diâmetros inferiores a 9,5 cm. A coluna de líquido do presente trabalho apresentava 7,5 cm de diâmetro interno, o que possibilitou a aplicação da correlação. Porém, para a obtenção dos valores de k_{La} , foi necessário conhecer o valor do coeficiente de difusão para a surfactina; valores estes estimados através de uma correlação (tópico 4.5, capítulo 4) proposta por Geankoplis (1983), utilizada para casos envolvendo a difusão de solutos biológicos em meio líquido. Os valores dos coeficientes de difusão, para a surfactina, obtidos pela correlação foram de $2,348 \times 10^{-6}$, $3,112 \times 10^{-6}$ e $3,975 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ para as temperaturas de 15, 25 e 35 °C, respectivamente. A isoterma de adsorção deste sistema foi representada pelo modelo de Langmuir, cujos valores dos parâmetros foram determinados experimentalmente.

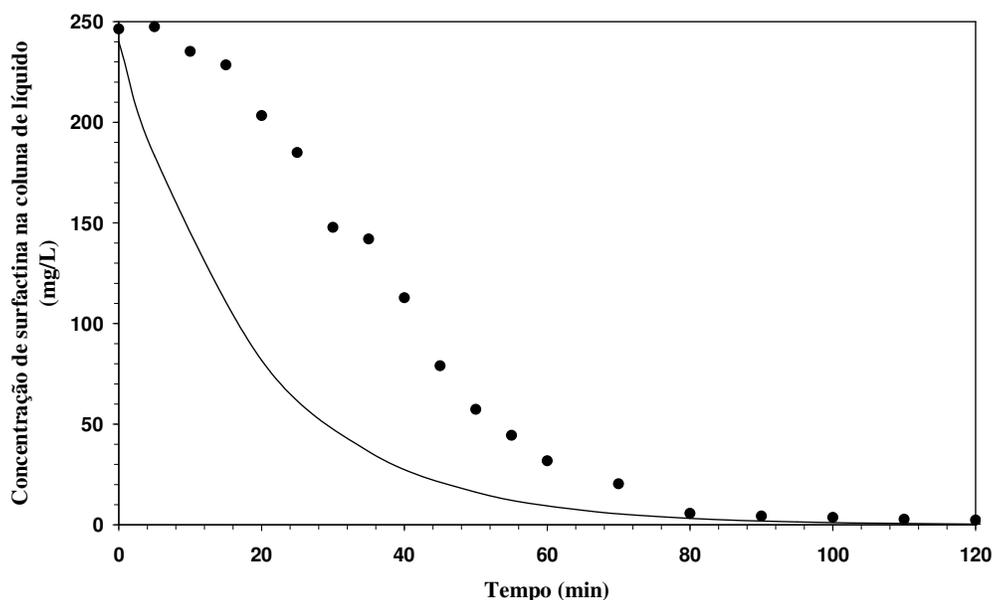


Figura 50 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 240$ mg/L; $V = 20$ mL/min; $T = 15$ °C).

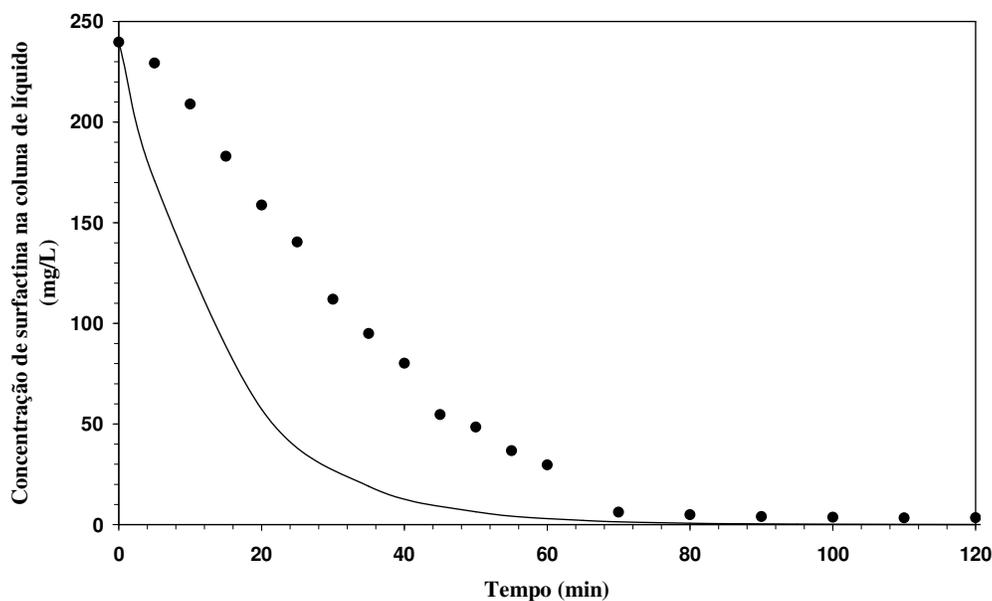


Figura 51 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 240$ mg/L; $V = 20$ mL/min; $T = 35$ °C).

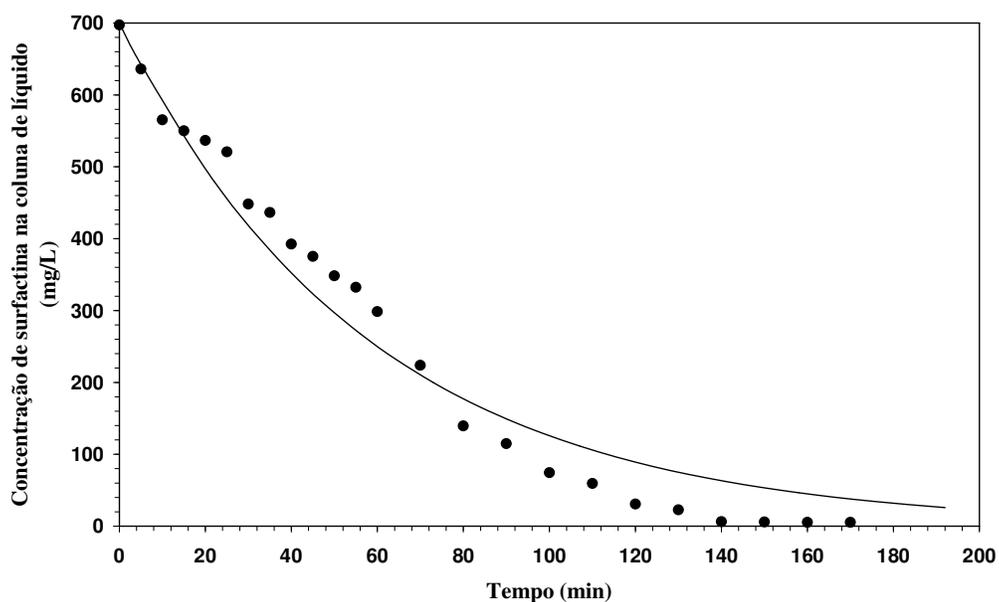


Figura 52 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 700 \text{ mg/L}$; $V = 20 \text{ mL/min}$; $T = 15 \text{ °C}$).

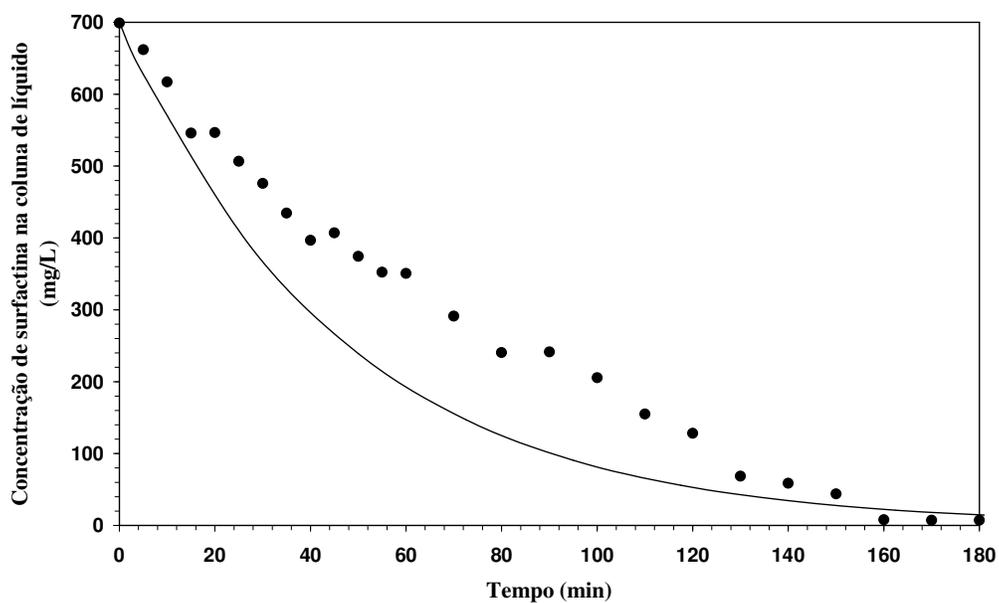


Figura 53 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 700 \text{ mg/L}$; $V = 20 \text{ mL/min}$; $T = 35 \text{ °C}$).

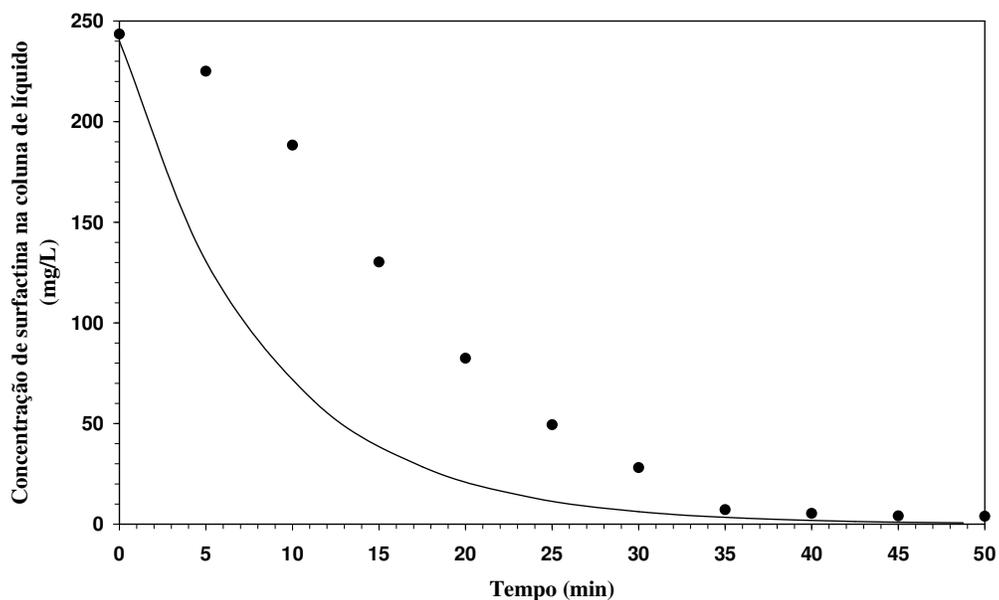


Figura 54 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 240$ mg/L; $V = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).

