



PROCESSOS QUÍMICOS E BIOTECNOLÓGICOS



volume **8**

Ano 2021



Editora Poisson

Editora Poisson

Processos Químicos e Biotecnológicos

Volume 8

1ª Edição

Belo Horizonte

Poisson

2021

Editor Chefe: Dr. Darly Fernando Andrade

Conselho Editorial

Dr. Antônio Artur de Souza – Universidade Federal de Minas Gerais
Msc. Davilson Eduardo Andrade

Dra. Elizângela de Jesus Oliveira – Universidade Federal do Amazonas
Msc. Fabiane dos Santos

Dr. José Eduardo Ferreira Lopes – Universidade Federal de Uberlândia
Dr. Otaviano Francisco Neves – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

Dr. Luiz Cláudio de Lima – Universidade FUMEC

Dr. Nelson Ferreira Filho – Faculdades Kennedy

Ms. Valdiney Alves de Oliveira – Universidade Federal de Uberlândia

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P963

Processos Químicos e Biotecnológicos -
Volume 8: Editora Poisson - Belo
Horizonte - MG:Poisson, 2021

Formato: PDF

ISBN: 978-65-5866-108-5

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

1. Química 2. Biotecnologia 3. Engenharia
I. Título

CDD-660

Sônia Márcia Soares de Moura - CRB 6/1896



O conteúdo deste livro está licenciado sob a Licença de Atribuição Creative Commons 4.0.

Com ela é permitido compartilhar o livro, devendo ser dado o devido crédito, não podendo ser utilizado para fins comerciais e nem ser alterada.

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos seus respectivos autores

www.poisson.com.br

contato@poisson.com.br

SUMÁRIO

Capítulo 1: Estudo da utilização da serragem de eucalipto como adsorvente do corante Alaranjado de Metila 6

Brenna Vieira Jacon, Beatriz Caroline da Costa, Leticia dos Reis Darcie, Tania Regina Giraldi

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.01

Capítulo 2: Aplicação do óxido de grafeno como potencial suporte para imobilização enzimática 20

Paula Valéria Viotti, Henrique Straioto, Wardleison Martins Moreira, Rosangela Bergamasco, Marcelo Fernandes Vieira

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.02

Capítulo 3: Alocação ótima da biomassa de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração e bioeletricidade: Formação da carteira eficiente de produção 30

Daniel Fernando Garcia, Isabela Garcia Parras, Edilaine Martins Soler

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.03

Capítulo 4: Produção de biogás a partir de manipueira adicionada de complexo enzimático bruto e lodo de estação de tratamento de esgoto 40

Marina Rebeca Silva Monteiro, Micheline Ferreira de Lima, Adalberto Freire do Nascimento Junior, Sérgio Peres, Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.04

Capítulo 5: Aplicação de coco de jerivá como adsorvente na remoção de metais pesados em águas de abastecimento..... 50

Gabriel André Tochetto, Danieli Brandler, Joceane Pigatto, Francine Caldart, Deisy Maria Memlak, Gean Delise Leal Pasquali, Cleuzir da Luz, Adriana Dervanoski

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.05

Capítulo 6: Estudo da capacidade adsortiva da biomassa de palma forrageira (*Opuntia tuna Mill*) como adsorvente para remoção de contaminantes orgânicos em corpos d'água 59

Thalita Daiane Neves Martins, Lenilde Mérgia Ribeiro Lima, Jayane Karine Pereira de Araújo, Joanny Lays Bandeira Cruz da Silva, Fagner José da Costa Oliveira, Lígia Maria Ribeiro Lima

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.06

SUMÁRIO

Capítulo 7: Estudo térmico e caracterização de cargas de fundo das torres de destilação a vácuo e atmosférica 66

Regineide de Oliveira Lima, Camila Gisele Damasceno Peixoto, Valter José Fernandes Júnior, Antônio Souza de Araujo, Amanda Duarte Gondim

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.07

Capítulo 8: Influência dos parâmetros da moagem de alta energia nas propriedades de dispersão do ZnO particulado 73

Laiza Gabriela Sanches Peres, João Otávio Donizette Malafatti, Thamara Machado de Oliveira Ruellas, Letícia Ferreira Lacerda Schildt, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Elaine Cristina Paris

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.08

Capítulo 9: Fermentative parameters for collagenase production by *Penicillium* sp. isolated from the soil of Caatinga..... 86

Maria Carolina de Albuquerque Wanderley, Mirella Monteiro Silva, Isabele Albuquerque Alcoforado Ferreira, Sara Isabel da Cruz Silvério, Carolina de Albuquerque Lima Duarte, José Antônio Couto Teixeira, Ana Lúcia Figueiredo Porto

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.09

Capítulo 10: Optimization of cell growth and carotenoid production by *Sporidiobolus ruinenia* using sugarcane juice supplemented with yeast extract..... 92

Patricia Teixeira Damasceno Lobo, Hugo Neves Brandão, Sandra Aparecida de Assis

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.10

Capítulo 11: Extração assistida por micro-ondas de cafeína de café para utilização na formulação de um creme e um filme funcional para área dos olhos 101

Giovana Fernandes Teixeira, Rafaela Cristina Sanfelice, Mônica Hitomi Okura, Geoffroy Roger Pointer Malpass, Ana Claudia Granato Malpass

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.11

Capítulo 12: Estudo e montagem de um sistema de treinamento operacional de processos químicos..... 112

Anna Carollyne Silva de Lima, Sidinei Kleber da Silva

DOI: 10.36229/978-65-5866-108-5.CAP.12

Autores:..... 124

Capítulo 1

Estudo da utilização da serragem de eucalipto como adsorvente do corante Alaranjado de Metila

Brenna Vieira Jacon

Beatriz Caroline da Costa

Leticia dos Reis Darcie

Tania Regina Giraldi

Resumo: O Alaranjado de Metila é um corante do tipo azo de caráter aniônico, que apresenta efeitos tóxicos e estrutura complexa não biodegradável. Com a finalidade de obter um método de remoção eficiente, esse trabalho visou utilizar a serragem de eucalipto como adsorvente na remoção do corante Alaranjado de Metila de soluções aquosas. As melhores condições para o processo de adsorção do Alaranjado de Metila foram determinadas utilizando um planejamento experimental de Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) analisando os efeitos das variáveis granulometria da biomassa, pH da solução de corante e dosagem de biomassa. A dosagem de biomassa e o pH da solução de corante apresentaram resultados de efeito significativos nos ensaios de adsorção para pH igual a 3,00 e dosagem de massa igual a 1,05%, por outro lado a granulometria da serragem não apresentou influência no processo. O tempo de equilíbrio do processo de remoção do corante foi determinado através de um estudo cinético, em que se obteve tempo ótimo de contato entre solução de corante e biomassa igual a sete horas. A partir dos resultados experimentais, as características do equilíbrio de adsorção foram determinadas aplicando-se os modelos de isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir, sendo que o modelo de Langmuir foi o que obteve melhor ajuste de reta com R^2 igual a 0,9889, exibindo valor de capacidade de adsorção de Alaranjado de Metila pela serragem de eucalipto de 40 mg.g^{-1} .

Palavras-Chave: Alaranjado de Metila. Adsorção. Serragem de Eucalipto. Isotermas de Adsorção.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil as estimativas apontam uma produção anual de aproximadamente vinte toneladas de corantes, sendo que desse total, 20% são descartados como efluentes (KUNZ,2002). A indústria têxtil é responsável por gerar quantidades consideráveis de águas residuais coloridas contendo grande quantidade de compostos orgânicos (CISNEROS,2002).

Os efluentes gerados pelas indústrias têxteis são conhecidos por conter grandes quantidades de compostos aromáticos tóxicos (MERZOUK et al., 2011), principalmente os corantes do tipo azo, como, por exemplo, o Alaranjado de Metila, que é utilizado em indústrias têxteis. A descarga desses corantes no ecossistema é considerada uma das principais formas de poluição ambiental devido à alta toxicidade e baixa degradabilidade dos corantes no meio ambiente (CRINI, 2005).

Efluentes de corantes não são apenas esteticamente poluentes pela natureza de suas cores, mas podem interferir na penetração da luz na água e nas atividades biológicas, perturbando a vida aquática (KHANDEGAR; SAROHA, 2013). Muitos corantes azo são tóxicos e mutagênicos para os organismos que vivem em ambiente aquático. Além disso, a estabilidade das suas estruturas moleculares torna-se resistente à degradação biológica ou mesmo química, portanto, é necessário tratar esses efluentes antes da sua quitação ao fluxo de água receptor. A grande variedade de produtos químicos recalcitrantes que esses efluentes possuem também é uma das dificuldades para o tratamento e os métodos convencionais geralmente não obtêm um alto grau de eficiência para esse tipo de efluente (AOUJ et al., 2010).

Os métodos tradicionais de tratamento de efluentes da indústria têxtil envolvem adsorção, precipitação, degradação química e, em menor quantidade, processos oxidativos avançados, biodegradação, coagulação, entre outros métodos, dependendo do tipo de efluente a ser tratado (KOBYA et al., 2005).

Segundo Daneshvar, Sorkhabi e Kasiri (2004), é necessário e urgente desenvolver metodologias mais eficientes e de baixo custo, inclusive sem o uso de aditivos químicos ou a necessidade de grandes áreas de instalação. Recentemente, tem havido um foco maior em estudos envolvendo métodos físicos de tratamento, tais como a adsorção.

Diversos adsorventes têm sido utilizados na remoção de corantes de meio aquoso. Entre eles, adsorventes naturais oriundos da biomassa lignocelulósica (HOLME, 1984). Esses adsorventes são uma alternativa bastante atraente no tratamento de águas contaminadas devido a sua abundância, baixo custo e potencial de adsorção (MOTSCHI,1994). Várias pesquisas realizadas para a remoção de cor no tratamento de efluentes têxteis vem sendo desempenhadas a partir da utilização de diferentes adsorventes naturais oriundos de resíduos agroindustriais tais como bagaço de cana de açúcar, pseudocaule de bananeira, casca de frutas cítricas, serragem de eucalipto, entre outros (DARCIE, 2018).

Dessa forma, o presente trabalho avaliou a serragem de eucalipto como adsorvente para a remoção do corante Alaranjado de Metila de soluções aquosas.

2. METODOLOGIA

A biomassa utilizada nos ensaios do presente estudo foi a serragem de madeira *Eucalyptus globulus* (SM). A serragem de eucalipto foi cedida pela empresa Denka Madeiras no município de Tapiratiba localizado no interior do estado de São Paulo, Brasil. A serragem de eucalipto foi seca em estufa com temperatura controlada de 60°C durante 24 horas com o objetivo de retirar a umidade e evitar degradação durante a armazenagem. Após a secagem, a biomassa foi triturada e classificada utilizando peneiras com intervalos de abertura de 45-90; 90-125; 125-250; 250-355; 255-500 mesh, para separar as partículas com os diâmetros médios de 0,44; 0,35; 0,25; 0,15; 0,06 mm, respectivamente. A classificação granulométrica foi realizada com o auxílio de um agitador mecânico e peneiras do modelo BERTEL durante 10 minutos.

2.1. DETERMINAÇÃO DAS MELHORES CONDIÇÕES DE ADSORÇÃO

Diversas variáveis podem influenciar o processo de adsorção, porém, é preciso realizar a triagem para analisar, dentre as muitas, quais variáveis apresentam maior influência no sistema em estudo. Esta triagem foi realizada a partir na análise do efeito de 3 variáveis envolvidas nos processos de adsorção em batelada (NASCIMENTO et al., 2014).

Para obter os efeitos das variáveis granulometria, pH e dosagem de biomassa (m/V) no processo de adsorção do Alaranjado de Metila utilizou-se a metodologia de Planejamento Experimental e de

Otimização de Processos. Os dados foram tratados no software Statistica 7.0, em seguida foi possível avaliar a influência de cada variável e determinar as melhores condições para a realização dos próximos ensaios de adsorção.

Foi realizado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) através de um fatorial completo 2³, incluindo 6 pontos axiais, 4 repetições no ponto central, totalizando 18 ensaios, e a capacidade de adsorção (Q_e) foi considerada como resposta. A Tabela 1 apresenta os valores utilizados no planejamento e a Tabela 2 apresenta a matriz do delineamento com os valores codificados e decodificados de cada ensaio realizado.

Tabela 1 - Valores utilizados no planejamento DCCR 23 para as três variáveis analisadas.

Variáveis	-1,68	-1	0	+1	+1,68
Granulometria (mm)	0,06	0,15	0,25	0,35	0,44
pH da solução	3,00	4,62	7,00	9,38	11,00
Dosagem de biomassa (%)	0,10	0,49	1,05	1,61	2,00

Fonte: Da autora.

Os ensaios foram realizados em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL da solução de corante com concentração de 100 mg.L⁻¹. O pH da solução, a granulometria e a porcentagem de biomassa adicionados em cada Erlenmeyer foram determinados de acordo com o descrito pela matriz do delineamento experimental (Tabela 2).

O pH das soluções de corante para cada ensaio foi ajustado utilizando soluções de NaOH (0,1 mol.L⁻¹) e H₂SO₄ (0,1 mol.L⁻¹). Os ensaios foram conduzidos em incubadora shaker (Modelo SL 221-SOLAB) com agitação de 150 rpm, temperatura de 30 °C e tempo de contato de 24 h, a fim de garantir que o equilíbrio fosse atingido.

Após o tempo de contato, as amostras foram centrifugadas durante 20 minutos à 2500 rpm, em centrífuga (Modelo: SL 700 SOLAB). A concentração de corante em equilíbrio no sobrenadante foi determinada por leitura em espectrofotômetro UV-visível (Modelo: Edutec).

O cálculo da capacidade de adsorção e a porcentagem de remoção do corante foram calculados utilizando as Equações 1 e 2.

$$Q_e = \frac{(C_i - C_e) \cdot V}{w} \quad (1)$$

$$\% \text{Remoção} = \frac{(C_i - C_e) \cdot 100}{C_i} \quad (2)$$

Onde:

Q_e	Quantidade de corante adsorvido por massa de adsorvente (mg.g ⁻¹)
C_i	Concentração inicial do corante (mg.L ⁻¹)
C_e	Concentração de equilíbrio do corante (mg.L ⁻¹)
V	Volume da solução de corante utilizada nos ensaios de adsorção (L)
W	Massa de biomassa utilizada nos ensaios de adsorção (g)

Tabela 2 - Matriz do delineamento experimental DCCR3 para o processo de adsorção do Alaranjado de Metila.

Ensaio	Granulometria (mm)	pH	Dosagem de biomassa (%)
1	-1 (0,15)	-1 (4,62)	-1 (0,49)
2	+1 (0,35)	-1 (4,62)	-1 (0,49)
3	-1 (0,15)	+1 (9,38)	-1 (0,49)
4	+1 (0,35)	+1 (9,38)	-1 (0,49)
5	-1 (0,15)	-1 (4,62)	+1 (1,61)
6	+1 (0,35)	-1 (4,62)	+1 (1,61)
7	-1 (0,15)	+1 (9,38)	+1 (1,61)
8	+1 (0,35)	+1 (9,38)	+1 (1,61)
9	-1,68 (0,06)	0 (7,00)	0 (1,05)
10	+1,68 (0,44)	0 (7,00)	0 (1,05)
11	0 (0,25)	-1,68 (3,00)	0 (1,05)
12	0 (0,25)	+1,68 (11,00)	0 (1,05)
13	0 (0,25)	0 (7,00)	-1,68 (0,10)
14	0 (0,25)	0 (7,00)	+1,68 (2,00)
15	0 (0,25)	0 (7,00)	0 (1,05)
16	0 (0,25)	0 (7,00)	0 (1,05)
17	0 (0,25)	0 (7,00)	0 (1,05)
18	0 (0,25)	0 (7,00)	0 (1,05)

Fonte: Da autora.