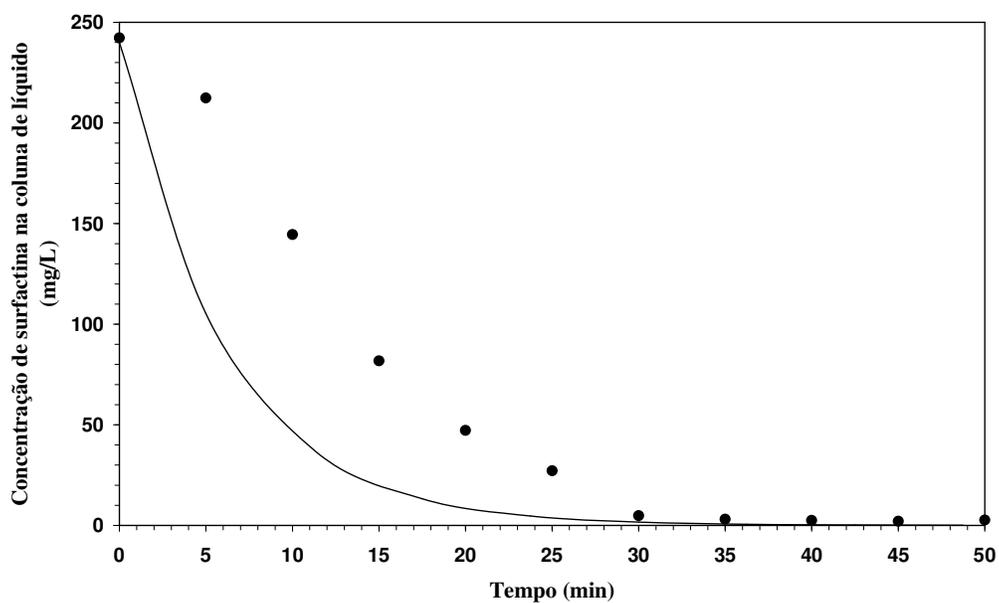


Figura 55 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 240$ mg/L; $V = 60$ mL/min; $T = 35$ °C).

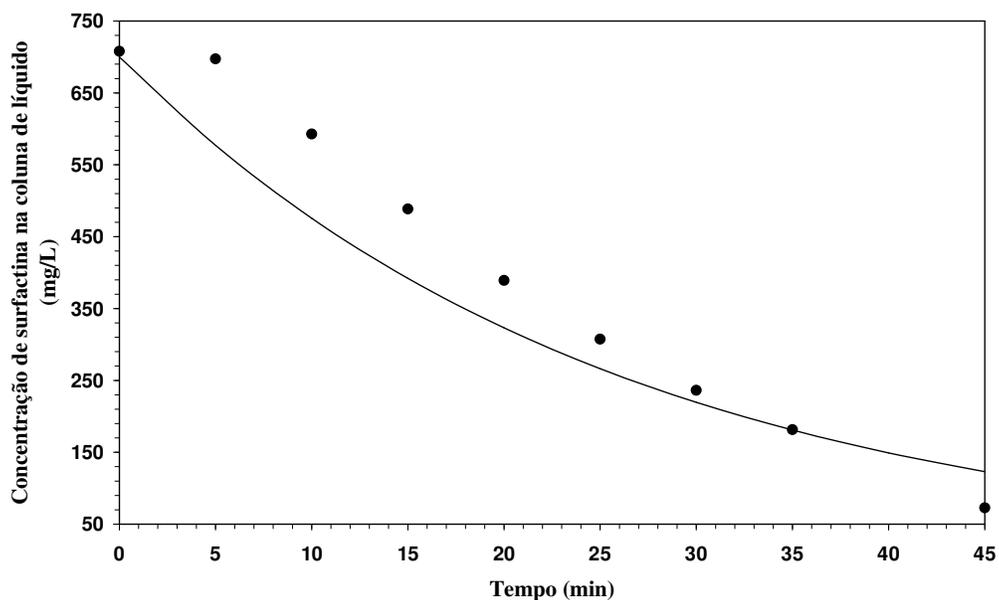


Figura 56 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 700$ mg/L; $V = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).

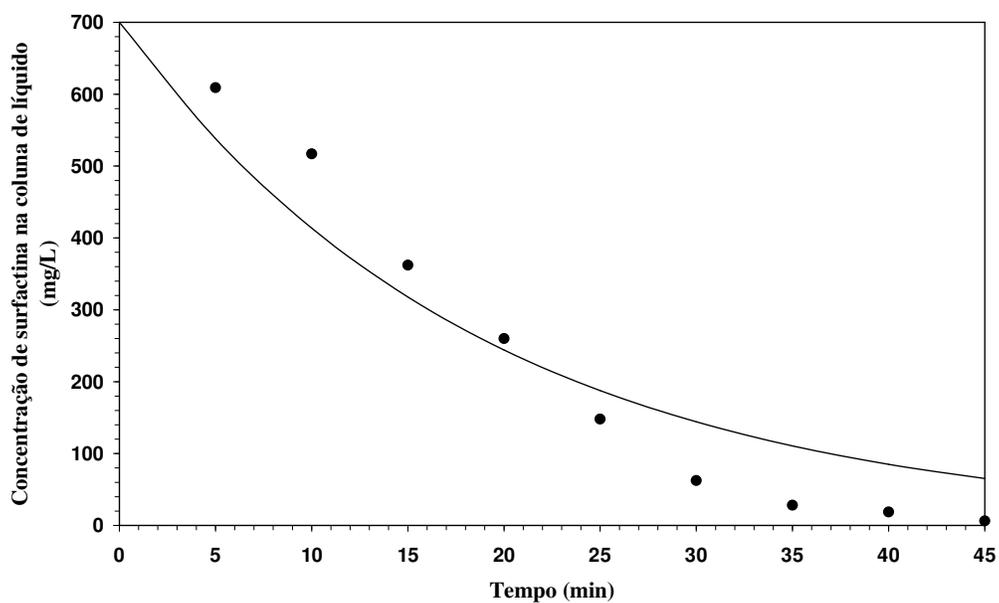


Figura 57 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 700$ mg/L; $V = 60$ mL/min; $T = 35$ °C).

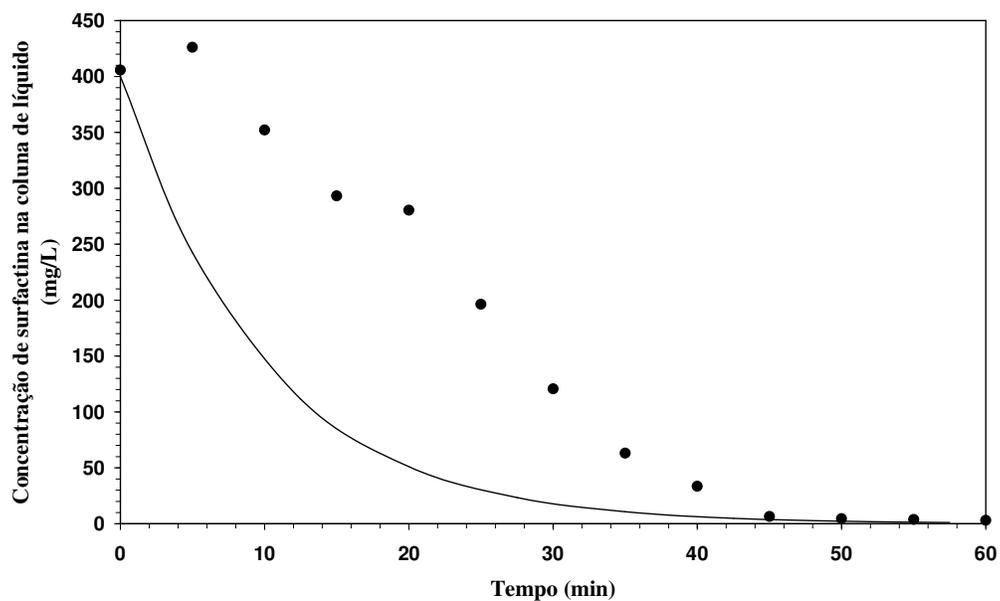


Figura 58 - Comparação entre o modelo para a variação da concentração de tensoativo na coluna de líquido e os dados experimentais obtidos para o fracionamento com espuma de surfactina ($C_0 = 400$ mg/L; $V = 40$ mL/min; $T = 25$ °C).

O modelo foi resolvido adotando-se várias considerações. A primeira delas foi considerar a concentração de surfactina na coluna de líquido, a altura da coluna de líquido e o diâmetro médio das bolhas constantes durante a ascensão de uma bolha de gás. Esta consideração foi razoável uma vez que o tempo de ascensão das bolhas é pequeno para se considerar qualquer variação no processo. Também foram considerados constantes os valores de tensão superficial para as soluções de surfactina, cujos parâmetros físico-químicos (densidade, viscosidade e tensão superficial) adotados foram iguais ao da água.

Quanto aos valores dos diâmetros das bolhas de gás utilizados nas simulações, foram obtidos os diâmetros médios de Sauter a partir da distribuição do diâmetro de bolhas geradas nos instantes iniciais de cada experimento. Vale ressaltar, conforme discutido na seção 5.5 deste capítulo, que não foi possível obter experimentalmente a distribuição do diâmetro de bolhas para soluções de surfactina com concentração inicial de 700 mg/L. Para estas concentrações foram considerados, para a fins de simulação, valores de diâmetros médios de Sauter correspondentes às suas respectivas vazões volumétricas, pois os valores dos diâmetros variaram muito pouco para as diferentes condições experimentais.

Pode-se observar nas Figuras 50 a 58 que as curvas experimentais e as obtidas pelo modelo matemático apresentaram a mesma tendência, isto é, mostraram a diminuição da concentração do biossurfactante na coluna de líquido com o tempo. O modelo, apesar de apresentar desvios (Figuras 50, 51, 54, 55 e 59), representou satisfatoriamente os resultados experimentais, principalmente para os casos envolvendo soluções com concentração relativamente elevada de surfactina. Os desvios podem ser justificados pelos valores dos diâmetros utilizados na simulação. Conforme mencionado acima, foram obtidas apenas as distribuições dos diâmetros das bolhas no início dos experimentos e não ao longo das corridas experimentais. Estudos de Rosa (1996) demonstraram que o diâmetro das bolhas na coluna de líquido durante o fracionamento com espuma de um tensoativo (albumina de soro bovino) sofreu variações com o tempo, principalmente na etapa final do processo. Conforme o tensoativo é removido da solução, sua concentração diminui na coluna de líquido com o passar do tempo e o equilíbrio de adsorção do tensoativo na interface gás-líquido torna-se menos provável, podendo ocasionar o aumento do diâmetro das bolhas (ROSA, 1996). Portanto, para demonstrar a importância do diâmetro das bolhas nos ajustes

do modelo matemático proposto, foram obtidas a partir de resultados simulados, curvas de variação da concentração de surfactina com o tempo, para diferentes diâmetros (Figuras 59 e 60). Analisando-se as Figuras 59 e 60, observa-se que quanto maior o diâmetro médio das bolhas, melhor o ajuste do modelo. Logo, uma tentativa para se buscar uma melhor concordância entre os resultados experimentais e simulados para a surfactina seria determinar a distribuição do diâmetro das bolhas em intervalos de tempo regulares durante toda a corrida experimental. Uma outra alternativa seria, então, determinar através de medidas experimentais, a variação das tensões superficiais das soluções de surfactina coletadas na coluna de líquido com o tempo e calcular o diâmetro das bolhas ao decorrer dos experimentos através da equação de Young-Laplace para bolha esféricas, dada por:

$$\frac{d_b(t)}{\gamma(t)} = \frac{d_{bo}}{\gamma_o} \quad (46)$$

equação na qual d_{bo} e $d_b(t)$ correspondem aos diâmetros da bolha inicial e dado em função do tempo, respectivamente; e γ_o e $\gamma(t)$ referem-se às tensões superficiais inicial e medidas a cada intervalo de tempo para as soluções de surfactina coletadas da coluna de líquido, respectivamente.

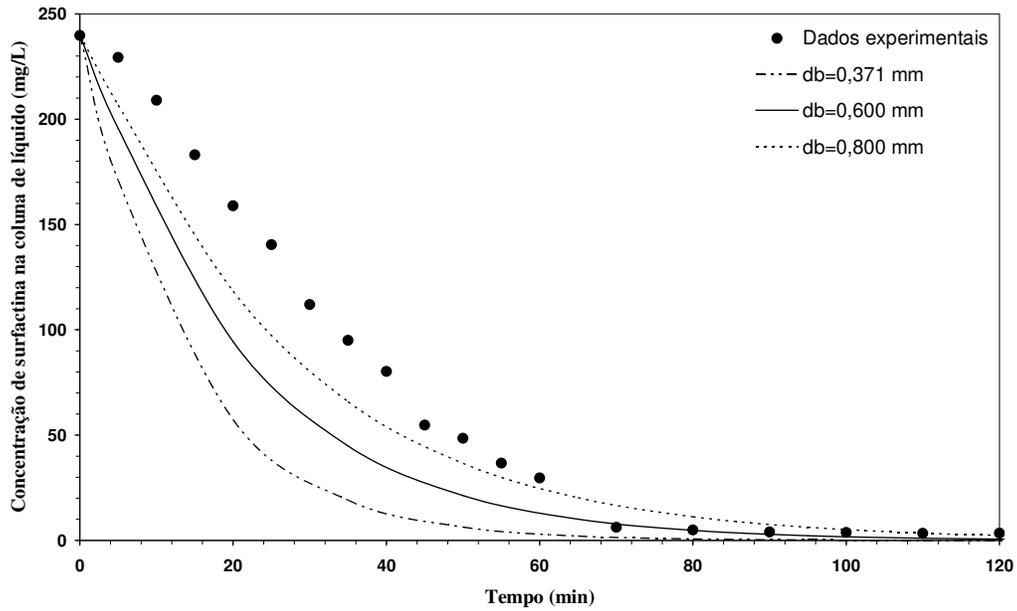


Figura 59 - Comparação entre os resultados experimentais e simulados a diferentes diâmetros médios de bolhas para a variação da concentração de surfactina com o tempo na coluna de líquido ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 20$ mL/min; $T = 35$ °C).

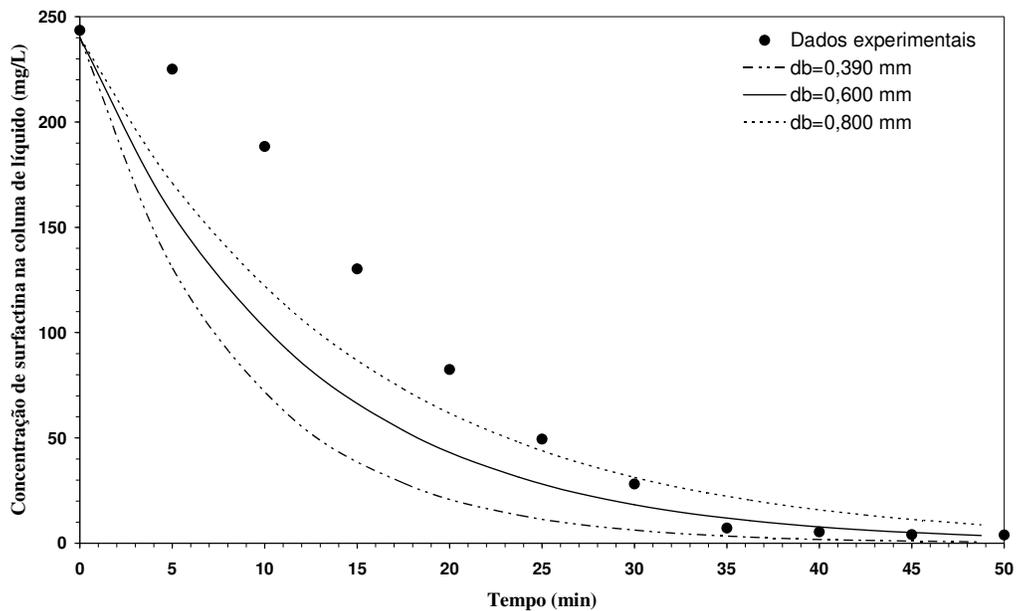


Figura 60 - Comparação entre os resultados experimentais e simulados a diferentes diâmetros médios de bolhas para a variação da concentração de surfactina com o tempo na coluna de líquido ($C_0 = 240$ mg/L; $Q = 60$ mL/min; $T = 15$ °C).

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES E SUGESTÕES

As principais conclusões obtidas com a realização deste trabalho são apresentadas a seguir e separadas por assunto desenvolvido. Também são apresentadas as sugestões para trabalhos futuros.

7.1. Conclusões

- *Concentração de surfactina na coluna de líquido e na espuma*

O fracionamento em coluna de bolhas e espuma é um processo viável que pode ser utilizado como etapa promissora para concentrar, separar e recuperar substâncias biológicas a partir de soluções diluídas, como por exemplo, o biossurfactante surfactina. Através deste processo, foi possível obter soluções remanescentes na coluna de líquido com baixa concentração no biossurfactante e espumas relativamente concentradas no mesmo para todas as condições experimentais avaliadas. Em razão disso, foram alcançados valores consideráveis de enriquecimento e recuperação, similares aos reportados na literatura. O maior valor de enriquecimento, aproximadamente 52,5 vezes, ocorreu quando se operou a coluna de fracionamento com soluções apresentando baixa concentração de surfactina, reduzida vazão de gás e temperatura de operação relativamente elevada, ao passo que o menor valor, apenas 1,9 vezes, foi observado para soluções concentradas, altas vazões e baixas temperaturas. Valores expressivos de recuperação também foram obtidos, variando-se entre 80,5 a 98,3 %. Além disso, através do uso de técnicas estatísticas de planejamento experimental, foram investigadas as variáveis envolvidas no processo e definidas quais delas afetaram significativamente as respostas enriquecimento e recuperação. Foi

demonstrado que as variáveis vazão, concentração e temperatura, bem como as interações vazão-concentração e vazão-temperatura afetam o enriquecimento, ao passo que, a recuperação foi afetada pelas variáveis vazão e temperatura. A variável concentração não afetou sozinha a recuperação, mas sim, a sua interação com a variável temperatura, bem como as interações vazão-concentração e vazão-temperatura.

- *Diâmetro das bolhas na coluna de líquido*

Foi possível determinar a distribuição do diâmetro das bolhas de gás presentes na coluna de líquido no início dos experimentos através da utilização de método óptico aplicando-se a técnica Shadow Imaging. No entanto, para soluções com concentração de 700 mg/L de surfactina, não foi possível obter a distribuição visto que as imagens apresentaram baixa definição devido ao aspecto turvo da solução e à formação de turbilhões de pequenas bolhas durante a execução dos experimentos. Ambos os fatores impossibilitaram o tratamento estatístico das imagens.

- *Isotermas de adsorção*

Foram obtidas as isotermas de adsorção de Gibbs para a surfactina nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C e, estas, foram ajustadas de acordo com o modelo de isoterma de adsorção de Langmuir, cujos parâmetros foram estimados. A aplicação da técnica de análise de variância (ANOVA) mostrou que o modelo se ajustou satisfatoriamente aos pontos experimentais, não apresentando falta de ajuste e a equação que o descreve foi estatisticamente significativa. Portanto, ficou comprovado que a adsorção de surfactina na interface gás-líquido se dá em monocamadas.

- *Modelagem matemática e simulação*

O modelo desenvolvido para a determinação da concentração de tensoativo na coluna de líquido apresentou a mesma tendência quando comparado aos pontos experimentais, pois as curvas simuladas indicaram a diminuição da concentração de surfactina com o tempo. Conclui-se, portanto, que o modelo representou satisfatoriamente os resultados experimentais obtidos.