2.2. ESTUDO CINÉTICO

A fim de determinar o tempo de equilíbrio de adsorção de corante, foram realizados ensaios em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 150 mL da solução de corante com concentração de 50 e 100 mg.L⁻¹. O pH da solução, a granulometria e a porcentagem de biomassa adicionados nos Erlenmeyers foram os mesmos determinados pela matriz do delineamento experimental, ou seja, pH igual a 3,00, granulometria de 0,44 mm e dosagem de biomassa igual a 1,05%.

O pH das soluções de corante para cada ensaio foi ajustado utilizando soluções de NaOH (0,1 mol.L⁻¹) e H₂SO₄ (0,1 mol.L⁻¹). Os ensaios foram conduzidos em incubadora shaker (Modelo NovaTecnica) com agitação de 150 rpm, temperatura de 30 °C e tempo de contato total de 24 h. A concentração de corante em equilíbrio no sobrenadante foi determinada por leitura em espectrofotômetro UV-visível (Modelo: Edutec), sendo que nas três primeiras horas a leitura foi realizada com intervalos de trinta minutos, nas sete horas seguintes a leitura foi realizada a cada hora, e, por fim, realizou-se a leitura final quando as amostras completaram 24h de contato entre a solução e o bioissorvente.

2.3. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

As isotermas de adsorção descrevem a capacidade de adsorção de um adsorvente no seu estado de equilíbrio. De acordo com McCabe et al. (1998), uma isoterma de adsorção é a relação entre a concentração de adsorvato na solução e nas partículas do adsorvente, sendo que todas as outras condições (temperatura, pH, dosagem de massa, granulometria, entre outros) devem ser mantidas constantes. Além disso, a interação entre o adsorvato e a camada adsorvida é maior do que a sua interação com a superfície do adsorvente, ou seja, o adsorvato tem mais afinidade por ele mesmo do que pelo adsorvente (McCABE et al., 1998).

Para a construção das isotermas de adsorção do corante Alaranjado de Metila pela serragem de eucalipto, foram realizados ensaios, em duplicata, em frascos Erlenmeyer de 250 ml contendo 50 ml da solução de corante com concentrações de 20, 60, 100, 300 e 500 mg.L⁻¹. O pH das soluções, a granulometria e a porcentagem de biomassa adicionados nos Erlenmeyers foram os mesmos determinados pela matriz do delineamento experimental, ou seja, pH igual a 3,00, granulometria de 0,44 mm e dosagem de biomassa igual a 1,05%.

O pH das soluções de corante para cada ensaio também foi ajustado utilizando soluções de NaOH (0,1 mol.L⁻¹) e H₂SO₄ (0,1 mol.L⁻¹). Os ensaios foram conduzidos em incubadora shaker (Modelo NovaTecnica) com agitação de 150 rpm, temperatura de 30 °C e tempo de contato de sete horas, determinado pelo ensaio cinético. A concentração de corante em equilíbrio no sobrenadante foi determinada por leitura em espectrofotômetro UV-visível (Modelo: Edutec), as leituras foram realizadas no início e ao fim do tempo de contato entre a solução de corante e a biomassa.

Para a construção das curvas de adsorção foram utilizados os modelos de Langmuir e Freundlich, sendo que o primeiro modelo assume que as moléculas adsorvidas não sofrem interação mútua e que a adsorção cessa no momento em que todos os sítios do sólido já estejam ocupados, por outro lado, o modelo de Freundlich descreve processos de adsorção não ideais em superfícies heterogêneas e com formação de multicamadas. Assim, o processo de adsorção do Alaranjado de Metila será caracterizado pela isoterma que obter maior valor de coeficiente de correlação linear. As Equações 3 e 4 descrevem os modelos de Langmuir e Freundlich, respectivamente.

$$Q_e = \frac{Q_{\max} \cdot b \cdot C_e}{1 + b \cdot C_e} \quad (3)$$

$$Q_e = K_f \cdot C_e^{1/n} \quad (4)$$

Onde:

Q_e	Quantidade de corante adsorvido por massa de adsorvente (mg.g ⁻¹)
Q_{\max}	Quantidade máxima de corante absorvido (mg.g ⁻¹)
b	Constante de energia relacionada ao calor de adsorção (L. mg ⁻¹)
C_e	Concentração de equilíbrio do corante (mg.L ⁻¹)
K_f	Capacidade de adsorção (mg.g ⁻¹)
n	Fator de intensidade de adsorção

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DCCR

O processo de adsorção é consequência de uma combinação entre os tipos de forças envolvidas na adsorção física e química. Por isso, vários fatores influenciam o processo de adsorção, como a granulometria do adsorvente, o pH da solução e a dosagem (m/V) de adsorvente utilizado, dado em porcentagem.

Ao se realizar ensaios para analisar os fatores que influenciam em um teste de hipótese para a adsorção variando um fator de cada vez e mantendo os outros fixos o resultado pode levar a conclusões inconsistentes ou não atingir o ponto ótimo. Tal fato é explicado pela maneira como os ensaios são realizados, pois não atende a todas as combinações possíveis.

Ao realizar os ensaios variando todos os fatores simultaneamente é possível analisar a influência de cada fator na resposta e também atingir o ponto ótimo. Por isso o objetivo da realização de um planejamento experimental DCCR é realizar mudanças nos fatores do processo e verificar como estas mudanças na entrada influenciam a resposta, ou seja, a saída do processo.

A vantagem da realização de um planejamento fatorial é a possibilidade de atingir um valor ótimo para a resposta, reduzindo o tempo de ensaios, custo e como consequência otimizar o processo. A Tabela 3 apresenta a matriz do planejamento realizado e as respostas de capacidade de adsorção e porcentagem de

remoção de Alaranjado de Metila utilizando a serragem de eucalipto como biomassa. A capacidade de adsorção representa a quantidade em miligramas de Alaranjado de Metila que cada grama de serragem de eucalipto é capaz de adsorver e a porcentagem de remoção representa a quantidade de corante que realmente foi adsorvido da solução aquosa.

A partir das condições utilizadas no processo de adsorção do Alaranjado de Metila, definidas pelo planejamento experimental, a capacidade de adsorção utilizando a serragem de eucalipto variou entre 0,14 mg. g⁻¹ e 4,60 mg. g⁻¹. Por outro lado, a porcentagem de remoção de corante variou entre 1,44% e 55,06%.

O menor valor de capacidade de adsorção de Alaranjado de Metila foi observado no ensaio n° 12, realizado com granulometria de 0,25 µm, pH 11,00 e dosagem de biomassa de 1,05%. Enquanto que o maior valor foi observado no ensaio n° 11, realizado com granulometria de 0,25 µm, pH 3,00 e dosagem de biomassa de 1,05%. Observa-se que o pH foi alterado de um ensaio para o outro provocando grande variação da capacidade de adsorção de Alaranjado de Metila, enquanto que a granulometria da biomassa e a dosagem de massa da solução foram constantes.

Tabela 3 - Valores das variáveis do planejamento experimental e respostas da capacidade de adsorção e porcentagem de remoção do corante Alaranjado de Metila utilizando serragem de eucalipto.

Ensaio	Granulometria	pH	Massa	Qe (mg.g ⁻¹)	%remoção
1	0,15	4,62	0,242	2,01	9,74
2	0,35	4,62	0,242	2,64	12,76
3	0,15	9,38	0,242	1,23	5,97
4	0,35	9,38	0,242	1,86	8,99
5	0,15	4,62	0,807	2,80	45,24
6	0,35	4,62	0,807	2,80	45,24
7	0,15	9,38	0,807	2,52	40,71
8	0,35	9,38	0,807	2,71	43,73
9	0,06	7,00	0,525	3,37	35,42
10	0,44	7,00	0,525	3,01	31,65
11	0,25	3,00	0,525	4,60	48,26
12	0,25	11,00	0,525	0,14	1,44
13	0,25	7,00	0,05	2,19	2,19
14	0,25	7,00	1,00	2,75	55,06
15	0,25	7,00	0,525	3,16	33,16
16	0,25	7,00	0,525	3,23	33,91
17	0,25	7,00	0,525	3,16	33,16
18	0,25	7,00	0,525	3,16	33,16

Fonte: Da autora.

Nos ensaios n° 9 e 10 foram utilizados os mesmos valores de pH (7,00) e dosagem de biomassa (1,05%), e a alteração da granulometria da biomassa de um ensaio para o outro provocou pequena variação nas respostas para todas as biomassas. Nos ensaios n° 13 e 14 foram utilizados os mesmos valores de granulometria (0,25 µm) e pH (7,00), porém a alteração da dosagem de massa dos ensaios também provocou pequena variação nas respostas observadas para a capacidade de adsorção do corante.

Analisando os valores de resposta da Tabela 3 foi possível observar que as repetições dos pontos centrais (ensaios 15, 16, 17 e 18) não apresentaram grande variação nos valores de capacidade de adsorção e porcentagem de remoção do corante, o que segundo RODRIGUES & IEMMA (2009) indica boa repetibilidade do processo.

Utilizando o *Software* Statistica 7.0 e a partir dos valores de resposta da Tabela 3 foi feita uma análise estatística para obter a estimativa dos efeitos de cada variável e suas interações, os seus respectivos erros e também a análise de variância para variável resposta, capacidade de adsorção de Alaranjado de Metila.

Por meio dos resultados obtidos foram calculados os efeitos de cada variável linear, quadrática e a interação entre elas, que estão apresentados na Tabela 4. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$) e nível de confiança de 95% ($p < 0,05$).

O teste de hipótese para os efeitos fornece informações importantes sobre os efeitos das variáveis principais e a interferência de efeitos de 1ª ordem, ou seja, os efeitos causados pela interação entre duas variáveis principais. O efeito principal de uma variável é a variação causada na resposta quando todos os níveis desta variável são percorridos, independentemente dos demais fatores. Estes efeitos de uma variável principal podem ser lineares ou quadráticos. Na Tabela 4 os termos lineares estão associados à letra L e os termos quadráticos com a letra Q.

Como a análise do DCCR foi feita em *Software* Statistica 7.0 um dos outputs é o p-valor, que é a probabilidade de significância do teste, que é a probabilidade de ocorrência de valores da variável estatística do teste mais extremos que o obtido através das amostras. De acordo com RODRIGUES & IEMMA (2009) uma variável é significativa se o p-valor for menor que o nível de significância adotado.

Tabela 4 - Estimativas por ponto, por intervalo e testes de hipóteses para os efeitos das variáveis no processo de adsorção de Alaranjado de Metila pela serragem de eucalipto.

Fatores	Efeitos	Erro Padrão	p-valor
Média	3,19	0,38	<0,0001
Granulometria (L)	0,12	0,41	0,7761
Granulometria (Q)	-0,13	0,43	0,7735
pH (L)	-1,38	0,41	0,0102
pH (Q)	-0,71	0,43	0,1357
Massa (L)	0,59	0,41	0,1900
Massa (Q)	-0,64	0,43	0,1756
Granul. x Ph	0,05	0,54	0,9331
Granul. x Massa	-0,27	0,54	0,6366
pH x Massa	0,30	0,54	0,5981

Fonte: Da autora.

A partir da Tabela 4, considerando os resultados de p-valor, pode-se observar que somente a variável pH linear é significativa para a capacidade de adsorção do corante Alaranjado de Metila. Através dos resultados de capacidade de adsorção foi possível encontrar a equação que representa o modelo e seus respectivos valores para análise de variância. A Equação 5 representa o modelo de capacidade de adsorção e a Tabela 5 apresenta os valores encontrados para análise de variância (ANOVA).

$$Q_e = 3,19 + 0,06.X_1 - 0,06.X_1^2 - 0,69.X_2 - 0,36.X_2^2 + 0,30.X_3 - 0,32.X_3^2 + 0,02.X_1.X_2 - 0,13.X_1.X_3 + 0,15.X_2.X_3 \quad (5)$$

Onde:

X_1 é a variável codificada da granulometria;

X_2 é a variável codificada do pH;

X_3 é a variável codificada da massa.

Tabela 5 - Análise de variância da equação que representa o modelo de capacidade de adsorção do corante Alaranjado de Metila pela serragem de eucalipto.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F _{calc}	p-valor
Regressão	10,53	9	1,17	2,00	0,1702
Resíduos	4,67	8	0,58		
Total	15,2	17			

Fonte: Da autora.

De acordo com a Tabela 5, o valor de F calculado é igual a 2,00, tendo em vista que o valor de F tabelado é igual a 3,39, o modelo da capacidade de adsorção não é preditivo, ou seja, não é possível gerar as curvas de contorno que demonstram a relação entre as variáveis pH, massa e granulometria e a variável resposta capacidade de adsorção do corante Alaranjado de Metila.

A partir da análise da variável resposta porcentagem de remoção de corante, o menor valor foi observado no ensaio n° 12, realizado com granulometria de 0,25 µm, pH 11,00 e dosagem de biomassa de 1,05%. Enquanto que o maior valor foi observado no ensaio n° 14, realizado com granulometria de 0,25 µm, pH 7,00 e dosagem de biomassa de 2,00%. Observa-se que o pH e a dosagem de massa foram alterados de um ensaio para o outro provocando grande variação da porcentagem de remoção de Alaranjado de Metila, enquanto que a granulometria da biomassa foi constante. A Tabela 6 apresenta os efeitos estimados, erro padrão e p-valor para a avaliação da influência das variáveis granulometria, pH e dosagem de massa na porcentagem de remoção do corante Alaranjado de Metila.

Tabela 6 - Estimativas por ponto, por intervalo e testes de hipóteses para os efeitos das variáveis na porcentagem de remoção de Alaranjado de Metila pela serragem de eucalipto.

Fatores	Efeitos	Erro Padrão	p-valor
Média	33,45	4,09	< 0,0001
Granulometria (L)	0,40	4,43	0,9308
Granulometria (Q)	-0,82	4,60	0,8638
pH (L)	-13,52	4,43	0,0157
pH (Q)	-6,96	4,60	0,1691
Massa (L)	33,15	4,43	0,0001
Massa (Q)	-4,29	4,60	0,3789
Granul. x Ph	0,76	5,79	0,8994
Granul. x Massa	-0,76	5,79	0,8994
pH x Masa	0,38	5,79	0,9496

Fonte: Da autora.

A partir da Tabela 6, considerando que os resultados de p-valor são inferiores ao nível de significância adotado, pode-se observar que as variáveis pH linear e dosagem de massa linear são significativas para a porcentagem de remoção de Alaranjado de Metila. Através dos resultados desses resultados foi possível encontrar a equação que representa o modelo e seus respectivos valores para análise de variância. A Equação 6 representa o modelo de porcentagem de remoção de corante e a Tabela 7 apresenta os valores encontrados para análise de variância (ANOVA).

$$\% \text{Remoção} = 33,45 + 0,20.X_1 - 0,41.X_1^2 - 6,76.X_2 - 3,48.X_2^2 + 16,58.X_3 - 2,14.X_3^2 + 0,38.X_1.X_2 - 0,38.X_1.X_3 + 0,19.X_2.X_3 \quad (6)$$

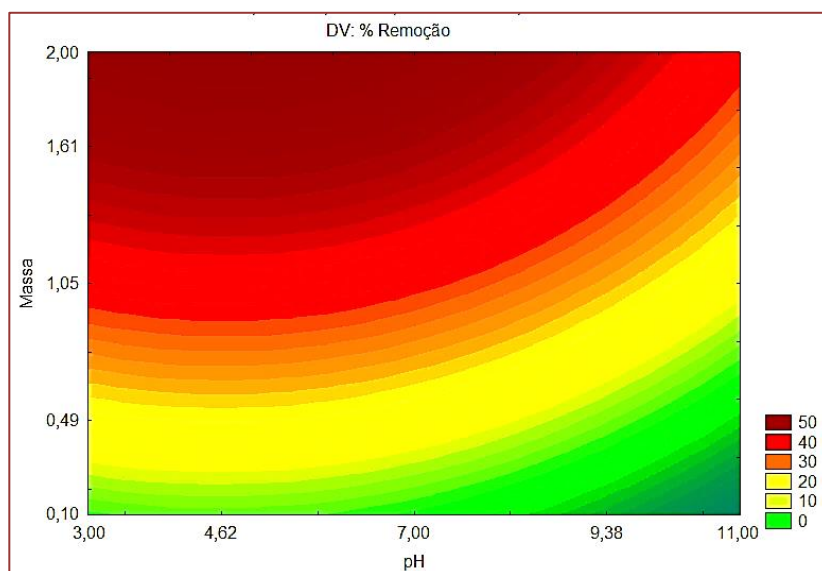
Tabela 7 - Análise de variância da equação que representa o modelo de porcentagem de remoção do corante Alaranjado de Metila pela serragem de eucalipto.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	Fcalc	p-valor
Regressão	4564,43	9	507,16	7,58	0,0045
Resíduos	535,47	8	66,93		
Total	5099,9	17			

Fonte: Da autora.

De acordo com a Tabela 7, o valor de F calculado é igual a 7,58, tendo em vista que o valor de F tabelado é igual a 3,39 conclui-se que o modelo de porcentagem de remoção é preditivo, sendo assim, a Figura 1 representa as curvas de contorno do modelo e confirma que as variáveis pH e dosagem de massa são significativas na remoção do corante Alaranjado de Metila.

Figura 1 - Curvas de contorno que representam o modelo de porcentagem de remoção de Alaranjado de Metila pela serragem de eucalipto



Fonte: Da autora.

A classificação granulométrica da biomassa diz qual diâmetro médio é encontrado em maior quantidade na amostra utilizada de serragem de eucalipto, a Tabela 8 apresenta essa classificação.

Tabela 8 - Classificação granulométrica da serragem de eucalipto.

Diâmetro médio (mm)	Proporção relativa (%)
0,44	39,96
0,35	7,19
0,25	14,49
0,15	1,32
0,06	0,30

Fonte: Da autora.

Considerando os resultados obtidos para as respostas de capacidade de adsorção e porcentagem de remoção, pode-se concluir que as condições ótimas para capacidade de adsorção e porcentagem de remoção são pH 3,00 e porcentagem de massa de 1,05% (0,525 g). A granulometria não apresentou efeitos estatisticamente significativos para ambas as variáveis respostas, portanto deve-se utilizar a granulometria de 0,44 mm, ou seja, o tamanho médio de partícula que apresentou maior proporção relativa de acordo com a classificação granulométrica da serragem de eucalipto.

A influência do pH para a remoção de Alaranjado de Metila foi estudada por NETO (2011) e mostrou que a remoção do corante apresenta pH ótimo em pH igual a 3,00, confirmando os resultados encontrados nesta pesquisa.

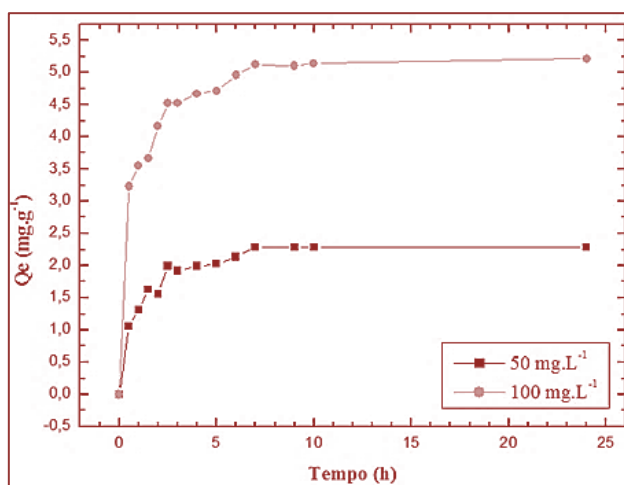
Em um estudo realizado por DARCIE (2018) o efeito da granulometria foi analisado para a remoção do corante Rodamina B utilizando serragem de eucalipto e foi observado que a granulometria da biomassa não apresentou alterações significativas para a remoção do corante.

Por fim, a dosagem de massa adequada para a adsorção de Alaranjado de Metila através de carvão ativado obtido por resíduos da agroindústria foi analisada por PIMENTEL (2015), e que concluiu que a dosagem ideal de biomassa é intermediária, afirmando o valor ótimo encontrado no presente estudo.

3.2. ESTUDO CINÉTICO

Através da cinética de adsorção é possível encontrar o tempo de equilíbrio do processo, esse tempo pode ser constatado na Figura 2, onde pode-se observar que após o tempo de equilíbrio a quantidade adsorvida é considerada constante com o aumento do tempo.

Figura 2: Dados experimentais do estudo cinético em função da capacidade de adsorção

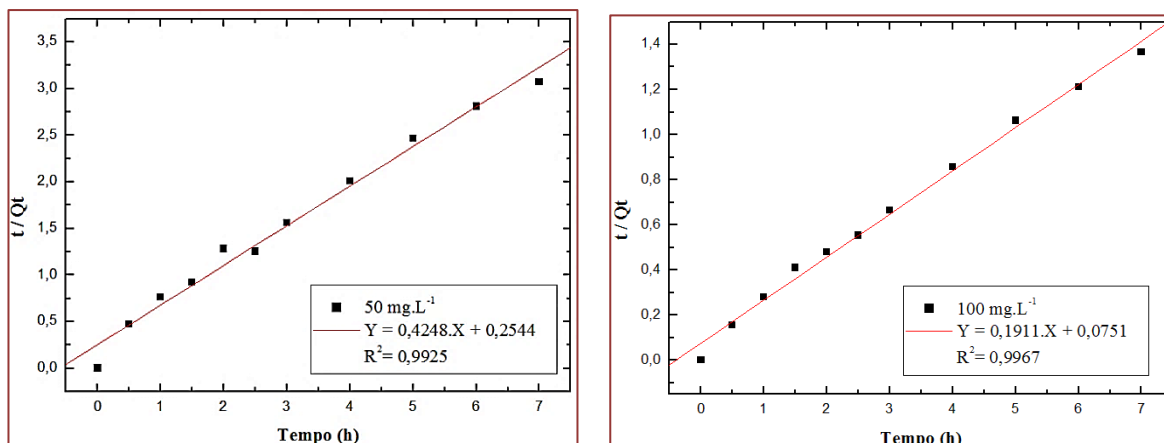


Fonte: Da autora.

De acordo com a figura 2, conclui-se que inicialmente a adsorção do corante para ambas as concentrações se comporta de maneira mais rápida, nas primeiras duas horas a capacidade de adsorção variou de 0,00 para 1,633 mg.g⁻¹ e de 0,00 para 4,165 mg.g⁻¹ referente às concentrações de 50 e 100 mg.g⁻¹, respectivamente. Nas horas seguintes a variação de capacidade de adsorção obteve alteração lenta de modo que o tempo de contato ótimo foi estabelecido em sete horas para ambas as concentrações.

Os dados experimentais foram tratados aplicando-se modelos lineares de equações de pseudo primeira-ordem, pseudo segunda-ordem e o modelo de difusão intrapartícula. As curvas da figura 3 demonstram que há uma boa concordância entre os dados experimentais e os teóricos do modelo de pseudo segunda-ordem, indicando este é o modelo que melhor descreve o mecanismo de velocidade de adsorção.

Figura 3 - Ajuste dos dados experimentais ao modelo cinético de Pseudo Segunda Ordem.



Fonte: Da autora.

Na Tabela 9 são mostrados os parâmetros obtidos para os modelos aplicados. O modelo de pseudo segunda-ordem apresentou R^2 igual a 0,9925 para concentração de 50 mg.g^{-1} e 0,9967 para concentração de 100 mg.g^{-1} e constante de velocidade K_2 de 0,1523 e 0,0295 para as concentrações de 50 e 100 mg.g^{-1} , respectivamente, isso indica uma boa aplicabilidade do modelo para o ensaio de adsorção testado.

Tabela 91 - Parâmetros dos modelos cinéticos de adsorção do corante Alaranjado de Metila pela serragem de Eucalipto.

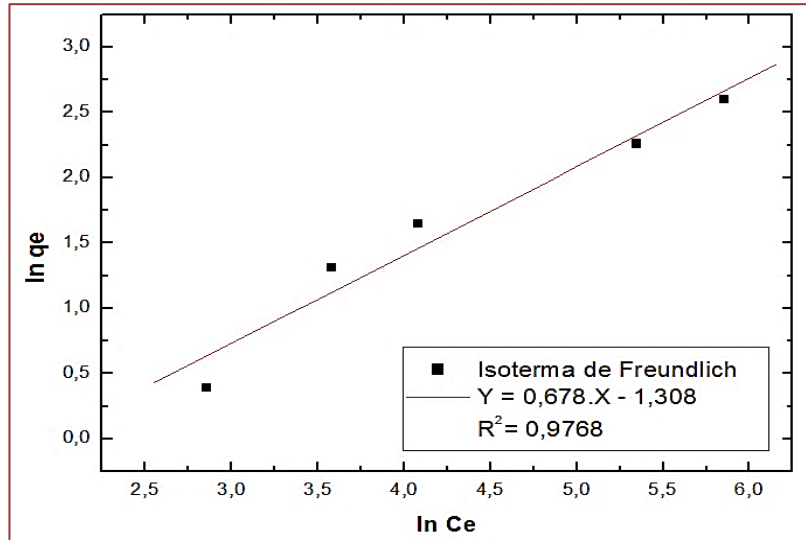
Modelo	50 mg.g^{-1}	100 mg.g^{-1}
Pseudo Primeira Ordem	$K_1 = 0,4060$	$K_1 = 0,4665$
	$Q_e = 1,4551$	$Q_e = 2,8536$
	$R^2 = 0,9406$	$R^2 = 0,9524$
Pseudo Segunda Ordem	$K_2 = 0,1523$	$K_2 = 0,0295$
	$Q_e = 3,9308$	$Q_e = 13,3155$
	$R^2 = 0,9925$	$R^2 = 0,9967$
Difusão Intrapartícula	$K_d = 0,7937$	$K_d = 1,6599$
	$C = 0,4161$	$C = 1,3839$
	$R^2 = 0,9432$	$R^2 = 0,9004$

Fonte: Da autora.

3.3. ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

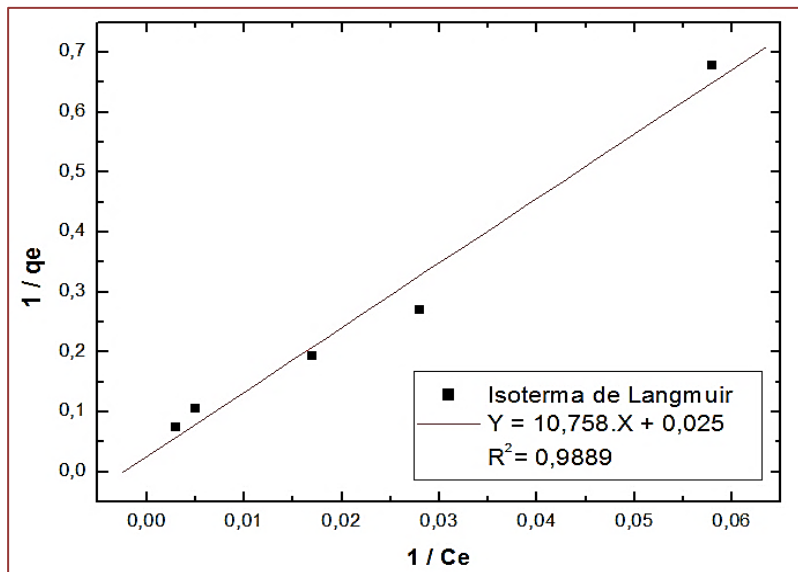
A obtenção de uma isoterma de adsorção é um processo que envolve o contato entre um adsorvente e um adsorvato, em soluções de diferentes concentrações conhecidas. Quando o sistema alcança o equilíbrio químico, após certo tempo, tem-se a concentração de equilíbrio (C_e) e a capacidade de adsorção do adsorvente no equilíbrio (q_e). Portanto, as isotermas são diagramas que mostram a variação da concentração de equilíbrio no sólido adsorvente em uma determinada temperatura (FOO,2010). Nas Figuras 4 e 5 são mostradas as curvas das isotermas de adsorção ajustadas segundo os modelos de Freundlich e Langmuir, respectivamente.

Figura 4 - Isoterma de adsorção ajustada segundo o modelo de Freundlich.



Fonte: Da autora.

Figura 5 - Isoterma de adsorção ajustada segundo o modelo de Langmuir.



Fonte: Da autora.

O modelo de Langmuir descreve o processo de adsorção do Alaranjado de Metila pela serragem de eucalipto visto que seu coeficiente de correlação linear ($R^2 = 0,9889$) é mais próximo de um, quando comparado ao valor gerado pelo modelo de Freundlich ($R^2 = 0,9768$). A Tabela 10 demonstra os parâmetros obtidos após a aplicação dos modelos de isotermas de Freundlich, e Langmuir para os resultados experimentais obtidos.

Tabela 10 - Parâmetros dos modelos de isotermas calculados para o ensaio de equilíbrio de adsorção.

Isoterma	Parâmetros		Coefficiente de Correlação (R ²)
Freundlich	K_f = 0,27 (mg.g⁻¹).(L.mg⁻¹)	n_f=1,48	0,9768
Langmuir	K_l = 2,32.10⁻³ L.mg⁻¹	q_{max} = 40,00 mg.g⁻¹	0,9889

Fonte: Da autora.

A Tabela 11 apresenta os valores de capacidade máxima de adsorção de diversos adsorventes para o corante Alaranjado de Metila. A serragem de eucalipto apresenta a vantagem de possuir baixo custo e fácil acesso por ser um resíduo industrial gerado em grande escala. Apesar de, quando comparada com outros adsorventes, essa biomassa apresenta capacidade de remoção inferior, pode ser considerado um material promissor para esta aplicação.

Tabela 11 - Capacidade de adsorção de alguns adsorventes frente ao corante Alaranjado de Metila.

Adsorvente	q _{max} (mg.g ⁻¹)	Autor
Serragem de eucalipto	40,0	Este estudo.
Argilas Esmectíticas	51,3	Neto et al. (2014)
Carvão ativado de resíduos da agroindústria	82,0	Pimentel et. al. (2015)
Semente de abóbora aminada	143,7	Subbaiah & Kim (2016)

Fonte: Da autora.