7.2. Sugestões para futuros trabalhos

Como observado, o modelo matemático proposto para descrever a variação da concentração de tensoativo com o tempo na coluna de líquido apresentou desvios com relação aos valores experimentais. Foi demonstrado pelo próprio modelo e através de outros trabalhos reportados na literatura, que o diâmetro das bolhas é um parâmetro significativo para se obter um melhor ajuste. Por isso, recomenda-se fazer um estudo aprofundado a respeito da variação do diâmetro das bolhas ao decorrer dos experimentos, ou seja, obter a distribuição do diâmetro das bolhas em intervalos regulares de tempo até o término da corrida experimental. Seria fundamental estudar a relação existente entre o diâmetro das bolhas com a concentração do biossurfactante, a vazão de gás injetada e a altura e temperatura da coluna de líquido.

Outra sugestão proposta seria estudar, em detalhes, o processo de fracionamento de surfactina simultaneamente com sua produção. Seria interessante montar um sistema com o biorreator integrado à coluna, desenvolvendo-se, assim, novos modelos matemáticos e obtendo-se a otimização do processo para ampliação de escala e aplicação na indústria. Com a integração do sistema, torna-se possível avaliar o enriquecimento e a recuperação do biossurfactante para soluções diluídas e que apresentam células microbianas em sua composição.

O processo de fracionamento com espuma, para o caso da surfactina, também poderia ser estudado levando-se em consideração a avaliação dos efeitos do refluxo externo na coluna e a altura das colunas de líquido e espuma.

CAPÍTULO 7

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMSON, A.W. *Physical chemistry of surfaces*. New York: A Wiley-Interscience, publication, 1990, 777 p.

AHMAD, S.I. Laws of foam formation and foam fractionation, I and II. *Separation Science*, v.10, n.6, p.637-700, 1975.

ANDREWS, G.; SCHULTZ, F. Differential adsorption of pepsin and rennin on foam. *Proceedings of Biochemical Society*, li-lii, 1945.

ARIMA, K.; KAKINUMA, A.; TAMURA, G. Surfactin, a crystalline peptidelipid surfactant produced by *Bacillus subtilis*: isolation, characterization and its inhibition of fibrin clot formation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.31, p.488-494, 1968.

AUBERT, J.H.; KRAYNIK, A.M.; RAND, P.B. Aqueous foams. *Scientific American*, p.74-82, 1986.

AWASHTI, N.; KUMAR, A.; MAKKAR, R.; CAMEOTRA, S. Enhanced biodegradation of endosulfan, a chlorinated pesticide in presence of a biosurfactant. *Journal of Environmental Science and Health B*, v.34, p.793-803, 1999.

BADER, R.; SCHULTZ, F. Fractionation by adsorption and crystallization on foam, part III, experiments with bile salts. *Transactions of the Faraday Society*, v.42, p.571-576, 1946.

BAHR, K.H.; WEISSER, H.; SCHUGERL, K. Investigation of proteins excreted by the yeast *Hansenula polymorpha* and their influence on broth foaming and cell recovery by flotation. *Enzyme Microbiological Technology*, v.13, p.747-754, 1991.

BANAT, I.M.; MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S. Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.53, p.495-508, 2000.

BANERJEE, R.; AGNIHOTRI, R.; BHATTACHARYYA, B.C. Purification of alkaline protease of *Rhizopus oryzae* by foam fractionation. *Bioprocess Engineering*, v.9, p.245-248, 1993.

BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I.S.; BRUNS, R.E. *Como fazer experimentos*. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2007, 480 p.

BARROS, F.F.C.; QUADROS, C.P.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R.; PASTORE, G.M. Surfactina: propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos. *Química Nova*, v.30, n.2, p.409-414, 2007.

BHATTACHARYA, P.; GHOSAL, S.K.; SEN, K. Column design parameters for foam fractionating human placental extract. *Separation Science and Technology*, v.29, p.855-865, 1994.

BISPERINK, C.G.J.; ROTELTAP, A.D.; PRINS, A. Bubble-size distribution in foams. *Advances in Colloid and Interface Science*, v.38, p.13-32, 1992.

BRITTEN, M.; LAVOIE, L. Foaming properties of proteins as affected by concentration. *Journal of Food Science*, v.57, n.5, p.1219-1222, 1992.

BRODER, D.; SOMMERFELD, M. A PIV/PTV system for analyzing turbulent bubbly flows. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM APPLICATION OF LASER TECHNIQUES TO FLUID MECHANICS, 10th , 2000, Lisbon, 2000.

BROWN, L.; NARSIMHAN, G.; WANKAT, P.C. Foam fractionation of globular proteins. *Biotechnology and Bioengineering*, v.36, p.947-959, 1990.

CARAGAY, A.B.; KARGER, B.L. Use of rate phenomena in solvent sublation. Separation of methyl orange and rhodamine B. *Analytical Chemistry*, v.38, p.652-654, 1966.

CHARM, S.E.; MORNINGSTAR, J.; MATTEO, C.C.; PALTIEL, B. The separation and purification of enzymes through foaming. *Analytical Biochemistry*, v.15, p.498-508, 1966.

CHEN, C.; BAKER, S.C.; DARTON, R.C. Batch production of biosurfactant with foam fractionation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v.81, p.1923-1931, 2006.

COOPER, D.G.; MacDONALD, C.R.; DUFF, S.J.B.; KOSARIC, N. Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by continuous product removal and metal cation addition. *Applied and Environmental Microbiology*, v.42, p.408-412, 1981.

COSTA, GISELLE APARECIDA NOBRE. *Produção biotecnológica de surfactante de Bacillus subtilis em resíduos agroindustriais, caracterização e aplicação*. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2005. 101p. Tese (Mestrado).

CRASTO, CLAUDIA JULIANA TABOSA LOPES DE. *Avaliação da produção de ramnolipídios por bactérias isoladas de poços de petróleo*. Recife: Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, 2005. 67p. Tese (Mestrado).

CUBITTO, M.A.; MORÁN, A.C.; COMMENDATORE, M.; SCHIARELLO, M.N.; BALDINI, M.D.; SIÑERIZ, F. Effects of *Bacillus subtilis* O9 biosurfactant on the bioremediation of crude oil-polluted soils. *Biodegradation*, v.15, p.281-287, 2004.

DAVIS, D.A.; LYNCH, H.C.; VARLEY, J. The application of foaming for the recovery of surfactin from *B. subtilis* ATCC 21332 cultures. *Enzyme and Microbial Technology*, v.28, p.346-354, 2001.

DECKWER, W.D.; SCHUMPE, A. Improved tools for bubble column reactor design and scale-up. *Chemical Engineering Science*, v.48, n.5, p.889-911, 1993.

DELEU, M.; RAZAFINDRALAMBO, H.; POPINEAU, Y.; JACQUES, P.; THONART, P.; PAQUOT, M. Interfacial and emulsifying properties of lipopeptides from *Bacillus subtilis*. *Colloids and Surfaces A*, v.152, p.3-10, 1999.

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

DESAI, J.D.; DESAI, A.J. *Biosurfactants: production, properties and application*. In: Kosaric, N. (ed.), *Biosurfactants: production, properties, application. Production of biosurfactant*. New York: Marcel Dekker, Inc, 1993. Cap. 3, p.65-97.

DESHPANDE, S., SHIAU, J.B., WANDE, D., SABATINI, A.D., HARWELL, H.J. Surfactant selection for enhancing ex situ soil washing. *Water Research*, v.33, p. 351-360, 1999.

DeSOUZA, A.H.; TANNER, R.D.; EFFLER Jr., W.T. The effect of pH and gas composition on the bubble fractionation of proteins. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.28/29, p.655-666, 1991.

DO, DUONG. *Adsorption analysis equilibria and kinetics*. London: Imperial College Press, 1998, 916 p.

DOBBY, G.S.; YIANATOS, J.B.; FINCH, J.A. Estimation of bubble diameter in flotation columns from drift flux analysis. *Canadian Metallurgical Quarterly*, v.27, n.2, p.85-90, 1988.

FIECHTER, A. Biosurfactants: moving towards industrial application. *Trends in Biotechnology*, v.10, p.208-217, 1992.

FIGUEREDO, R.C.R.; RIBEIRO, F.A.L.; SABADINI, E. Ciência de espumas: aplicação na extinção de incêndios. *Química Nova*, v.22, n.1, p. 126-130, 1999.

FLORENCE, A.T.; ATWOOD, D. *Princípios físico-químicos em farmácia. Tradução: EDUSP, 2003. Cap. 6: Tensoativos, p. 279-289.*

GEANKOPLIS, C.J. *Transport processes and unit operations*. New Jersey: PTR Prentice Hall (A Simon & Schuster Company), 1983, 862 p.

GEHLE, R.D.; SCHUGERL, K. Protein recovery by continuous flotation. *Applied Microbiological Biotechnology*, v.20, p.133-138, 1984.

GRIEVES, R.B. Adsorptive bubble separation methods. *Treatise on Analytical Chemistry*, v.5, p.371-448, 1982.

GRIFFIN, W.C. Classification of surface active agent by HLB. *Journal of the Society of Cosmetic Chemicals*, v.1, p.311, 1949.

HAFENBURG, D., HOMMEL, R., KLEBER, H. Extracellular microbial lipids as biosurfactants. *Advances in Biochemical Engineering*, v.33, p.53-93, 2003.

HAMILTON, MICHAEL. *Competitive adsorption of ethoxylated alcohol surfactants to air-water interfaces*. Raleigh: North Carolina State University, 1989. 69 p. Tese (Mestrado).

HARTLAND, S.; BOURNE, J.R.; RAMASWAMI, S. A study of disproportion effects in semi-batch foams: comparison between experiment and theory. *Chemical Engineering Science*, v.48, n.9, p.1723-1733, 1993.

HUSBAND, D.L.; MASLIYAH, J.H.; GRAY, M.R. Cell and surfactant separation by column flotation. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, v.72, p.840-847, 1994.

ISHIGAMI, Y.; OSMAN, M.; NAKAHARA, H.; SANO, Y.; ISHIGURO, R.; MATSUMOTO, M. Significance of β -sheet formation for micellization and surface adsorption of surfactin. *Colloids and Surfaces B*, v.4, p.341-348, 1995.

JARVIS, F.G., JOHNSON, M.J. A glyco-lipid produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of the American Chemical Society*, v.71, p.4124, 1949.

KAKINUMA, A.; HORI, M.; ISONO, M.; TAMURA, G.; ARIMA, K. Determination of amino acid sequence in surfactin, a crystalline peptidolipid surfactant produced by *Bacillus subtilis*. *Agricultural and Biological Chemistry*, v.33, p.971-997, 1969c.

KAKINUMA, A.; HORI, M.; SUGIRO, H.; YOSHIDA, I.; ISONO, M.; TAMURA, G.; ARIMA, K. Determination of the location of lactone ring in surfactin. *Agricultural and Biological Chemistry*, v.33, p.1523-1524, 1969a.

KAKINUMA, A.; OUCHIDA, A.; SHIMA, T.; SUGIRO, H.; ISONO, M.; TAMURA, G.; ARIMA, K. Confirmation of the structure of surfactin by mass spectrometry. *Agricultural and Biological Chemistry*, v.33, p.1669-1671, 1969d.

KAKINUMA, A.; SUGIRO, H.; ISONO, M.; TAMURA, G.; ARIMA, K. Determination of fatty acid in surfactin and elucidation of the total structure of surfactin. *Agricultural and Biological Chemistry*, v.33, p.973-976, 1969b.

KARGER, B.L.; DeVIVO, D.G. General survey of adsorptive bubble separation processes. *Separation Science*, v.3, n.5, p.393-424, 1968.

KHACHATURYAN, M.A.; ZAKHARCHENKO, V.N. Properties of foams based on biological fluids. *Colloidal Journal of the URSS*, v.51, n.2, p.278-284, 1989.

KIKUCHI, T.; HASUMI, K. Enhancement of plasminogen activation by surfactin C: augmentation of fibrinolysis in vitro and in vivo. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.29, p.234-245, 2002.

KIM, H.; YOON, B.; LEE, C.; SUH, H.; OH, H.; KATSURAGI, T.; TANI, Y. Production and properties of a lipopeptide biosurfactant from *Bacillus subtilis* C9. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, v.84, p.41-46, 1997.

KLUGE, B.; VATER, J.; SALNIKOW, J.; ECKART, K. Studies on the biosynthesis of surfactin, a lipopeptide antibiotic from *Bacillus subtilis* ATCC 21332. *FEBS Letters*, v.231, p.107-110, 1988.

KOWALL, M.; VATER, J.; KLUGE, B.; STEIN, T.; FRANKE, P.; ZIESSOW, D. Separation and characterization of surfactin isoforms produced by *Bacillus subtilis* OKB 105. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 204, p.1-8, 1998.

LALCHEV, Z.; EXEROWA, D. Concentration of proteins by foaming. *Biotechnology and Bioengineering*, v.23, p.677-689, 1981.

LANG, S. Biological amphiphiles (microbial surfactants). *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v.7, p.12-20, 2002.

LEMLICH, R. *Adsorptive bubble separation techniques*. New York and London: Academic Press, 1972, 331 p.

LEMLICH, R. Prediction of changes in bubble size distribution due to interbubble gas diffusion in foam. *Industrial and Engineering Chemistry Fundamentals*, v.17, n.2, p.89-93, 1978.

LIN, S.C. Biosurfactants: recent advances. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, v.66, p.109-120, 1996.

LONDON, M.; COHEN, M.; HUDSON, P.B. Some general characteristics of enzyme foam fractionation. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.13, p.111-120, 1954.

LUCENA, S.L.; MIRANDA, E.A.; SANTANA, C.C. The effect of external reflux on the foam fractionation of protein. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. v.57/58, p.57-65, 1996.

LUCENA, S.L.; SANTANA, C.C. Separation of bovine serum albumin and cytochrome C using gas-liquid interface adsorption. *Hungarian Journal of Industrial Chemistry Veszprém*, v.28, p.81-84, 2000.

LUCENA, SÉRGIO LUIZ DE. *Efeito do refluxo externo no fracionamento de soluções diluídas de proteínas em colunas de bolhas e espuma*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 1995. 102p. Tese (Mestrado).

LUGON Jr., J.; SILVA NETO, A.; SANTANA, C.C. A hybrid approach with artificial neural networks, Levenberg-Marquardt and simulated annealing methods for the solution of

gas-liquid adsorption inverse problems. *Inverse Problems in Science and Engineering*, v. 17, n.1, p.85-96, 2009.

MAIER, R.M. Biosurfactants: evolution and diversity in bacteria. *Advances in Applied Microbiology*, v.52, p.101-121, 2003.

MAKKAR, R.S.; ROCKNE, K.J. Comparison of synthetic surfactants and biosurfactants in enhancing biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.22, p.2280-2292, 2003.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. *Química Nova*, v.24, n.1, p.87-93, 2001.

MEIRA, JOEL ALEXANDRE. *Produção de biosurfactantes por fermentação no estado sólido e desenvolvimento de aplicações para tratamento de solos contaminados por hidrocarbonetos*. Curitiba: Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, 2007. 94 p. Tese (Mestrado).

MORÁN, A.C.; OLIVEIRA, N.; COMMENDATORE, M.; ESTEVES, J.L.; SIÑERIZ, F. Enhancement of hydrocarbon waste biodegradation by addition of a biosurfactant from *Bacillus subtilis* 09. *Biodegradation*, v.11, p.65-71, 2000.

MULLIGAN, C. Environmental applications for biosurfactants. *Environmental Pollution*, v.133, p.183-198, 2005.

MULLIGAN, C.N.; YONG, R.N.; GIBBS, B.F. Metal removal from contaminated soil and sediments by the biosurfactant surfactin. *Environmental Science & Technology*, v.33, p.3812-3820, 1999.

NISHINO, K.; KATO, H.; TORII, K. Stereo imaging for simultaneous measurement of size and velocity of particles in dispersed two-phase flow. *Measurement Science and Technology*, v.11, p.633-645, 2000.

NITSCHKE, M., PASTORE, G.M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. *Química Nova*, v.25, n.5, p.772-776, 2002.

OBERBREMER, A.; MULLER-HURTIG, R.; WAGNER, F. Effect of the addition of microbial surfactants on hydrocarbon degradation in a soil population in a stirred reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.32, p.485-489, 1990.

OLIVEIRA, N.L.; COMMENDATORE, M.G.; MORÁN, A.C.; ESTEVES, J.L. Biosurfactant-enhanced degradation of residual hydrocarbons from ship bilge wastes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v.25, p.70-73, 2000.

OSTERMAIER, K.; DOBIAS, B. The separation of proteins from their mixtures using flotation. *Colloids and Surfaces*, v.14, p.199-208, 1985.

OZTURK, S.S.; SCHUMPE, A.; DECKWER, W.D. Organic liquids in a bubble column: holdups and mass transfer coefficients. *AIChE Journal*, v.33, n.9, p.1473-1480, 1987.

PARKINSON, M. Biosurfactants. *Biotechnology Advances*, v.3, p. 65-83, 1985.

PARTHASARSTHY, S.; DAS, T.R.; KUMAR, R.; GOPALAKRISHNAN, K.S. Foam separation of microbial cells. *Biotechnology and Bioengineering*, v.32, p.174-183, 1988.

PEYPOUX, F.; BONMATIN, J.M.; WALLACH, J. Recent trends in the biochemistry of surfactin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.51, p.553-563, 1999.

PRETÉ, PAULO SÉRGIO CASTILHO. *Solubilização de membranas de eritrócitos por surfactantes da série Tween*. Campinas: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 2000. 105p. Tese (Mestrado).

PRINCE, R.C. Petroleum spill bioremediation in marine environments. *Critical Reviews in Microbiology*, v.19, p.217-242, 1993.

RAHMAN, K.S.M.; RHAMAN, T.J.; McCLEAN, S.; MARCHANT, R.; BANAT, I.M. Rhamnolipid biosurfactant production by strains of *Pseudomonas aeruginosa* using low-cost raw materials. *Biotechnology Progress*, v.18, p.1277-1281, 2002.

RAMASWAMI, S.; HARTLAND, S.; BOURNE, J.R. A study of disproportion effects in semi-batch foams- I. Simulation of evolution of bubble size distribution. *Chemical Engineering Science*, v.48, n.9, p.1709-1721, 1993.

REIS, ROBERTA CRISTINA NOVAES DOS. *Síntese de surfactantes derivados da D-ribonolactona*. Juiz de Fora: Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2007. 162 p. Tese (Mestrado).

ROSA, P.T.V.; SANTANA, C.C.; CARBONELL, R.G. Determination of the liquid pool surfactant and protein concentration for semi-batch foam fractionation columns. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v.24, n.1, p.1-14, 2007.

ROSA, PAULO DE TARSO VIEIRA E. *Fracionamento de proteínas e outros tensoativos em colunas de bolhas e de espuma*. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 1996. 201p. Tese (Doutorado).

SAMSON, R.; CSEH, T.; HAWARI, J.; GREER, C.W.; ZALOUM, R. Biotechnologies applique´es a` la restauration de sites contamine´ s avec d`application d`une physico

chimique et biologique pour les sols contamine´s par des BPC. *Science et Techniques de l'Eau*, v.23, p.15-18, 1990.

SANTANA FILHO, ARQUIMEDES PAIXÃO DE. *Ramnolipídeos produzidos por Pseudomonas aeruginosa UFPEDA 614: estudos de produção e de variação da composição de homólogos*. Curitiba: Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, 2009. 87 p. Tese (Mestrado).

SANTANA, C.C. Adsorptive bubble separation processes as a means of reducing surface active contaminants in industrial wastewaters. *Revista Brasileira de Engenharia – Química Especial*, v.5, p.01-74, 1994.

SARTAR, P.; BHATTACHARYA, P.; MUKHERJEA, R.N.; MUKHERJEA, M. Isolation and purification of proteases from human placental by foam fractionation. *Biotechnology and Bioengineering*, v.29, p.934-940, 1987.

SCHNEPF, R.W.; GADEN Jr., E.L.; MIROCZNIK, E.; SCHONFELD, E. Foam fractionation: metals. *Chemical Engineering Progress*, v.55, n.5, p.42-46, 1959.