4. CONCLUSÃO

A partir dos resultados do presente trabalho foi possível caracterizar e analisar o processo de adsorção do Alaranjado de Metila utilizando a serragem de eucalipto como biomassa lignocelulósica, tendo em vista as variáveis granulometria da biomassa, o pH da solução de corante e a dosagem da biomassa (m/V). O Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) mostrou que a variável granulometria da biomassa não é significativa para o processo de adsorção, por outro lado, as variáveis pH da solução de corante e dosagem de biomassa apresentaram significância para a adsorção do corante Alaranjado de Metila sendo que os valores ótimos encontrados foram de pH igual a 3,00 e dosagem de biomassa igual 1,05%.

O estudo cinético mostrou que o tempo de contato necessário para que a reação esteja em equilíbrio é de sete horas, além disso, o modelo que obteve melhor ajuste aos dados experimentais foi o de pseudo segunda ordem, apresentando valores de R² de 0,998 e 0,9992 para as concentrações de 50 e 100 mg.g⁻¹, respectivamente. Esse fato permite comprovar que os sítios desocupados são proporcionais à taxa de adsorção que é limitada pelo compartilhamento ou troca de elétrons entre adsorvato e adsorvente.

Dentre os modelos de isotermas de adsorção aplicados, o modelo de Langmuir foi o que obteve melhor ajuste aos dados experimentais devido ao alto valor de coeficiente de correlação, portanto é possível dizer que as moléculas adsorvidas não sofrem interação mútua e que a adsorção cessa no momento em que todos os sítios do sólido estejam ocupados, isto é, ocorre em monocamadas.

Por fim, a capacidade máxima de remoção de corante obtida nesse estudo foi de 40 mg.g⁻¹, em comparação com outros estudos de adsorção do corante Alaranjado de Metila. Devido à abundância de serragem de eucalipto e seu potencial como bioadsorvente, futuros trabalhos podem ser realizados de tal forma que esse método de remoção de corante seja utilizado em conjunto com outros métodos promissores afim de intensificar a bioadsorção do poluente Alaranjado de Metila como também de outros corantes.

REFERÊNCIAS

- [1]. AOUDJ, S.; KHELIFA, A.; DROUICHE, N.; HECINI, M.; HAMITOUICHE, H. Electrocoagulation process applied to wastewater containing dyes from textile industry. *Chemical Engineering And Processing* 49. Algeria, p. 1176-1182, 2010.
- [2]. CISNEROS, R. L.; ESPINOZA, A. G.; LITTER, M. I. Photodegradation of an azo dye of the textile industry. *Chemosphere*, p. 48, 393-399, 2002.
- [3]. CRINI, G.; PEINDY, H. N. Adsorption of C.I. Basic Blue 9 on cyclodextrin-based material containing carboxylic groups. *Dyes and Pigments*, p. 70, 204-211, 2005.
- [4]. DANESHVAR N.; SORKHABI H. A.; KASIRI M.B. Decolorization of dye solution containing Acid Red 14 by electrocoagulation with a comparative investigation of different electrode connections. *Journal of Hazardous Materials*. Iran, v. 112, (1-2), p. 55-62, 2004.
- [5]. DARCIE, Letícia dos Reis. Estudo da utilização de diferentes biomassas lignocelulósicas como adsorventes para a remoção de Rodamina B. 2018. 64 f. Tese (Mestrado) - Curso de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2019.
- [6]. FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chemical Engineering Journal*, v. 156, p. 2-10, 1 jan. 2010
- [7]. HOLME, J. *Developments in the Chemistry and Technology of Organic Dyes*. J. Griffiths Ed. Blackwell Scient. Publ. Oxford, 1984.
- [8]. KHANDEGAR, V.; SAROHA, A.K. Electrochemical treatment of effluent from small scale dyeing unit. *Indian Chemical Engineer*. Indian, p. 1-9, 2013.
- [9]. KOBYA, M.; DEMIRBAS, E.; CAN, T. O.; BAYRAMOGLU, M. Treatment of levafix orange textile dye solution by electrocoagulation. *Journal Of Hazardous Materials*. Turkey, p. 183- 188, 2005.
- [10]. KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. (2002). Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Química Nova*, 25(1), 78-82. DOI:10.1590/s0100-40422002000100014
- [11]. MERZOUK, B.; GOURICH, B.; MADANI, K.; VIAL, C.; SEKKI, A. Removal of a disperse red dye from synthetic wastewater by chemical coagulation and continuous electrocoagulation. A comparative study. *Desalination*. Algeria, p. 246-253. fev. 2011.
- [13]. MOTSCHI, H; *Chemical Safety*. M. Richardson Ed.V. C. H. Publ, p. 329, 1994.
- [14]. NASCIMENTO, R. F.; LIMA, A. C. A.; VIDAL, C. B.; MELO, D. Q.; RAULINO, G. S. C. (2014). *Adsorção - aspectos teóricos e aplicações ambientais*. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014. 256 p.
- [15]. McCABE, W. L. M.; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. *Operaciones Unitarias en Ingenieria Química*: Edigrafos, S.A. Spain, 1998.
- [16]. NETO, J. F.; MENEZES, R. R.; NEVES, G. A. Processo adsorptivo de corantes por argilas esmectílicas do município de Boa Vista – Paraíba. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos* 2014, 9, 151.
- [17]. PIMENTEL, J. G. et al. Estudo adsorptivo do corante alaranjado de metila em carvões ativados obtidos a partir de resíduos da agroindústria. *Anais do XXXVII Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados*, [S.L.], v. 1, n. 8, p. 15-26, out. 2015. Editora Edgard Blücher.
- [18]. RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. *Planejamento de experimentos e otimização de processos*. Campinas : Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2009. 357 p. Pimentel 2015
- [19]. SUBBAIAH, M.V.; KIM, D.-S. Adsorption of methyl orange from aqueous solution by aminated pumpkin seed powder: Kinetics, isotherms, and thermodynamic studies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.128, p.109-117, 2016.

Capítulo 2

Aplicação do óxido de grafeno como potencial suporte para imobilização enzimática

Paula Valéria Viotti

Henrique Straioto

Wardleison Martins Moreira

Rosangela Bergamasco

Marcelo Fernandes Vieira

Resumo: Em muitas aplicações industriais é necessária a recuperação e purificação da enzima para que o processo se torne mais vantajoso. A técnica de imobilização de enzima é uma alternativa que atende e supera esse requisito. O óxido de grafeno (GO) é um material inovador alvo de inúmeras pesquisas em diversas áreas de conhecimento. Devido à busca de novos materiais para serem utilizados como suporte de imobilização, este trabalho apresenta algumas características do GO que mostram seu potencial para tal finalidade e alguns estudos presentes na literatura inerentes à imobilização enzimática em GO por diversos métodos.

Palavras-chave: Biotecnologia; grafeno; imobilização enzimática.

1. INTRODUÇÃO

Enzimas são proteínas produzidas por organismos vivos com o objetivo de acelerar as mais diversificadas reações químicas necessárias à vida. Aplicadas em diversos setores industriais, como alimentício, cosmético e farmacêutico, as enzimas agem como catalisadores naturais, sendo úteis nos mais variados processos industriais.

Devido aos avanços tecnológicos, as propriedades enzimáticas podem e devem ser melhoradas para uso industrial. Nesse contexto, a imobilização enzimática é uma maneira de oferecer maior estabilidade, atividade, especificidade e seletividade. Nesse contexto, a imobilização de enzimas tem sido cada vez mais utilizada para melhorar as propriedades das enzimas solúveis. A necessidade de melhorias na segurança e qualidade, juntamente com as reduções necessárias de custo, tempo e energia, acarretam na busca de novos métodos sofisticados.

Na imobilização enzimática em um suporte sólido, a escolha do suporte é um fator determinante no custo benefício do processo. O óxido de grafeno (GO) é um nanomaterial que tem sido alvo de inúmeros estudos, sendo aplicado em várias áreas da pesquisa devido às suas excelentes propriedades, como elevada área específica, boa resistência mecânica e estabilidade térmica. Tais características fazem do GO um suporte com propriedades ideais para imobilização. Além disso, a presença de grupos funcionais oxigenados fornece vários sítios de ligação com moléculas externas, como moléculas pequenas, biomacromoléculas e polímeros.

Logo, este trabalho tem como objetivo apresentar uma breve revisão da literatura sobre imobilização enzimática, bem como sobre a utilização de óxido de grafeno como potencial suporte de imobilização.

2. IMOBILIZAÇÃO DE ENZIMAS

Enzimas são catalisadores com excelentes propriedades (elevada atividade, seletividade e especificidade), de modo que oferecem processos muito mais competitivos quando comparadas a catalisadores químicos, pois permitem a realização de processos químicos complexos sob condições de operação menos agressivas. Devido aos avanços tecnológicos da engenharia inerente à microbiologia, engenharia e química de proteínas e necessidades ambientais e econômicas, a aplicação industrial das enzimas aumentou nos últimos anos (MATEO et al., 2007; CHOI et al., 2015).

A utilização da enzima em sua forma livre é limitada pela dificuldade de recuperação e estabilidade por um longo período. Apesar de suas excelentes propriedades catalíticas, as propriedades enzimáticas devem ser melhoradas antes de sua implementação em escala industrial. Técnicas relacionadas à imobilização de enzimas podem ser ferramentas poderosas no que tange ao progresso de quase todas as propriedades da enzima, como, estabilidade, atividade, especificidade e seletividade. (MATEO et al., 2007; SHELDON e VAN PELT, 2013).

De acordo com Schmidell et al. (2001), o sistema com enzimas imobilizadas tem como principal característica o uso de alguma estrutura física de confinamento que as obriga a permanecer em uma região particular do reator. Apesar das vantagens mencionadas, de acordo com Amini et al. (2017), no processo de imobilização a forma da enzima pode ser alterada, resultando em uma queda na eficiência. Ademais, o uso de alguns suportes pode ser limitado pelo custo, de modo a ser necessário avaliar o custo benefício do processo. Aarthy et al. (2014) também afirmam que a atividade das enzimas imobilizadas diminui a reutilização contínua devido à dessorção, inativação do substrato e inibição do produto. Algumas vantagens e desvantagens relacionadas à imobilização de enzima estão apresentadas na Tabela 1.

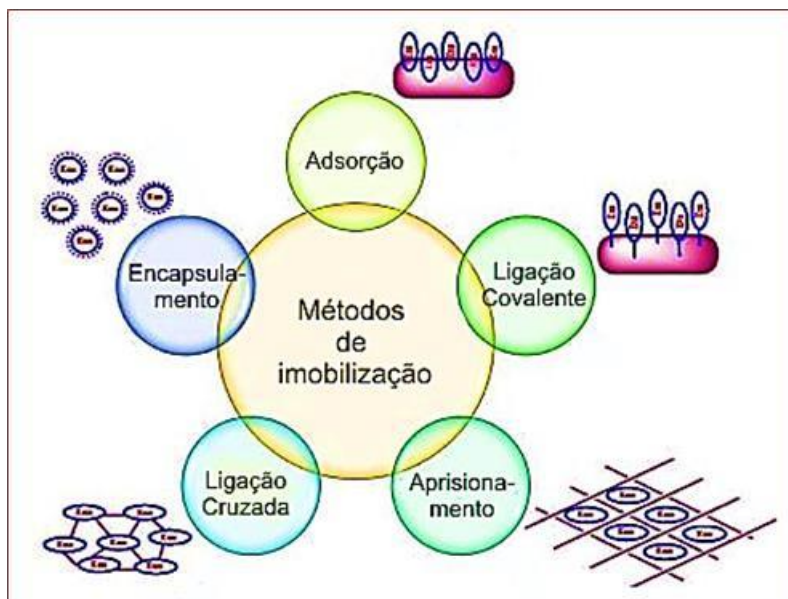
Tabela 1- Vantagens e desvantagens da imobilização de enzima.

Vantagens	Desvantagens
Fácil recuperação do meio reacional, permitindo o reuso ^{[1][2][3][4][6]}	Pode alterar a forma e a função da enzima ^[1]
Pode melhorar a estabilidade enzimática ^{[1][2][3][6][7]}	Elevado custo do suporte ^[1]
Possibilita a sua utilização tanto em sistema contínuo como batelada ^{[1][2]}	Pode diminuir a atividade enzimática ou em alguns casos, acarretar na inativação da enzima ^[4]
Diminui os custos de operação ^{[2][4][5][7]}	
Controla a formação de produtos ^{[2][3]}	
Redução de problemas na disposição de efluentes ^[1]	
Produto isento de catalisador ^{[1][2]}	

Fonte: ^[1]Amini et al. (2017); ^[2]Idris e Bukhari (2012); ^[3]Tanaskovic et al. (2017); ^[4]Adlercreutz (2013); ^[5]Ye et al. (2013); ^[6]Aransiola et al. (2014); ^[7]Christopher et al. (2014).

Várias são as técnicas de imobilização utilizadas até o momento, de modo que os métodos podem ser classificados em: aprisionamento (enredamento em fibras, géis poliméricos e microcápsulas), encapsulamento, ligação cruzada (ligações químicas entre moléculas de enzima) e ligação a um suporte sólido insolúvel (via adsorção física ou ligação química, como ligação iônica, covalente e metálica). Os métodos básicos de imobilização são mostrados na Figura 1.

Figura 1 – Métodos básicos de imobilização de enzimas.



Fonte: Adaptado de Bilal et al. (2018).

Dentre os métodos possíveis, a imobilização por adsorção em um suporte insolúvel é a mais amplamente utilizada (ABBASZAADEH et al., 2012; CHRISTOPHER et al., 2014; POURZOLFAGHAR et al., 2016). A adsorção faz uso de interações físicas entre a enzima e o suporte, e incluem forças fracas de ligação, como forças de van der Waals, interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio, de modo que a conformação da enzima não é alterada (JESIONOWSKI et al., 2014). Contudo, mediante força iônica moderada e variação do pH pode ser que as enzimas sejam dessorvidas, sendo a imobilização reversível. A imobilização por adsorção em suportes com elevada densidade de trocadores iônicos pode apresentar interações muito fortes, de forma a ser uma opção frente à imobilização covalente.

A imobilização covalente, grupos funcionais do suporte se ligam quimicamente a grupos funcionais específicos da enzima, tais como aminos terminais e resíduos de lisina, carboxílicos de ácidos aspárticos e ácidos glutâmicos; fenólicos de tirosinas; tióis de cisteínas; hidroxil de serinas, tirosinas e treoninas; imidazóis de histidinas; e indóis de triptofanos. É também uma técnica mundialmente empregada devido à elevada estabilidade da enzima inerente à forte ligação resultante. Contudo, se a enzima for irreversivelmente desativada, tanto a enzima como o suporte (muitas vezes dispendioso) são inutilizados.

Em suma, a escolha entre a forma solúvel e imobilizada depende da natureza do processo de conversão e da estabilidade operacional das duas formas. Assim como o método de imobilização e o tipo de suporte dependerá das características da enzima e das condições de uso da enzima imobilizada.

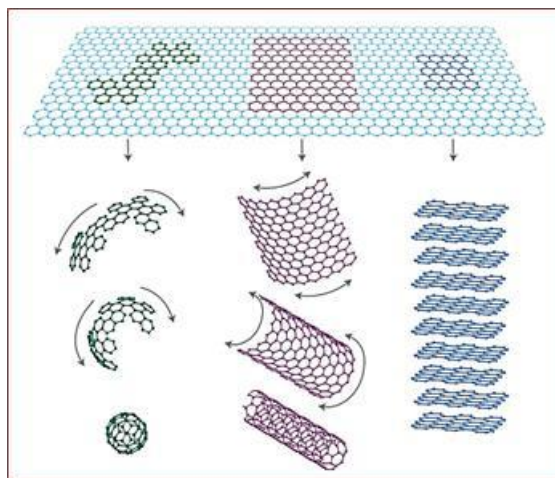
3. GRAFENO E ÓXIDO DE GRAFENO

O grafeno é uma estrutura bidimensional (2D) que consiste em uma folha planar monoatômica de carbonos com hibridização sp^2 , dispostos em anéis hexagonais (GEIM e NOVOSELOV, 2007). É considerado um material recente e de rápida ascensão no que tange a ciência dos materiais (CHEN et al., 2012).