SEM, R., SWAMINATHAN, T. Application of response-surface methodology to evaluated the optimum environmental conditions for the enhance production of surfactin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.47, p.358-363, 1997.

SEYDLOVÁ, G.; SVOBODOVÁ, J. Review of surfactin chemical properties and the potential biomedical applications. *Central European Journal of Medicine*, v.3, n.2, p.123-133, 2008.

SINGH, P.; CAMEOTRA, S.S. Potential applications of microbial surfactants in biomedical sciences. *Trends in Biotechnology*, v.22, p.142-146, 2004.

THOMAS, A.; WINKLER, M.A. *Topics in enzyme and fermentation biotechnology*. Editado por A. Wiseman, John Wiley and Sons, 1977. *Cap. III: Foam separation of biological materials*, p.43-71.

URAIZEE, F.; NARSIMHAN, G. Foam fractionation of proteins and enzymes: I. applications. *Enzyme Microbial Technology*, v.12, p.232-233, 1990.

VAN DYKE, M.I.; LEE, H.; TREVORS, J.T. Applications of microbial surfactants. *Biotechnology Advances*, v.9, p.241-252, 1991.

VOLLENBROICH, D.; OZEL, M.; VATER, J.; KAMP, R.M.; PAULI, G. Mechanism of inactivation of enveloped viruses by the biosurfactant surfactin from *Bacillus subtilis*. *Biologicals*, v.25, p.289-297, 1997.

WARD, A.F.H.; TORDAI, L. Time-dependence of boundary tensions of solution. I. The role of diffusion in time-effects. *The Journal of Chemical Physics*, v.14, n.7, p.453-461, 1946.

WASAN, D.T.; NIKOLOV, A.D.; LOBO, L.A.; KOCZO, K.; EDWARDS, D.A. Foams, thin films and surface rheological properties. *Progress in Surface Science*, v.39, p.119-154, 1992.

XU, M.; FINCH, J.A. Simplification of bubble size estimation in a bubble swarm. *Journal of Colloid and Interface Science*, v.140, n.1, p.298-299, 1990.

YEH, M.S., WEI, Y.H., CHANG, J.S. Bioreactor design for enhanced carrier-assisted surfactin production with *Bacillus subtilis*. *Process Biochemistry*, v.41, p.1799-1805, 2006.

YU, M.A.; DAMODARAN, S. Kinetics of destabilization of soy protein foams. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.39, p.1563-1567, 1991.

ZAKHARCHENKO, V.N.; KHACHATURYAN, M.A.; KARPOV, F.F. Study of the properties of biological plasma foams with partial replacement by biological polymers. *Colloidal Journal of the URSS*, v.51, n.5, p.867-871, 1990.

ZARUBA, A.; KREPPER, E.; PRASSER, H.M.; VANGA, B.N. Experimental study on bubble motion in a rectangular bubble column using high-speed video observations. *Flow Measurement and Instrumentation*, v.16, p.277-287, 2005.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Curva analítica de surfactina padrão

A seguir apresenta-se um exemplo de obtenção da curva analítica para a determinação da concentração de surfactina a partir de medidas de tensão superficial, aplicando-se o método do anel de Du Nouy (1919). Na Tabela 19 são apresentados os dados utilizados para a obtenção da curva analítica.

Tabela 19. Curva analítica para determinação da concentração de surfactina através de medidas de tensão superficial.

Concentração de surfactina (mg/L)	Tensão superficial (mN/m)		Tensão superficial média (mN/m)
0,0	71,99	71,99	71,99 ± 0,00
0,4	71,83	71,78	71,80 ± 0,04
0,8	71,85	71,65	71,75 ± 0,14
1,2	71,82	71,58	71,70 ± 0,17
1,6	71,75	71,00	71,38 ± 0,54
2,0	69,48	68,08	68,78 ± 0,99
4,0	60,05	51,78	55,92 ± 5,85
6,0	42,92	41,16	42,04 ± 1,24
8,0	37,13	36,61	36,87 ± 0,37
10,0	36,16	34,59	35,38 ± 1,11
12,0	34,25	33,95	34,10 ± 0,21
14,0	33,88	32,55	33,22 ± 0,94
16,0	33,08	32,61	32,85 ± 0,33
18,0	31,56	31,93	31,74 ± 0,26
20,0	29,51	29,44	29,47 ± 0,05

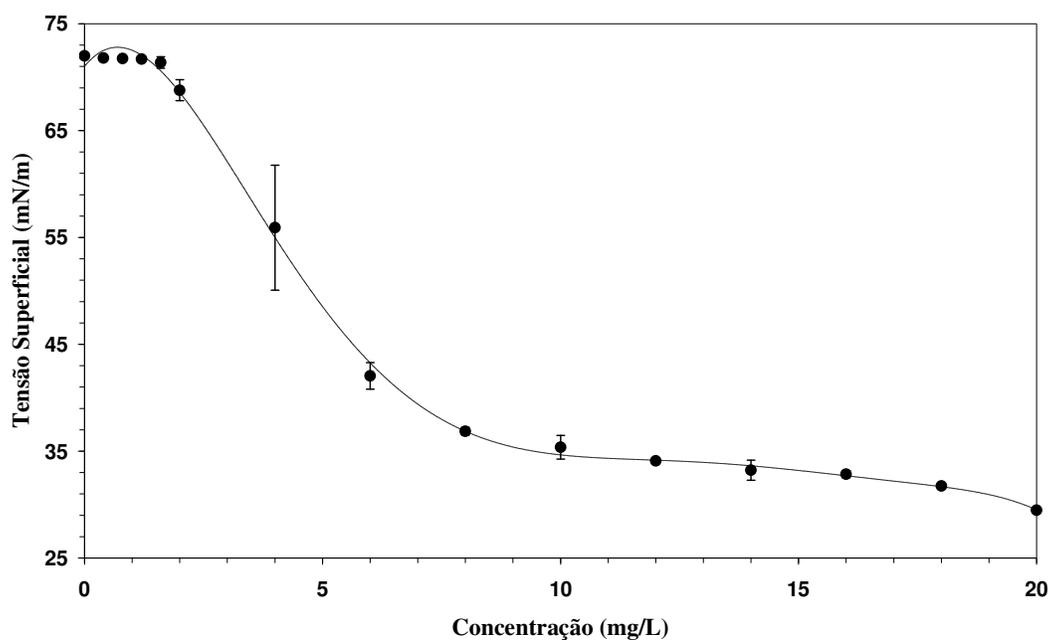


Figura 61. Curva analítica: concentração de surfactina em função da tensão superficial.

A curva analítica da surfactina padrão foi ajustada por uma função polinomial, dada por:

$$\gamma = -3 \times 10^{-5} \cdot C^6 + 0,0021 \times 10 \cdot C^5 - 0,0592 \cdot C^4 + 0,7893 \cdot C^3 - 4,7077 \cdot C^2 + 5,4763 \cdot C + 71,017$$

$$R^2 = 0,9987$$

equação na qual γ e C representam a tensão superficial (em mN/m) e a concentração de surfactina padrão na solução (em mg/L), respectivamente.

APÊNDICE B – Análise da variância (ANOVA)

A seguir, apresentam-se valores de concentrações superficiais de surfactina experimental ($\Gamma_{\text{experimental}}$) e obtido da equação de ajuste (Γ_{previsto}), bem como os valores residuais e de somas quadráticas, todos utilizados na aplicação de análise de variância.

Tabela 20. Valores de concentrações superficiais de surfactina experimental e prevista pela equação de ajuste do modelo em função de sua concentração, obtidas a 15 °.

Concentração (mol/cm ³) x 10 ⁹	$\Gamma_{\text{experimental}}$ (mol/cm ²) x 10 ⁹		$\Gamma_{\text{médio}}$ (mol/cm ²) x 10 ⁹	Γ_{previsto} (mol/cm ²) x 10 ⁹
0,77	0,044	0,218	0,131	0,350
1,16	0,360	0,494	0,427	0,498
1,54	0,583	0,690	0,637	0,633
1,93	0,757	0,842	0,800	0,755
3,86	1,297	1,314	1,305	1,230
5,79	1,612	1,590	1,601	1,557
7,72	1,836	1,786	1,811	1,795
9,65	2,010	1,938	1,974	1,977
11,6	2,151	2,062	2,107	2,120
13,5	2,271	2,167	2,219	2,235
15,4	2,375	2,258	2,317	2,330
17,4	2,467	2,339	2,403	2,410
19,3	2,549	2,410	2,480	2,478

Tabela 21. Valores residuais e de somas quadráticas utilizados na análise da variância, para avaliar a qualidade do ajuste de curvas obtidas a 15 °C.

Resíduos		SQ Resíduos	SQ Regressão	SQ Falta ajuste	SQ Erro puro
-3,056E-10	-1,317E-10	1,107E-19	2,904E-18	9,561E-20	1,512E-20
-1,387E-10	-4,156E-12	1,925E-20	2,232E-18	1,020E-20	9,048E-21
-4,926E-11	5,733E-11	5,713E-21	1,700E-18	3,264E-23	5,681E-21
2,172E-12	8,710E-11	7,591E-21	1,279E-18	3,985E-21	3,606E-21
6,634E-11	8,397E-11	1,145E-20	2,107E-19	1,130E-20	1,554E-22
5,521E-11	3,348E-11	4,170E-21	8,931E-24	3,934E-21	2,361E-22
4,075E-11	-8,913E-12	1,740E-21	1,156E-19	5,067E-22	1,233E-21
3,282E-11	-3,850E-11	2,560E-21	3,562E-19	1,611E-23	2,544E-21

Continua

Resíduos		SQ	SQ	SQ	SQ
		Resíduos	Regressão	Falta ajuste	Erro puro
3,178E-11	-5,725E-11	4,287E-21	6,383E-19	3,244E-22	3,963E-21
3,630E-11	-6,769E-11	5,900E-21	9,258E-19	4,927E-22	5,407E-21
4,504E-11	-7,192E-11	7,201E-21	1,203E-18	3,614E-22	6,839E-21
5,687E-11	-7,152E-11	8,349E-21	1,463E-18	1,073E-22	8,242E-21
7,095E-11	-6,767E-11	9,613E-21	1,705E-18	5,403E-24	9,608E-21

Tabela 22. Valores de concentrações superficiais de surfactina experimental e prevista pela equação de ajuste do modelo em função de sua concentração, obtidas a 25 °.