As folhas de grafeno possuem propriedades físico-químicas muito interessantes e de alta relevância, causando um grande impacto em vários campos da ciência e tecnologia, como flexibilidade, resistência mecânica (1060 GPa), condutividade térmica ($\approx 3000 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$) (STANKOVICH et al., 2006), estabilidade térmica e química (XING et al., 2015). Devido a suas propriedades eletrônicas inerente a quantidade de elétrons pi-delocalizados, as folhas de grafeno possuem elevada área específica (LIANG et al., 2009; XING et al., 2015) (teoricamente $2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) (CHEN et al., 2012), fazendo com que seja promissor na fabricação de dispositivos eletrônicos, bem como novos materiais nanocompósitos (LIANG et al., 2009).

O grafeno pode ser considerado como um bloco de construção básico para outros materiais gráfiticos. Quando embrulhado em forma esférica, chama-se fullereno. Quando enrolado na forma de uma nanoestrutura cilíndrica, chama-se nanotubo de carbono. Já o grafite pode ser considerado como uma pilha composta por multicamadas de grafeno ligadas fracamente entre si. Essas ligações fracas permitem que as folhas de grafeno deslizem facilmente umas sobre as outras. Porém, devido ao grande número de ligações, a separação das folhas é dificultada (LI e KANER, 2008). As representações descritas podem ser observadas na Figura 2.

Figura 2 – Alótropos de carbono originados na folha de grafeno.



Fonte: Geim e Novoselov (2007).

As nanofolhas de grafeno foram produzidas pela primeira vez pela clivagem mecânica manual do grafite (Scott Tape). Atualmente, as principais abordagens para a obtenção das folhas de grafeno são: microesfoliação mecânica do grafite, crescimento epitaxial em substrato de SiC, deposição de vapor químico e esfoliação química a partir da oxidação do grafite.

Na microesfoliação mecânica (método *Scott Tape*), esfolia-se o grafite de alta pureza utilizando-se uma fita adesiva e transfere-se para um substrato de óxido de silício (SiO_2). Contudo, esse método não é aplicável em grande escala (SUN et al., 2011).

O método de crescimento epitaxial em substrato de SiC consiste no tratamento térmico do carboneto de silício a cerca de $1300\text{ }^\circ\text{C}$ sob vácuo, resultando na sublimação dos átomos de silício. Dessa forma, os átomos de carbono podem rearranjar-se formando a folha de grafeno (SOLDANO et al., 2010).

Na deposição de vapor químico, uma superfície de metal (Pt, Ni, Cu, entre outros) é colocada dentro de um forno com um gás carbonáceo a uma temperatura adequada para a quebra da molécula de gás. Logo, o carbono adere à superfície do metal, formando a folha de grafeno.

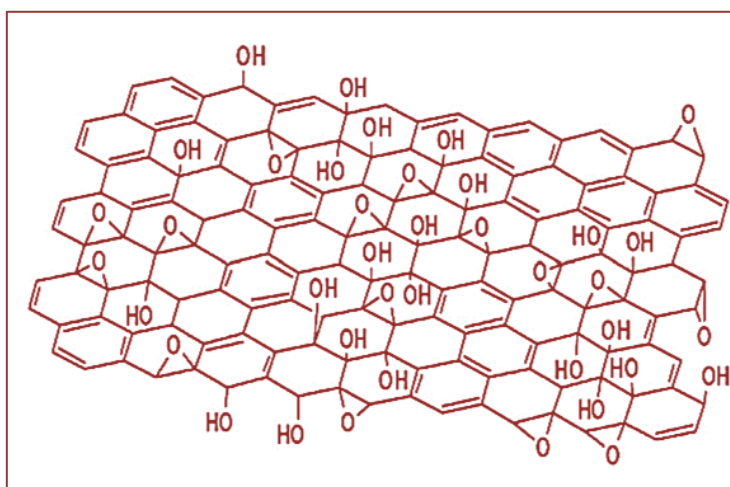
O método da esfoliação química consiste na oxidação do grafite e esfoliação do óxido formado. Este, por sua vez, é reduzido a fim de formar as folhas de grafeno (SUN et al., 2011).

O óxido de grafite é um material em multicamadas formado pela oxidação controlada do grafite (STANKOVICH et al., 2006). Ele pode ser facilmente esfoliado em água, formando uma dispersão estável constituída de folhas individuais denominada de óxido de grafeno (GO).

Vários modelos estruturais foram propostos ao longo dos anos para o GO. Os modelos mais recentes assumem uma estrutura não estequiométrica e amorfa (DREYER et al., 2010). Contudo, a estrutura atômica do GO ainda não é completamente elucidada, principalmente no que tange a natureza e distribuição dos grupos funcionais oxigenados. De acordo com Chen et al. (2012), ainda faltam técnicas analíticas suficientemente sensíveis para caracterizar o GO.

O modelo mais conhecido é o proposto por Lerf e Klinowski (Figura 3), em que o GO consiste em carbonos hibridizados sp^3 , com grupos hidroxila e epóxi no plano basal, e carbonos hibridizados sp^3 , com carboxilas nas arestas da folha (STANKOVICH et al., 2006).

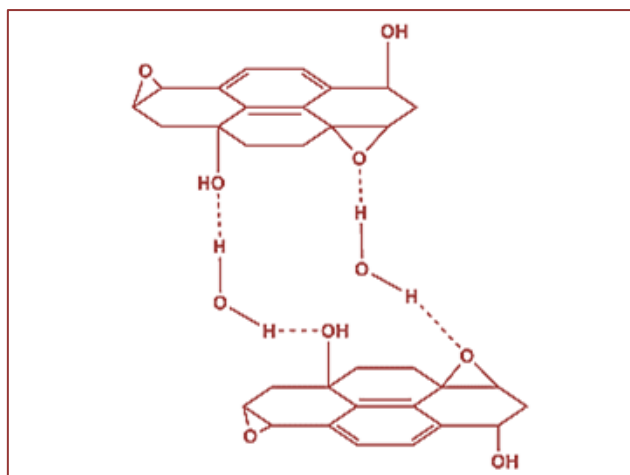
Figura 3 – Modelo proposto por Lerf e Klinowski para o GO.



Fonte: Pei e Cheng (2012).

Devido à oxidação e, por conseguinte, a presença de grupos funcionais oxigenados, o GO é altamente hidrofílico (PAREDES et al., 2008). As fortes interações com a água (ligações de hidrogênio) é o principal fator na manutenção da estrutura empilhada do GO (Figura 4).

Figura 4 – Ligações de hidrogênio entre os grupos oxigenados do GO e água.



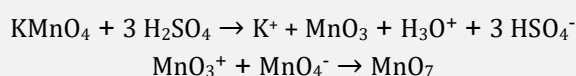
Fonte: Dreyer et al. (2010).

A hidratação/solvatação do GO é uma das propriedades inerentes ao método aplicado na síntese do material (BUCHSTEINER et al., 2006). A hidratação e solvatação por solventes polares acarretam no distanciamento dos planos das folhas. Esse distanciamento também é alterado com a variação de temperatura e teor de umidade (VOROBIEV et al., 2014).

4. SÍNTESE DO ÓXIDO DE GRAFENO

O óxido de grafeno foi primeiramente sintetizado por Brodie em 1859 a partir de uma mistura de oxidação composta por clorato de potássio (KClO₃) e ácido nítrico (HNO₃).

O método descrito por (HUMMERS e OFFEMAN, 1958) é o mais comumente utilizado na síntese do GO, e consiste na oxidação do grafite por uma mistura de permanganato de potássio (KMnO₄) e ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) de acordo com a reação abaixo.



Apesar do permanganato de potássio ser bastante utilizado como agente oxidante, neste caso, a espécie oxidante é o heptóxido diamanganês (MnO₇), formando pela reação de permanganato de potássio com ácido sulfúrico. É um composto altamente explosivo se aquecido a temperaturas superiores a 55 °C. Logo, o controle de temperatura é crucial, principalmente no processo em larga escala (ZHONG et al., 2015).

O grafite é um mineral encontrado na natureza (WISSLER, 2006). De acordo com Dreyer et al. (2010), o grafite em flocos é a principal fonte de grafite para reações químicas, incluindo sua oxidação, apenas passando por um processo de purificação com o objetivo de remoção dos heteroátomos.

Algumas das preocupações na síntese do GO são a não homogeneidade química do material e a reprodutibilidade das bateladas. Ademais, os vários métodos de síntese, bem como as etapas de lavagem após a síntese, podem acarretar nas diferentes propriedades do material (ZHONG et al., 2015).

5. IMOBILIZAÇÃO DE ENZIMAS EM ÓXIDO DE GRAFENO

Devido às inúmeras características já citadas, o GO tem sido estudado com potencial aplicação em diversas áreas. Desde a descoberta das vantagens do uso de enzimas imobilizadas, a busca por novos materiais com características estruturais, morfológicas e químicas apropriadas para o suporte de imobilização tem sido intensificada, principalmente com o desenvolvimento de nanomateriais.

A elevada área específica, boa resistência mecânica e estabilidade térmica faz do GO um suporte com propriedades ideais para imobilização. Ademais, a presença de grupos funcionais oxigenados, faz com que, além da boa dispersão em água, podem fornecer vários sítios de ligação com moléculas externas, como moléculas pequenas, biomacromoléculas e polímeros sem qualquer modificação na superfície ou reagentes de reticulação (ZHANG et al., 2010; ZHOU et al., 2012).

Apesar das propriedades que fazem do GO um suporte ideal para imobilização (ZHANG et al., 2010), poucos trabalhos são encontrados na literatura relacionados à imobilização de enzima direta em GO.

Zhang et al (2010) imobilizou Peroxidase em GO sintetizado pelo método de Hummers modificado. Neste estudo, a imobilização foi feita oferecendo uma carga enzimática de 40 mg enzima/mg GO, a partir de uma solução de GO 1 mg/mL em tampão fosfato 0,1 M, variando o pH de 4,2 a 8,8. Os autores concluíram que a imobilização ocorreu devido às interações eletrostáticas enzima-suporte, e que as ligações de hidrogênio entre grupos oxigenados do GO e dos resíduos de aminoácido da enzima também contribuíram para o processo de imobilização.

No trabalho de Zhou et al. (2012), a imobilização de enzima Glicose-oxidase foi feita em GO sem qualquer reagente de reticulação ou modificação superficial do suporte. No estudo se utilizou tampão fosfato 0,1 M variando de 4 a 7, carga enzimática de 0,1 mg enzima/mg suporte, e solução de GO 1 mg/mL. Os autores também relacionaram a imobilização a interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio.

Zhang et al. (2012) também estudaram a imobilização de Peroxidase e Oxalato oxidase em GO e óxido de grafeno quimicamente reduzido (rGO). Os autores concluíram que, devido à variação no carregamento da enzima, a imobilização em GO é governada por interações eletrostáticas. Já na imobilização em rGO, devido ao número muito inferior de grupos oxigenados presente, a enzima interage com o suporte por interações hidrofóbicas. A capacidade máxima alcançada na imobilização em rGO foi de 1,3 e 12 mg de enzima/mg de suporte para a peroxidase e oxilato oxidase, respectivamente, sendo cerca de dez vezes maior que a capacidade máxima obtida para a imobilização direta em GO.

Visto que a carga dos grupos funcionais tanto da enzima quanto do suporte depende de parâmetros externos como pH e força iônica do meio, interações entre a enzima e o GO podem ser complicadas. Logo, por meio da interação eletrostática, diferentes enzimas podem exibir diferentes cargas enzimáticas e estabilidades quando suportadas em GO. Da mesma forma se a repulsão eletrostática ocorrer, a imobilização pode ser desfavorável.

Os grupos funcionais do GO permitem ainda sua funcionalização. De acordo com Karimi et al. (2015), a funcionalização por ligação covalente, interações não covalentes e adição de nanopartículas são as três principais maneiras para essa modificação na superfície. A imobilização covalente por meio da ligação entre grupos amino da enzima e carboxílicos do GO é frequentemente aplicada, como nos trabalhos de Shen et al. (2010) e Sakata et al. (2012) ao imobilizarem soro albumina bovino e tripsina, respectivamente.

Nos trabalhos de Shen et al. (2010) e Sakata et al. (2012), as enzimas foram imobilizadas por amidação ativada por diimida. Nessa reação, os grupos carboxílicos da superfície do GO são ativados por 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDAC), e, em seguida, reagiram com N-Hidroxisuccinimida (NHS), de modo a formar um sítio reativo para a ligação covalente com a enzima.

Dai et al. (2018) imobilizaram pectinase em compósito GO-alginato por ligação covalente, utilizando N, N-diciclohexilcarbodiimida (DCC) e NHS como agentes ativantes. Os autores avaliaram os parâmetros ótimos de imobilização (concentração de enzima, pH, temperatura e tempo) de acordo com a metodologia de superfície de resposta, bem como o efeito do pH (2,5 a 5,5) e temperatura (20 a 80°C) na atividade enzimática.

A imobilização de cloroperoxidase (GOD) em GO foi estudada por Ding et al. (2017). A imobilização foi feita diretamente em GO, via adsorção (GOD-GO), e também utilizando GO modificado com concanavalina A, a partir de EDAC e NHS como agentes ativantes (GOD-ConvA-GO). Para a obtenção de ambos os derivados, as condições de imobilização ótimas foram avaliadas de acordo com o pH, tempo de imobilização e temperatura, mediante avaliação da superfície de resposta. Os parâmetros ótimos encontrados foram: pH = 2,90 e 3,15 e temperatura = 12 °C e 28 °C e tempo de imobilização = 25 min e

89,13 min, para a GOD-GO e GOD-ConvA-GO, respectivamente. Além da estabilidade térmica dos derivados, o reuso também foi investigado. GOD-GO praticamente perdeu toda a atividade após 4 ciclos, e GOD-ConvA-GO após 8 ciclos, demonstrando que as ligações entre GOD-ConvA e GO são mais estáveis.

Apesar da interação química direta entre os grupos funcionais do GO e enzimas, os agentes de reticulação também podem ser usados na imobilização. Su et al. (2012) imobilizaram uma protease alcalina em GO utilizando glutaraldeído como agente de reticulação. O pH (6 a 10,6) e temperatura ótima (35 a 70 °C), bem como a estabilidade térmica à 60 °C foram avaliadas. O estudo mostrou que a estabilidade térmica e o reuso da enzima imobilizada por 6 ciclos foram superiores à enzima livre.

No trabalho de Zhuang et al. (2016), a imobilização de tripsina em GO modificado com amino polietilenoglicol (NH₂-PEG) por adsorção e utilizando glutaraldeído como agente de reticulação. Em todos os ensaios foi utilizada uma razão proteína/suporte igual a 15 mg/mg. As capacidades de imobilização foram 6,45 e 8,29 mg/mg para a adsorção e para a imobilização covalente, respectivamente. Contudo, para o derivado da imobilização por adsorção, a atividade recuperada foi de 30,7, evidenciando as interações físicas (eletrostáticas e hidrofóbicas) entre a enzima e o suporte. Já para o derivado da imobilização covalente foi de 69%.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da revisão bibliográfica apresentada, fica claro a importância de estudos relacionados à utilização do óxido de grafeno como suporte de imobilização enzimática, uma vez que GO apresenta excelentes propriedades para tal função. A eficiência de imobilização enzimática em GO está relacionada a vários fatores, como pH, temperatura e força iônica do meio, bem como o método de imobilização utilizado. Contudo, deve-se observar a variação de atividade enzimática inerente ao processo de imobilização, de forma a estabelecer a melhor condição e aumentar o custo benefício do bioprocessamento.

REFERÊNCIAS

- [1]. [1] AARTHY, M. et al. Enzymatic transesterification for production of biodiesel using yeast lipases: An overview. *Chemical Engineering Research & Design*, v. 92, n. 8, p. 1591-1601, 2014.
- [2]. [2] ABBASZADEH, A. et al. Current biodiesel production technologies: A comparative review. *Energy Conversion and Management*, v. 63, p. 138-148, 2012.
- [3]. [3] ADLERCREUTZ, P. Immobilisation and application of lipases in organic media. *Chemical Society Reviews*, v. 42, n. 15, p. 6406-6436, 2013.
- [4]. [4] ARANSIOLA, E. F. et al. A review of current technology for biodiesel production: State of the art. *Biomass & Bioenergy*, v. 61, p. 276-297, 2014.
- [5]. [5] AMINI, Z. et al. State of the art and prospective of lipase-catalyzed transesterification reaction for biodiesel production. *Energy Conversion and Management*, v. 141, p. 339-353, 2017.
- [6]. [6] BILAL, M. et al. State-of-the-art protein engineering approaches using biological macromolecules: A review from immobilization to implementation view point. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 108, p. 893-901, 2018.
- [7]. [7] BUCHSTEINER, A.; LERF, A.; PIEPER, J. Water dynamics in graphite oxide investigated with neutron scattering. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 110, n. 45, p. 22328-22338, 2006.
- [8]. [8] CHEN, D.; FENG, H. B.; LI, J. H. Graphene Oxide: Preparation, Functionalization, and Electrochemical Applications. *Chemical Reviews*, v. 112, n. 11, p. 6027-6053, 2012.
- [9]. [9] CHRISTOPHER, L. P.; KUMAR, H.; ZAMBARE, V. P. Enzymatic biodiesel: Challenges and opportunities. *Applied Energy*, v. 119, p. 497-520, 2014.
- [10]. [10] CHOI, J. M.; HAN, S. S.; KIM, H. S. Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. *Biotechnology Advances*, v. 33, n. 7, p. 1443-1454, 2015.
- [11]. [11] DAI, X. Y. et al. Preparation, characterization and catalytic behavior of pectinase covalently immobilized onto sodium alginate/graphene oxide composite beads. *Food Chemistry*, v. 253, p. 185-193, 2018.
- [12]. [12] DING, Y. et al. Well-oriented bioarchitecture for immobilization of chloroperoxidase on graphene oxide nanosheets by site-specific interactions and its catalytic performance. *Journal of Materials Science*, v. 52, n. 17, p. 10001-10012, 2017.

- [13]. [13] DREYER, D. R. et al. The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews*, v. 39, n. 1, p. 228-240, 2010.
- [14]. [14] IDRIS, A.; BUKHARI, A. Immobilized *Candida antarctica* lipase B: Hydration, stripping off and application in ring opening polyester synthesis. *Biotechnology Advances*, v. 30, n. 3, p. 550-563, 2012.
- [15]. [15] GEIM, A. K.; NOVOSELOV, K. S. The rise of graphene. *Nature Materials*, v. 6, n. 3, p. 183-191, 2007.
- [16]. [16] HUMMERS, W. S.; OFFEMAN, R. E. PREPARATION OF GRAPHITIC OXIDE. *Journal of the American Chemical Society*, v. 80, n. 6, p. 1339-1339, 1958.
- [17]. [17] JESIONOWSKI, T.; ZDARTA, J.; KRAJEWSKA, B. Enzyme immobilization by adsorption: a review. *Adsorption-Journal of the International Adsorption Society*, v. 20, n. 5-6, p. 801-821, 2014.
- [18]. [18] KARIMI, A. et al. Graphene based enzymatic bioelectrodes and biofuel cells. *Nanoscale*, v. 7, n. 16, p. 6909-6923, 2015.
- [19]. [19] LI, D.; KANER, R. B. Materials science - Graphene-based materials. *Science*, v. 320, n. 5880, p. 1170-1171, 2008.
- [20]. [20] LIANG, Y. Y. et al. Dispersion of Graphene Sheets in Organic Solvent Supported by Ionic Interactions. *Advanced Materials*, v. 21, n. 17, p. 1679, 2009.
- [21]. [21] MATEO, C. et al. Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 40, n. 6, p. 1451-1463, 2007.
- [22]. [22] PAREDES, J. I. et al. Graphene oxide dispersions in organic solvents. *Langmuir*, v. 24, n. 19, p. 10560-10564, 2008.
- [23]. [23] PEI, S.; CHENG, H.-M. The reduction of graphene oxide. *Carbon*, v. 50, n. 9, p. 3210-3228, 2012.
- [24]. [24] POURZOLFAGHAR, H. et al. A review of the enzymatic hydroesterification process for biodiesel production. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, v. 61, p. 245-257, 2016.
- [25]. [25] SCHMIDELL, W. et al. *Biotecnologia Industrial*. v. 2. São Paulo: Blucher, 2001.
- [26]. [26] SHELDON, R. A.; VAN PELT, S. Enzyme immobilisation in biocatalysis: why, what and how. *Chemical Society Reviews*, v. 42, n. 15, p. 6223-6235, 2013.
- [27]. [27] SHEN, J. F. et al. Covalent attaching protein to graphene oxide via diimide-activated amidation. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, v. 81, n. 2, p. 434-438, 2010.
- [28]. [28] SAKATA, M. et al. Immobilization of Trypsin on Graphene Oxide Nanosheets for Increased Proteolytic Stability. *Chemistry Letters*, v. 41, n. 12, p. 1625-1627, 2012.
- [29]. [29] SOLDANO, C.; MAHMOOD, A.; DUJARDIN, E. Production, properties and potential of graphene. *Carbon*, v. 48, n. 8, p. 2127-2150, 2010.
- [30]. [30] STANKOVICH, S. et al. Graphene-based composite materials. *Nature*, v. 442, n. 7100, p. 282-286, Jul 2006.
- [31]. [31] SU, R. J. et al. Studies on the properties of graphene oxide-alkaline protease bio-composites. *Bioresource Technology*, v. 115, p. 136-140, 2012.
- [32]. [32] SUN, Y. Q.; WU, Q. O.; SHI, G. Q. Graphene based new energy materials. *Energy & Environmental Science*, v. 4, n. 4, p. 1113-1132, 2011.
- [33]. [33] TANASKOVIC, S. J. et al. Immobilization of *Candida antarctica* lipase B on kaolin and its application in synthesis of lipophilic antioxidants. *Applied Clay Science*, v. 135, p. 103-111, 2017.
- [34]. [34] VOROBIEV, A. et al. Graphene oxide hydration and solvation: an in situ neutron reflectivity study. *Nanoscale*, v. 6, n. 20, p. 12151-12156, 2014.
- [35]. [35] WISSLER, M. Graphite and carbon powders for electrochemical applications. *Journal of Power Sources*, v. 156, n. 2, p. 142-150, 2006.
- [36]. [36] YE, P. et al. Effect of support surface chemistry on lipase adsorption and activity. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic*, v. 94, p. 69-76, 2013.
- [37]. [37] ZHANG, F. et al. Horseradish Peroxidase Immobilized on Graphene Oxide: Physical Properties and Applications in Phenolic Compound Removal. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 114, n. 18, p. 8469-8473, 2010.
- [38]. [38] ZHANG, J. L. et al. Graphene Oxide as a Matrix for Enzyme Immobilization. *Langmuir*, v. 26, n. 9, p. 6083-6085, 2010.
- [39]. [39] ZHANG, Y. et al. Assembly of Graphene Oxide-Enzyme Conjugates through Hydrophobic Interaction. *Small*, v. 8, n. 1, p. 154-159, 2012.

- [40]. [40] ZHONG, Y. L. et al. Scalable production of graphene via wet chemistry: progress and challenges. *Materials Today*, v. 18, n. 2, p. 73-78, 2015.
- [41]. [41] ZHOU, L. Y. et al. Graphene Oxide as a Matrix for the Immobilization of Glucose Oxidase. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 168, n. 6, p. 1635-1642, 2012.
- [42]. [42] ZHUANG, W. et al. Efficient nanobiocatalytic systems of nuclease P-1 immobilized on PEG-NH₂ modified graphene oxide: effects of interface property heterogeneity. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, v. 145, p. 785-794, 2016.

Capítulo 3

Alocação ótima da biomassa de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração e bioeletricidade: Formação da carteira eficiente de produção

Daniel Fernando Garcia

Isabela Garcia Parras

Edilaine Martins Soler

Resumo: Devido aos avanços tecnológicos a biomassa da cana-de-açúcar pode ser utilizada como matéria-prima para a produção do etanol de segunda geração e da bioeletricidade. Devido a essas duas novas tecnologias desenvolvidas tem-se uma nova decisão a ser tomada pelas indústrias sucroenergéticas: a biomassa da cana-de-açúcar deve ser utilizada na geração da bioeletricidade ou para produzir o etanol de segunda geração? Tanto a produção de eletricidade quanto a produção do etanol anidro apresentam uma grande volatilidade em relação aos preços. Neste trabalho um modelo de otimização bi-objetivo para alocação da biomassa de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração e bioeletricidade visando a maximização do retorno médio da indústria e a minimização do risco intrínseco às volatilidades nos preços é investigado. Propõe-se a utilização dos métodos ε -restrito e da soma ponderada para resolução deste modelo. Três cenários são testados e seus respectivos resultados são apresentados e analisados.

Palavras-chave: Bioeletricidade, Etanol de segunda geração, Sucroenergéticas, Biomassa, Cana-de-açúcar.

1. INTRODUÇÃO

Para que ocorra uma redução do efeito estufa e conseqüentemente do aquecimento global, faz-se necessário que ocorra uma redução no uso de combustíveis fósseis e um aumento na participação de fontes de energia renováveis no *mix* de energia dos países, tal questão já é amplamente discutida por autoridades globais. No Brasil a cana-de-açúcar é uma das principais fontes de energia renovável e, em 2013, ela compreendia um total de 19% de toda matriz energética do país (KHATIWADA ET AL., 2016).

Para a Agencia Nacional de Energia Elétrica – ANEEL (2020), biomassa é todo recurso renovável formado, principalmente, de substâncias de linhagem orgânica. A utilização da cana na produção de etanol e açúcar é realizada em unidades agroindustriais. Os processos de produção utilizam os mesmos equipamentos de extração, difusores ou moinhos, são apenas diferenciados em seus processos finais. A biomassa é um subproduto de tal produção e é utilizada para produzir vapor em caldeiras (CARPIO; SOUZA, 2017).

No Brasil de todo combustível utilizado nos motores Otto-ciclo, que é o ciclo termodinâmico mais comum em motores de automóveis, 40% deles provem do etanol de primeira geração derivado do suco de cana-de-açúcar. No entanto, a porção lignocelulósica da cana-de-açúcar, incluindo bagaço e o refugo, ainda é subutilizada, porção essa que pode ser utilizada na produção do etanol de segunda geração (KHATIWADA ET AL, 2016).

Uma grande vantagem no Brasil é que a produção da bioeletricidade através da biomassa da cana-de-açúcar é realizada durante a safra da cana, dessa forma coincidindo com a estação seca no país, ou seja, quando os reservatórios estão em níveis mais baixos e assim podem complementar a geração de energia hidrelétrica. Uma outra vantagem é que essa produção nas usinas sucroenergéticas que usualmente são localizadas próximas aos centros de consumo e assim reduzindo o uso de grandes linhas de transmissão (CARPIO; SOUZA, 2017).

Tanto a produção e consumo de bioeletricidade e do etanol de segunda geração estão ganhando grande destaque na matriz energética brasileira e dessa forma representam uma grande oportunidade para proprietários e acionistas do setor sucroenergético realizarem investimentos significativos. No entanto a tomada de decisão envolve quanto alocar da biomassa da cana-de-açúcar produzida, para a produção do etanol de segunda geração e quanto para a produção de bioeletricidade no caso da usina sucroenergética produzir ambos os produtos.

Markowitz (1952), apresenta um modelo matemático bi-objetivo de otimização que relaciona o retorno esperado dos ativos aos valores das variâncias e covariâncias de seus níveis de retorno. Carpio e Souza (2017) e Souza (2018) propõem a utilização do modelo matemático de Markowitz (1952) para auxiliar na tomada de decisão em relação a alocação da biomassa para produção de etanol de segunda geração e bioeletricidade. Esse modelo não considera apenas o retorno financeiro das indústrias sucroenergéticas, mas também considera os riscos que os empresários assumem nas tomadas de decisão.

O objetivo desse trabalho é a utilização dos métodos ε - restrito e da soma ponderada para resolução do modelo de Carpio e Souza (2017) e Souza (2018) através da plataforma *General Algebraic Modeling System* – GAMS utilizando o *Solver AlphaECP* (WESTERLUND; LUNDQVIST, 2001).

Este trabalho está organizado como segue: na seção 2 é apresentada a descrição do problema investigado. Na seção 3 apresenta-se o modelo matemático utilizado. Já na seção 4 é apresentada a metodologia de resolução. Na seção 5 são apresentados os testes numéricos realizado, assim como também as comparações e análises feitas nos resultados obtidos. Por fim na seção 6 é feita as considerações finais do trabalho.

2. DESCRIÇÃO DO PROBLEMA

As indústrias sucroenergéticas brasileiras possuem um alto nível de produção de açúcar e etanol de primeira geração. É na produção de eletricidade e vapor que nos últimos anos, onde, a maior parte dessa biomassa é utilizada e dessa forma garante a autossuficiências energética da usina e só depois que se exporta a eletricidade excedente para o mercado de consumo.

Com a consolidação do etanol de segunda geração, duas tecnologias que utilizaram a biomassa do bagaço da cana-de-açúcar como insumo estão disponíveis; por esse motivo estima-se que não exista bagaço suficiente para atender as duas demandas de produção. Por esse impasse que surge uma nova discussão com intuito de definir o futuro das usinas sucroenergéticas. O setor necessitará decidir qual será a opção de melhor uso para a biomassa de cana disponível: produzir etanol de segunda geração ou gerar a

bioeletricidade.

Existe uma volatilidade muito alta nos preços de comercialização de eletricidade no mercado livre e também no preço de comercialização do etanol anidro. Já no mercado regulado essa volatilidade é baixa no preço da eletricidade, mantendo dessa forma os preços e valores baixos. Essa característica aleatória no comportamento dos preços é um risco nas tomadas de decisão de investimento e por esse motivo acabam se tornando decisões complexas devido aos possíveis retornos financeiros envolvidos nas decisões de comercialização.

Por esse motivo se faz necessário a utilização de ferramentas que auxiliam na tomada dessa decisão para a melhor alocação da biomassa da cana-de-açúcar na produção da bioeletricidade e do etanol de segunda geração e dessa forma formar uma carteira de produção eficiente para a indústria sucroenergética, que considera tanto o retorno quanto o risco que as indústrias assumem.