Concentração (mol/cm ³) x 10 ⁹	Γ experimental (mol/cm ²) x 10 ⁹		Γ médio (mol/cm ²) x 10 ⁹	Γ previsto (mol/cm ²) x 10 ⁹
1,16	0,217	0,288	0,253	0,364
1,54	0,385	0,465	0,425	0,464
1,93	0,516	0,602	0,559	0,556
3,86	0,922	1,027	0,974	0,922
5,79	1,160	1,275	1,217	1,180
7,72	1,328	1,452	1,390	1,372
9,65	1,459	1,589	1,524	1,521
11,6	1,565	1,700	1,633	1,639
13,5	1,656	1,795	1,725	1,735
15,4	1,734	1,877	1,805	1,815
17,4	1,803	1,949	1,876	1,883
19,3	1,865	2,014	1,939	1,941

Tabela 23. Valores residuais e de somas quadráticas utilizados na análise da variância, para avaliar a qualidade do ajuste de curvas obtidas a 25 °C.

Resíduos		SQ	SQ	SQ	SQ
		Resíduos	Regressão	Falta ajuste	Erro puro
-1,472E-10	-7,558E-11	2,737E-20	1,666E-18	2,480E-20	2,561E-21
-7,903E-11	4,642E-13	6,246E-21	1,320E-18	3,086E-21	3,159E-21
-4,037E-11	4,526E-11	3,679E-21	1,038E-18	1,196E-23	3,667E-21
2,977E-13	1,050E-10	1,103E-20	2,520E-19	5,546E-21	5,483E-21
-2,040E-11	9,549E-11	9,534E-21	1,876E-20	2,820E-21	6,715E-21
-4,404E-11	7,976E-11	8,302E-21	1,816E-20	6,379E-22	7,664E-21
-6,192E-11	6,803E-11	8,462E-21	1,189E-19	1,863E-23	8,444E-21
-7,345E-11	6,152E-11	9,180E-21	2,623E-19	7,120E-23	9,109E-21
-7,961E-11	5,960E-11	9,891E-21	4,206E-19	2,001E-22	9,690E-21

Continua

Resíduos		SQ	SQ	SQ	SQ
		Resíduos	Regressão	Falta ajuste	Erro puro
-8,153E-11	6,136E-11	1,041E-20	5,804E-19	2,033E-22	1,021E-20
-8,017E-11	6,597E-11	1,078E-20	7,353E-19	1,009E-22	1,068E-20
-7,630E-11	7,274E-11	1,111E-20	8,822E-19	6,353E-24	1,111E-20

Tabela 24. Valores de concentrações superficiais de surfactina experimental e prevista pela equação de ajuste do modelo em função de sua concentração, obtidas a 35 °C

Concentração (mol/cm ³) x 10 ⁹	Γ experimental (mol/cm ²) x 10 ⁹		Γ médio (mol/cm ²) x 10 ⁹	Γ previsto (mol/cm ²) x 10 ⁹
0,77	0,276	0,281	0,278	0,334
1,16	0,467	0,478	0,472	0,465
1,54	0,602	0,618	0,610	0,579
1,93	0,707	0,727	0,717	0,679
3,86	1,034	1,064	1,049	1,036
5,79	1,225	1,261	1,243	1,256
7,72	1,361	1,401	1,381	1,405
9,65	1,466	1,509	1,487	1,513
11,6	1,552	1,598	1,575	1,594
13,5	1,624	1,673	1,648	1,658
15,4	1,687	1,737	1,712	1,709
17,4	1,743	1,795	1,769	1,751
19,3	1,793	1,846	1,819	1,787

Tabela 25. Valores residuais e de somas quadráticas utilizados na análise da variância, para avaliar a qualidade do ajuste de curvas obtidas a 35 °C.

Resíduos		SQ	SQ	SQ	SQ
		Resíduos	Regressão	Falta ajuste	Erro puro
-5,822E-11	-5,264E-11	6,161E-21	3,971E-18	6,146E-21	1,556E-23
1,498E-12	1,309E-11	1,737E-22	3,265E-18	1,065E-22	6,724E-23
2,314E-11	3,901E-11	2,057E-21	2,709E-18	1,931E-21	1,259E-22
2,855E-11	4,773E-11	3,093E-21	2,264E-18	2,909E-21	1,839E-22
-1,557E-12	2,791E-11	7,814E-22	1,000E-18	3,472E-22	4,342E-22
-3,041E-11	5,079E-12	9,504E-22	4,749E-19	3,208E-22	6,297E-22
-4,399E-11	-4,230E-12	1,953E-21	2,287E-19	1,162E-21	7,903E-22
-4,663E-11	-3,565E-12	2,187E-21	1,061E-19	1,260E-21	9,275E-22
-4,227E-11	3,503E-12	1,799E-21	4,428E-20	7,516E-22	1,048E-21
-3,349E-11	1,458E-11	1,334E-21	1,443E-20	1,787E-22	1,155E-21

Continua

Resíduos		SQ	SQ	SQ	SQ
		Resíduos	Regressão	Falta ajuste	Erro puro
-2,191E-11	2,813E-11	1,272E-21	2,257E-21	1,936E-23	1,252E-21
-8,601E-12	4,319E-11	1,940E-21	1,480E-22	5,983E-22	1,341E-21
5,764E-12	5,912E-11	3,529E-21	3,852E-21	2,105E-21	1,424E-21

APÊNDICE C – Imagens de referências e imagens com e sem tratamento estatístico, obtidas pela técnica Shadow Imaging.

A seguir, apresentam-se as imagens de referência (Figura 62, 63 e 64) e das bolhas formadas na coluna de líquido (Figuras 65, 66 e 67), obtidas a partir da técnica Shadow Imaging para a determinação do diâmetro de bolhas.

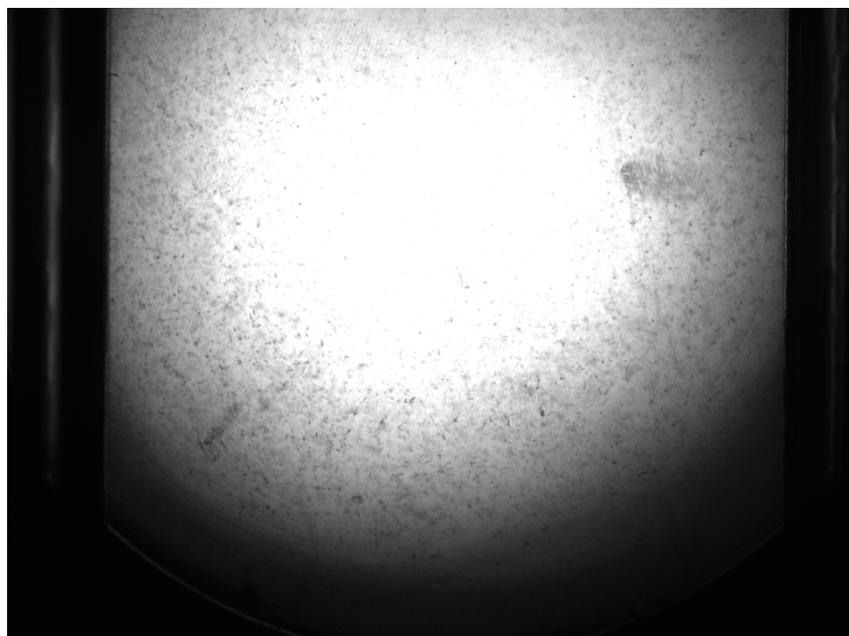


Figura 62. Imagem de referência da solução de surfactina com concentração de 240 mg/L para realização de experimentos utilizando-se vazão de gás de 20 mL/min.



Figura 63. Imagem de referência da solução de surfactina com concentração de 400 mg/L para realização de experimentos utilizando-se vazão de gás de 40 mL/min.

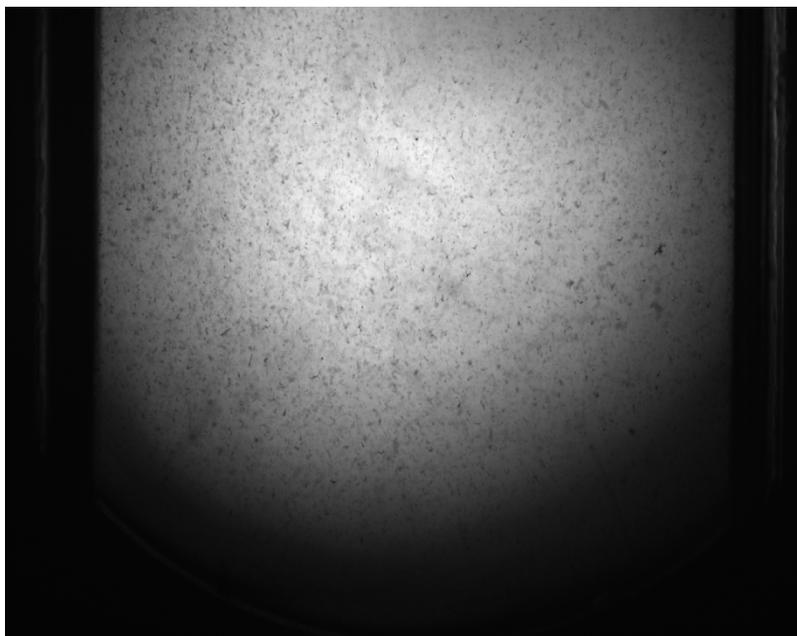


Figura 64. Imagem de referência da solução de surfactina com concentração de 240 mg/L para realização de experimentos utilizando-se vazão de gás de 60 mL/min.

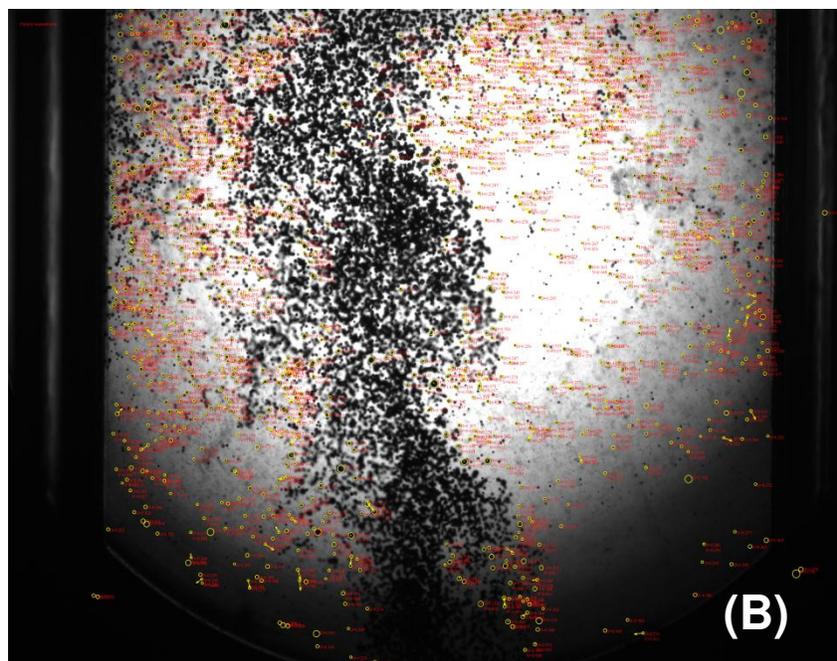
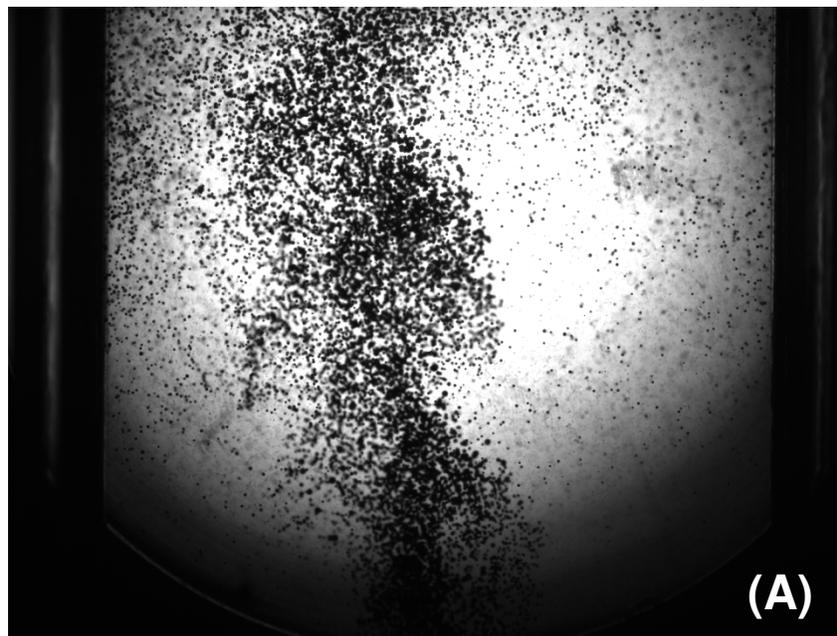


Figura 65. Imagens de bolhas de gás formadas na coluna de líquido sem tratamento (A) e com tratamento (B) para determinação do diâmetro de bolhas. Concentração inicial de surfactina de 240 mg/L e vazão do gás de 20 mL/min.

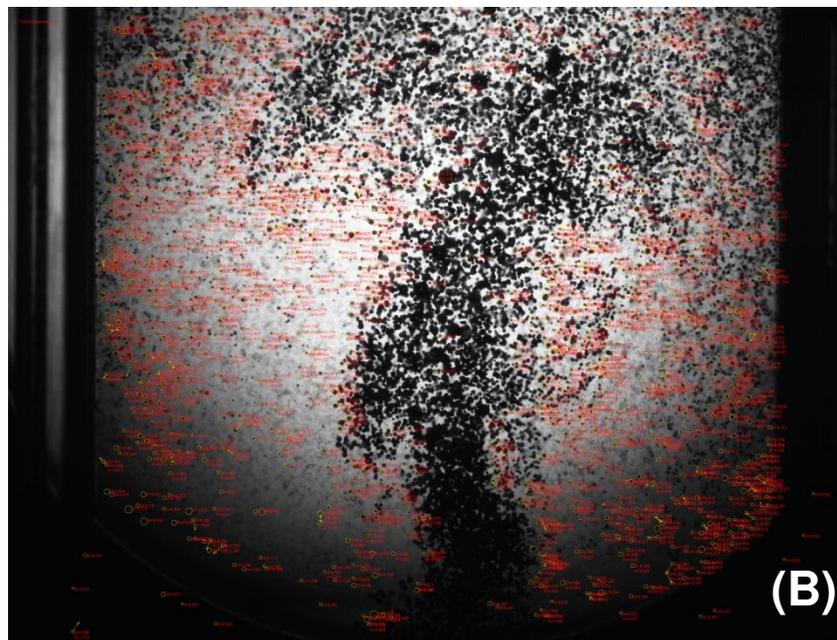
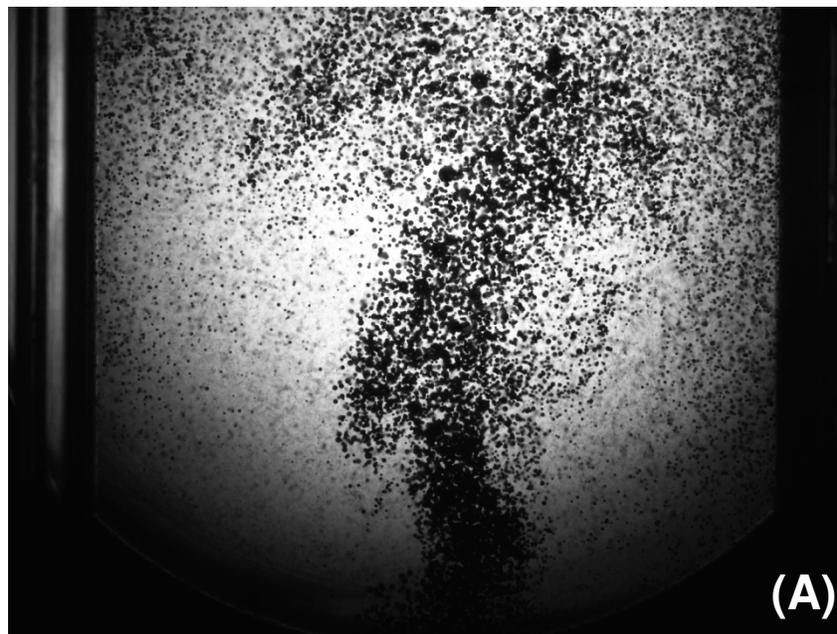


Figura 66. Imagens de bolhas de gás formadas na coluna de líquido sem tratamento (A) e com tratamento (B) para determinação do diâmetro de bolhas. Concentração inicial de surfactina de 400 mg/L e vazão do gás de 40 mL/mi

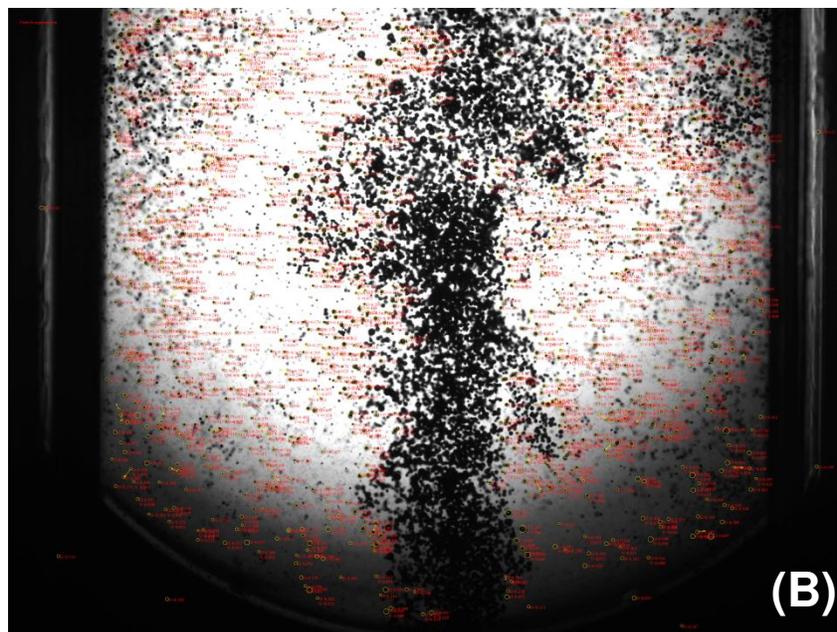
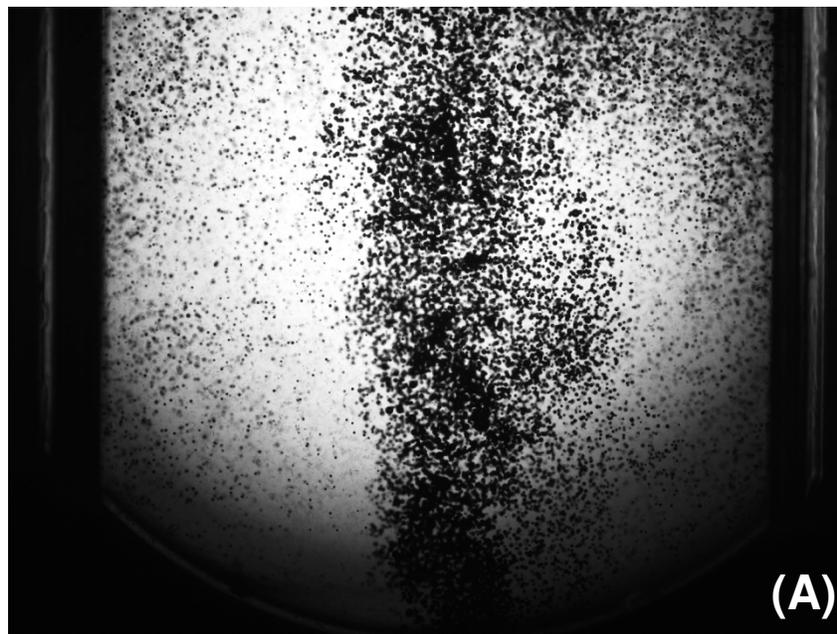


Figura 67. Imagens de bolhas de gás formadas na coluna de líquido sem tratamento (A) e com tratamento (B) para determinação do diâmetro de bolhas. Concentração inicial de surfactina de 240 mg/L e vazão do gás de 60 mL/min.