3. MODELO MATEMÁTICO PARA ALOCAÇÃO ÓTIMA DA BIOMASSA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Nas usinas sucroenergéticas a biomassa proveniente do bagaço da cana-de-açúcar pode ser utilizada para produzir álcool de segunda geração ou produção de energia elétrica. Carpio e Souza (2017) e Souza (2018) propõem a utilização do modelo matemático de Markowitz (1952) que é um modelo para seleção ótima de portfólio para auxiliar tal decisão. Na literatura há outros modelos determinísticos propostos por inúmeros autores como, Costa, Potrich e Cruz (2016) e também Ba, Prins e Prodhon (2016) para resolução de problemas semelhantes, porém nestes modelos não são considerados o risco nas decisões.

O modelo proposto por Carpio e Souza (2017) e Souza (2018) visa decidir que porcentagem da biomassa produzida deve ser alocada para produção de etanol de segunda geração, produção de energia para ser comercializada no mercado regulamentado e produção de energia a ser comercializada no mercado livre. A seguir é descrito tal modelo.

Variáveis

x_1 : porcentagem da biomassa alocada para produção de energia para ser comercializada no mercado regulamentado;

x_2 : porcentagem da biomassa alocada para produção de etanol de segunda geração;

x_3 : porcentagem da biomassa alocada para produção de energia para ser comercializado no mercado livre.

Parâmetros

R : Retorno do portfólio por tonelada de bagaço de cana com 50% de umidade (R\$/ton de bagaço úmido);

R_i : Retorno esperado por tonelada de bagaço com 50% de umidade alocado no ativo i ($i = 1, 2, 3$);

σ_{ij} : Covariância dos retornos dos ativos i e j ($i = 1, 2, 3$ e $j = 1, 2, 3$).

O modelo bi-objetivo apresentado por Carpio e Souza (2017) e Souza (2018) é dado por (1)-(4).

$$\text{Max } E(R) = \sum_{i=1}^3 x_i R_i \quad (1)$$

$$\text{Min } V(R) = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 x_i x_j \sigma_{ij} \quad (2)$$

$$\sum_{i=1}^3 x_i = 1 \quad (3)$$

$$x_i \geq 0, i = 1, 2, 3 \quad (4)$$

A função objetivo (1) representa o retorno médio do portfólio em R\$/ton. Assim, em (1) deseja-se maximizar o retorno esperado. A função objetivo (2) representa a variância do retorno do portfólio. Assim, o objetivo dado em (2) é minimizar a volatilidade dos retornos dos ativos. Pela restrição (3) tem-se que o somatório das porcentagens alocadas devem somar 1. As restrições (4) referem-se ao domínio das variáveis.

Os retornos para cada portfólio de ativos serão tomados como proposto por Souza (2018) e Carpio e Souza (2017), e são definidos por tonelada de bagaço úmido (50% de umidade). A Equação (5) representa o retorno esperado da produção de bioeletricidade, no mercado livre (R_1) e no mercado regulamentado (R_2), por tonelada de bagaço úmido:

$$\begin{aligned} R_1 &= (P - CGE) \cdot RE \\ R_2 &= (P - CGE) \cdot RE \end{aligned} \quad (5)$$

em que:

P: Preço da eletricidade no mercado livre ou regulamentado (R\$/MWh);

CGE: Variável de custo de produção de bioeletricidade (R\$/MWh);

RE: Produtividade de bioeletricidade (MWh/ton de bagaço úmido).

Já a Equação (6) apresenta o retorno esperado da produção de etanol de segunda geração (R_3) por tonelada de bagaço:

$$R_3 = (PET - CP2G) \cdot R2G \quad (6)$$

em que:

PET: Preço do etanol anidro (R\$/L);

CP2G: Variável de custo de produção de etanol de segunda geração (R\$/L);

R2G: Produtividade de etanol de segunda geração (L/ton de bagaço úmido).

Neste trabalho abordagens de resolução são propostas e aplicadas ao modelo (1)-(4) para alocação ótima da biomassa do bagaço da cana-de-açúcar. Essas abordagens são descritas na próxima seção.

4. METODOLOGIA DE SOLUÇÃO

São consideradas neste trabalho três abordagens para o modelo de otimização multiobjetivo (1)-(4), o método do ε - restrito e o método da soma ponderada.

1ª Abordagem

O método do ε - restrito foi inicialmente proposto por Steuer (1986). Este método transforma o problema em um problema com um único objetivo mantendo apenas uma função objetivo e a outra função é inserida como uma restrição do modelo. Carpio e Souza (2017) propuseram utilizar o método do ε - restrito considerando como função objetivo a correspondente a variância, como apresentado em (7).

$$\begin{aligned}
 \text{Min}_{s.t.} \quad & V(R) = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 x_i x_j \sigma_{ij} \\
 & \sum_{i=1}^3 x_i R_i \geq \varepsilon \\
 & \sum_{i=1}^3 x_i = 1 \\
 & x_i \geq 0; \quad i = 1, 2, 3
 \end{aligned} \tag{7}$$

Serão avaliadas todas as possíveis combinações de ativos e os pontos de menor variação para vários níveis de retorno, ε , que vão determinar a combinação mais eficiente, conhecida como fronteira eficiente como define Markowitz (1952).

2ª Abordagem

Neste trabalho propõe-se utilizar o método ε - restrito mantendo a função objetivo que maximiza o retorno esperado e transformando a segunda função objetivo que minimiza a volatilidade do retorno dos ativos em uma restrição do modelo. O modelo modificado pode ser observado na Equação (8):

$$\begin{aligned}
 \text{Max}_{s.t.} \quad & E(R) = \sum_{i=1}^3 x_i R_i \\
 & \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 x_i x_j \sigma_{ij} \leq \varepsilon \\
 & \sum_{i=1}^3 x_i = 1 \\
 & x_i \geq 0; \quad i = 1, 2, 3
 \end{aligned} \tag{8}$$

Serão avaliadas todas as possíveis combinações de ativos e os pontos de menor variação para vários níveis de variância, ε , que vão determinar a combinação mais eficiente, conhecida como fronteira eficiente como define Markowitz (1952).

3ª Abordagem

Na terceira abordagem o modelo matemático (1)-(4), será resolvido através do método da soma ponderada. Este método consiste em transformar um modelo multiobjetivos em um modelo monobjetivo atribuindo pesos para cada objetivo, sendo, a soma dos pesos igual a 1 (JUNIOR, 2016). O modelo modificado pelo método da soma ponderada é dado em (9):

$$\begin{aligned}
 \text{Min}_{s.t.} \quad & \alpha \cdot \left(\sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 x_i x_j \sigma_{ij} \right) + (1 - \alpha) \cdot \left(- \sum_{i=1}^3 x_i R_i \right) \\
 & \sum_{i=1}^3 x_i = 1 \\
 & x_i \geq 0; \quad i = 1, 2, 3
 \end{aligned} \tag{9}$$

em que: $\alpha \in]0, 1[$

Os resultados obtidos nas três abordagens serão analisados e comparados na seção seguinte.

5. TESTES NUMÉRICOS EFETUADOS

Ambas as abordagens foram implementadas via *software* GAMS e resolvidas através do *Solver AlphaECP*. Foram analisados três cenários descritos em Souza (2018) os quais são descritos a seguir.

Cenário 1

Este cenário será a base para a formação dos outros dois cenários estudados nesse trabalho. A Equação (10) representa o retorno esperado do etanol de segunda geração para o cenário 1.

$$R_3 = (PET - 1,23) \cdot 158 \quad (10)$$

Cenário 2

Este cenário apresenta uma redução em 40% no custo de produção do etanol de segunda geração em relação ao cenário 1. A Equação (11) representa o retorno esperado do etanol de segunda geração para o cenário 2.

$$R_3 = (PET - 0,74) \cdot 158 \quad (11)$$

Cenário 3

Este cenário apresenta uma redução em 50% no custo de produção do etanol de segunda geração em relação ao cenário 1. A Equação (12) representa o retorno esperado do etanol de segunda geração para o cenário 3.

$$R_3 = (PET - 0,62) \cdot 158 \quad (12)$$

Apenas a Equação (6) do retorno esperados no etanol de segunda geração será modificada, a Equação (5) de energia elétrica não será alterada em nenhum dos cenários, logo, ela pode ser expressa conforme a Equação (13).

$$\begin{aligned} R_1 &= (P - 120,98) \cdot 0,59 \\ R_2 &= (P - 120,98) \cdot 0,59 \end{aligned} \quad (13)$$

Todos os valores de CGE, RE, CP2G e R2G, e os valores de P e PET são os utilizados por Souza (2018).

5.1. RESULTADOS OBTIDOS

As Tabelas 1 a 3 apresentam os resultados obtidos para todos os cenários para o método do ε - restrito, para a 1ª e 2ª abordagens. Em seguida os resultados obtidos em cada abordagem já citada e apresentados nas tabelas serão comparados e analisados.

Dados das tabelas

ε : Valores atribuídos ao parâmetro ε ;

V(R): Valor da função objetivo referente a variância do retorno do portfólio;

E(R): Valor da função objetivo referente ao retorno médio do portfólio em R\$/ton;

x_1 : Porcentagem da biomassa alocada na produção de bioeletricidade no mercado livre, em %;

x_2 : Porcentagem da biomassa alocada na produção de bioeletricidade no mercado regulamentado, em %;

x_3 : Porcentagem da biomassa alocada na produção de etanol de segunda geração, respectivamente, em %;

RT: Retornos totais obtidos a partir de cada porcentagem de biomassa distribuída em cada uma das três opções (R\$/ton).

Tabela 1 – Resultados obtidos pelo método ε - restrito para o cenário 1.

1ª Abordagem						2ª Abordagem				
ε	$V(R)$	x_1	x_2	x_3	RT	ε	$E(R)$	x_1	x_2	x_3
50,30	0,376	8,6	91	0,4	50,70	0,376	50,75	8,2	91,3	0,5
50,40	0,376	8,6	91	0,4	50,70	0,377	50,79	7,7	91,7	0,6
50,50	0,376	8,6	91	0,4	50,70	0,378	50,82	7,3	91,9	0,8
50,60	0,376	8,6	91	0,4	50,70	0,379	50,85	7,1	92,1	0,8
50,70	0,376	8,6	91	0,4	50,70	0,380	50,86	6,9	92,3	0,8
50,80	0,377	7,6	91,7	0,7	50,80	0,381	50,88	6,7	92,4	0,9
50,90	0,382	6,5	92,6	0,9	50,90	0,382	50,90	6,6	92,5	0,9

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 2 – Resultados obtidos pelo método ε - restrito para o cenário 2.

1ª Abordagem						2ª Abordagem				
ε	$V(R)$	x_1	x_2	x_3	RT	ε	$E(R)$	x_1	x_2	x_3
45	0,297	7,2	72,8	20	70,24	0,297	71,34	7,1	71,7	21,2
55	0,297	7,2	72,8	20	70,24	0,339	84,41	5,9	59,6	34,5
65	0,297	7,2	72,8	20	70,24	0,381	80,25	5,4	54,2	40,4
75	0,302	6,8	68,4	24,8	75,00	0,423	94,73	5	50	45
85	0,343	5,9	59	35,1	85,00	0,465	98,51	4,7	46,5	48,8
95	0,426	5	49,7	45,3	95,00	0,507	101,84	4,4	43,3	52,3
105	0,551	4,1	40,4	55,5	105,00	0,551	105,00	4,1	40,4	55,5

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 3 – Resultados obtidos pelo método ε - restrito para o cenário 3.

1ª Abordagem						2ª Abordagem				
ε	$V(R)$	x_1	x_2	x_3	RT	ε	$E(R)$	x_1	x_2	x_3
50	0,294	7	71,7	21,3	75,47	0,294	77,41	7,5	69,5	23
60	0,294	7	71,7	21,3	75,47	0,344	94,65	5,6	56,7	37,7
70	0,294	7	71,7	21,3	75,47	0,394	102,62	5,0	50,5	44,5
80	0,297	6,7	68,2	25,1	80,00	0,444	108,74	4,5	45,7	49,8
90	0,323	5,9	60,4	33,7	90,00	0,494	113,89	4,1	41,7	54,2
100	0,376	5,2	52,5	42,3	100,00	0,544	118,43	3,8	38,2	58
110	0,456	4,5	44,8	50,7	110,00	0,594	122,53	3,5	35	61,5
120	0,563	3,7	36,9	59,4	120,00	0,644	126,31	3,2	32	64,8
130	0,697	2,9	29,1	68	130,00	0,697	130,02	2,9	29,1	68

Fonte: Elaboração própria.

Podemos observar que em todos os cenários da 1ª abordagem (modelo (7)) que conforme ocorre um aumento nas variâncias $V(R)$, concomitantemente ocorre um aumento no valor dos retornos totais RT , lembrando que a variância corresponde ao risco que os empresários do ramo sucroenergético assumem na tomada de decisão. Já na 2ª abordagem (modelo (8)) para os mesmos cenários, podemos observar que para os mesmos valores de variância obtivemos um retorno total $E(R)$, maiores em alguns casos e iguais em outros, quando comparados com o valor RT anterior.

Na 1ª abordagem o cenário 1 com uma $V(R)$ de 0,376 obtivemos um RT de R\$50,70 e com uma $V(R)$ de 0,382 temos um RT de R\$ 50,90, já na 2ª abordagem podemos observar que para os mesmos valores de variância obtemos um RT de R\$ 50,75 e R\$ 50,90, respectivamente.

No cenário 2 para as $V(R)$ de 0,297 e 0,551 obtemos um RT de R\$ 70,24 e R\$ 105,00 na 1ª abordagem,

porém na 2ª abordagem temos RT de R\$ 71,34 e R\$ 105,00 para os mesmos valores de V(R).

No cenário 3 temos os seguintes valores RT obtidos para a 1ª abordagem, R\$ 75,47 e R\$ 130,00 para as seguintes V(R), 0,294 e 0,697 respectivamente. Na 2ª abordagem para as mesmas V(R) obtemos RT iguais a R\$ 77,41 e R\$ 130,02.

Esse aumento ocorre, pois, conforme aumenta o risco, ou seja, o valor da variância, a porcentagem na distribuição da biomassa na produção do etanol de segunda geração (x_3), aumenta e dessa forma aumentando o retorno esperado. Esse fato ocorre, pois o custo de produção do etanol de segunda geração é menor se comparado com o custo de produção da bioeletricidade, sendo considerados nesse artigo R\$ 1,23 no cenário 1, R\$ 0,74 no cenário 2 e R\$ 0,62 no cenário 3 para o custo de produção do etanol de segunda geração e R\$ 120,98 para os três cenários em relação ao custo de produção da bioeletricidade.

A tabela 4 apresenta os resultados obtidos para o método da Soma Ponderada (3ª abordagem). Os resultados serão analisados e comparados com os obtidos nas abordagens anteriores.

Tabela 4 - Resultados obtidos pelo método da soma ponderada para todos os cenários.

α	1- α	Cenário 1						Cenário 2				Cenário 3				
		V(R)	E(R)	E(R)	V(R)	x_1	x_2	x_3	E(R)	V(R)	x_1	x_2	x_3	E(R)	V(R)	x_1
0,1	0,9	51,78	0,6	0	96	3,9	148,6	1,6	0	0	100	167,5	1,440	0	0	100
0,2	0,8	51,29	0,4	2,3	96	2	148,6	1,6	0	0	100	167,5	1,440	0	0	100
0,3	0,7	51,05	0,4	4,9	94	1,4	148,6	1,6	0	0	100	167,5	1,440	0	0	100
0,4	0,6	50,92	0,4	6,2	93	1	148,6	1,6	0	0	100	167,5	1,440	0	0	100
0,5	0,5	50,85	0,4	7	92	0,8	142,2	1,4	0,7	5,8	93,5	167,5	1,440	0	0	100
0,6	0,4	50,80	0,4	7,6	92	0,7	118,2	0,8	2,9	28,1	69,2	142,6	0,9	2	19,3	78,7
0,7	0,3	50,77	0,4	7,9	92	0,6	101,1	0,5	4,4	44,1	51,5	118,6	0,5	3,8	38,0	58,2
0,8	0,2	50,74	0,4	8,2	91	0,5	88,24	0,4	5,6	56	38,4	100,6	0,4	5,1	52,1	42,6
0,9	0,1	50,72	0,4	8,4	91	0,5	78,24	0,3	6,5	65,3	28,2	86,65	0,3	6,2	63,0	30,8

Fonte: Elaboração própria

Podemos observar na tabela que quando o peso α atribuído V(R) é próximo de 0, notamos que o modelo prioriza o valor do retorno total, ou seja, o modelo ao ser resolvido não considera os riscos envolvidos, assim alocando a maior porcentagem de biomassa para os processos produtivos com melhor retorno. Na Tabela 4 isso fica evidente observando os resultados obtidos nos cenários 2 e 3, quando os pesos atribuídos a V(R) eram baixos, podemos notar que toda biomassa foi alocada na produção de etanol de segunda geração, pois como o mesmo possui o menor custo de produção entre as três opções vai apresentar o melhor retorno, porém nesses casos observamos que o valor da V(R) encontradas nesses casos com o melhor retorno são altas.

Por esse motivo notamos valores altos para as variâncias nos casos onde exatamente os pesos atribuídos a V(R) são baixos. As variâncias passam a diminuir no momento em que os pesos atribuídos a V(R) se aproximam de 1, ou seja, o risco nesse caso passa a ser mais relevante que o retorno.

Para melhor entender vamos analisar o que ocorre no cenário 1 através da utilização das duas abordagens utilizando o método do ϵ - restrito e soma ponderada para os menores e os maiores valores de variância encontrados.

Cenário 1 pelo método ϵ - restrito da 1ª abordagem, tanto na 2ª abordagem nota-se menor variância de 0,376 com retornos de R\$ 50,70 e R\$ 50,75, respectivamente, maior variância de 0,382 com retorno de R\$ 50,90 nos dois casos. Já no cenário 1 pelo método da soma ponderada: menor variância de 0,376 com retorno de R\$ 50,72, maior variância de 0,578 com retorno de R\$ 51,78

Podemos observar que pelo método da soma ponderada o menor valor de variância encontrado foi o mesmo apresentado pelo método ϵ - restrito, porém apresentando um retorno intermediário aos dois retornos encontrado no ϵ - restrito. Já a maior variância encontrada na soma ponderada é muito

superior ao encontrado no método ε - restrito apresentando apenas um aumento no retorno de R\$ 0,88 comparado ao encontrado no método ε - restrito, nesse caso podemos dizer que o risco aumenta muito para um retorno não tão representativo.

O mesmo pode ser observado nos demais cenários, ou seja, nas análises onde ocorrem um risco menor, ou seja, um menor valor de variância, pois o peso adotado para $V(R)$ é maior em relação ao adotado para $E(R)$, ocorrem variações baixas se comparados ambos os métodos, porém quando ocorre o contrário os valores das variâncias oscilam muito para valores altos, aumentando assim os riscos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o passar dos anos é notória a expansão que o setor sucroenergético vem sofrendo em relação a geração de produtos e coprodutos, e mais atualmente pesquisas estão sendo feitas a respeito da produção de etanol de segunda geração oriundo da biomassa do bagaço de cana-de-açúcar. A cogeração de energia dentro o setor não é uma novidade, graças a sua complementaridade com os períodos de secas, onde os reservatórios de água se encontram em níveis mais baixos. No caso do Brasil além de representar uma autonomia energética dentro das próprias usinas ela também gera uma renda adicional na utilização dos mesmos insumos.

O modelo de Carpio e Souza (2017) e Souza (2018) apresentado neste artigo não deve ser considerado como uma ferramenta financeira de análise de investimentos, deve ser vista como uma ferramenta eficaz na alocação de ativos sempre considerando um nível de risco dos retornos. Através disso foi possível concluir que conforme os custos de produção do etanol de segunda geração decaí, sua participação na carteira de produtos com o uso de biomassa de cana vai aumentando através de uma maior alocação deste insumo nas atividades da usina, ou seja, requerendo retornos maiores a cada instante em que a volatilidade da variação percentual dos retornos da carteira cresce.

Podemos considerar então que o modelo de Carpio e Souza (2017) e Souza (2018) é uma ferramenta de dimensionamento das atividades no setor sucroenergéticos, pois ele incorpora as expectativas de mercado às variáveis de decisão junto das volatilidades dos retornos apresentados pelos produtos em questão, com benefícios gerados para a alocação da biomassa.

Também fica evidente o quão importante se faz a utilização de *softwares* na implementação de modelos matemáticos de otimização, principalmente na escolha de qual utilizar e depois da escolha feita qual método de resolução será utilizado para gerar os resultados, fica evidente que quanto maior o tratamento dos dados e mais refinados forem ao serem implementados, o resultado alcançado é sempre mais preciso e próximo do esperado.

Nos resultados apresentados podemos concluir que através da utilização do método da soma ponderada, obtivemos retornos melhores em valores baixos de variância se comparados ao método ε - restrito, mesmo quando o valor mais baixo da variância encontra na soma ponderada fosse ligeiramente maior que o encontrado no outro método, tínhamos um retorno maior significativo, o que precisa ficar claro é que nem sempre baixos riscos indicam melhores retornos ou vice e versa, cabe nesse momento com os resultados obtidos aos empresários e acionistas das usinas sucroenergéticas a tomada de decisão na escolha dentro de cada cenário proposto.

Para trabalhos futuros propõe-se modificações no modelo de Carpio e Souza (2017) e Souza (2018) considerando restrições relativas ao processo produtivo de bioeletricidade e etanol de segunda geração.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Programa de Demanda Social (CAPES – DS) pela bolsa de mestrado (Processo número: 88887.489834/2020-00) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processos número: 134096/2018-5 e 313495/2017-3 (Bolsista CNPq)).

REFERÊNCIAS

- [1]. ANEEL – Agencia Nacional de Energia Elétrica. Biomassa. Disponível em: <[http://www2.aneel.gov.br/aplicacoes/atlas/pdf/05-Biomassa\(2\).pdf](http://www2.aneel.gov.br/aplicacoes/atlas/pdf/05-Biomassa(2).pdf)>. Acesso em: 10 maio 2020.
- [2]. BA, Birome Holo; PRINS, Christian; PRODHON, Caroline. Models for optimization and performance evaluation of biomass supply chains: an operations research perspective. *Renewable Energy*, v. 87, p. 977-989, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.07.045>.
- [3]. CARPIO, Lucio Guido Tapia; DE SOUZA, Fábio Simone. Optimal allocation of sugarcane bagasse for producing biCarpioelectricity and second generation ethanol in Brazil: scenarios of cost reductions. *Renewable Energy*, v. 111, p. 771-780, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.05.015>.
- [4]. COSTA, Caliane Bastos Borba; POTRICH, Erich; CRUZ, Antônio José Gonçalves. Multiobjective optimization of a sugarcane biorefinery involving process and environmental aspects. *Renewable Energy*, v. 96, p. 1142-1152, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.10.043>.
- [5]. JUNIOR, Guido Pantuza. Um modelo de programação matemática multiobjetivo para o problema de sequenciamento e alocação de trabalhadores. *Gestão & Produção*, v. 23, p. 132-145, 2016. <https://doi.org/10.1590/0104-530X1432-14>.
- [6]. KHATIWADA, Dilip et al. Optimizing ethanol and bioelectricity production in sugarcane biorefineries in Brazil. *Renewable Energy*, v. 85, p. 371-386, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.06.009>.
- [7]. MARKOWITZ, H. M. Portfolio selection. *The Journal of The American Finance Association*. 1952. <https://doi.org/10.1111/j.1540-6261.1952.tb01525.x>.
- [8]. SOUZA, Fábio Simone de. Alocação do material lignocelulósico no setor sucroenergético: formação da carteira eficiente de produção. 2018. Tese de Doutorado. Brasil. <http://www.ppe.ufrj.br/images/publica%C3%A7%C3%B5es/doutorado/fssouza.pdf>.
- [9]. STEUER, Ralph E. Multiple criteria optimization. Theory, computation and applications. John Wiley: New York 1986. <https://doi.org/10.1002/oca.4660100109>.
- [10]. WESTERLUND, Tapio; LUNDQVIST, Kurt. Alpha-ECP, version 5.01: An interactive MINLP-solver based on the extended cutting plane method. Turku, Finland: Åbo Akademi, 2001. <http://users.abo.fi/twesterl/A-ECPManual.pdf>.

Capítulo 4

Produção de biogás a partir de manipueira adicionada de complexo enzimático bruto e lodo de estação de tratamento de esgoto

Marina Rebeca Silva Monteiro

Micheline Ferreira de Lima

Adalberto Freire do Nascimento Junior

Sérgio Peres

Maria de Los Angeles Perez Fernandez Palha

Resumo: Diante da atual necessidade de fontes alternativas de energia associadas à prática de ações de melhoria ambiental, a biomassa residual ganhou espaço e importância no setor energético, em razão da sua grande disponibilidade e o melhor custo-benefício, contribuindo desta forma com o desenvolvimento sustentável. Nessa perspectiva, este trabalho teve como objetivo avaliar o processo de digestão anaeróbia utilizando a manipueira, um resíduo tóxico e poluente obtido a partir do processamento da mandioca, e do lodo de uma estação de tratamento de esgoto (ETE); bem como, determinar as melhores condições de produção de biogás e sua composição química, notadamente os teores de metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂). Para isso, foram produzidos seis meios de digestão anaeróbia em frascos de penicilina de 100 mL, em triplicata, diferenciados pela concentração substrato/inóculo (em base mássica) e quanto ao tipo de inóculo utilizado (lodo primário ou lodo secundário). Dos reatores implantados, verificou-se que aqueles compostos por 80% de manipueira e 20% de lodo primário (LP), razão 4:1, apresentaram maior produção de biogás rico em metano no menor período de tempo, atingindo 81,41% (mol/mol) de CH₄ com 48 dias de fermentação. Desta forma, o biogás produzido por manipueira, tanto em fecularias de grande porte quanto em casas de farinha, pode ser utilizado como fonte de energia renovável, reduzindo os custos de produção e dando um destino ambientalmente correto a este resíduo.

Palavras-chave: biodigestão anaeróbia; manipueira; lodo de ETE; biogás

1. INTRODUÇÃO

Diante da atual necessidade mundial de investimentos para inserção de fontes renováveis na matriz energética e da busca por soluções que minimizem os aspectos ambientais originados pelo uso desenfreado dos combustíveis fósseis e pelos elevados montantes de resíduos gerados através do crescente processo de urbanização, o aproveitamento de biomassa residual para geração de energia surge como uma alternativa de grande potencial.

A biomassa que é todo material orgânico não-fossilizado e biodegradável proveniente de plantas, animais e micro-organismos (UNFCC, 2005), é passível de ser utilizada como matéria-prima em diversos tipos de tratamento para geração de energia (combustão- queima direta; pirólise; liquefação; fermentação; biodigestão e gaseificação), seja ela térmica ou elétrica (MARTIN *et al.*, 2010). Dados do Balanço Energético Nacional de 2020, elaborado pela EPE, indicam que o uso de biomassa para geração de energia elétrica no Brasil em 2019 apresentou uma participação de 8% na geração total de energia elétrica por fonte no país (EPE, 2020).

Neste sentido, o Brasil se encontra em condição vantajosa, pois se trata de um país de clima tropical e com vasta riqueza, parte dela, refletida no setor agropecuário nacional (BLEY Jr. *et al.*, 2009; PERES e PALHA, 2016).

Segundo Azidon (2013), no ano de 2013, o setor proporcionou, no segundo trimestre, um crescimento de 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro em comparação ao primeiro trimestre, com uma colheita recorde de 186,1 milhões de toneladas de grãos e fibras na safra 2012/2013.

Dados do IBGE (2020) indicam que o setor agropecuário foi um dos únicos da atividade econômica nacional a crescerem nesse período pandêmico, apresentando crescimento de 1,7% em 2020 com relação ao mesmo período de 2019.

Como consequência desta intensa atividade, o setor agropecuário gera resíduos (subprodutos) em grandes proporções, com nenhum ou baixo valor de mercado. São dejetos do confinamento de animais, resíduos de limpeza dos grãos, produções que apodrecem nos armazéns e que ao fim, se tornam passivos ambientais significativos, dispostos na natureza de forma inadequada, contaminando os solos e as águas e emitindo para atmosfera, os gases gerados na sua decomposição (BLEY Jr., 2010; PERES e PALHA, 2016; SEBRAE, 2008).

Um dos cultivos de bastante representatividade no setor agropecuário nacional e regional e que gera, ao mesmo tempo, uma grande quantidade de resíduos, é a mandioca. Segundo dados do IBGE (2014), a mandioca foi classificada como o 4º produto mais cultivado no país em 2013, se mantendo em crescimento até 2016 (IBGE, 2020).

Segundo dados da Organização das Nações Unidas para alimentação – FAO, a produção mundial de mandioca no ano de 2018 foi 277,8 milhões de toneladas. Seu crescimento é contínuo e as maiores taxas foram observadas entre os anos de 2012 e 2015 com aumento de 6%, passando sua produção de 277 para 293 milhões de toneladas.

No Brasil, em 2020, levantamento do IBGE indicou uma produção de 18,7 milhões de toneladas para safra 2019/20. Embora o cultivo da mandioca esteja, em menor ou maior escala, presente em todas as regiões do país, a maior produção se concentra no Norte e Nordeste, sendo o nordeste responsável por 17,9 % da produção total nacional. Dessa produção, cerca de 60% é direcionada a fabricação de farinha, considerado o principal derivado da mandioca, sendo o restante utilizado para alimentação humana, animal e para o processamento do amido (LAMAISON, 2009).

Durante o processamento da mandioca (raiz), seja nas casas de farinha ou nas feculares, uma grande quantidade de resíduos é gerada. Dentre eles (folhas, hastes, cascas e efluentes líquidos), o resíduo líquido, manipueira, é o mais prejudicial ao meio ambiente, pois possui elevada carga orgânica (DBO e DQO) e de nutrientes, além de apresentar em sua composição alta concentração de ácido cianídrico (HCN), resultante da hidrólise dos glicosídeos cianogênicos presentes na mandioca (PINHO, 2007; SILVA *et al.*, 2013a ; MONTEIRO, 2015).

A manipueira é um resíduo gerado de forma abundante em todas as regiões de cultivo e industrialização da mandioca. Em regiões como o Norte e o Nordeste, onde o produto faz parte da subsistência da população, centenas de casas de farinha e feculares trabalham, a depender do porte, processando toneladas de mandioca por dia para o abastecimento local.

Inoue (2008) e Santos (2009), estimaram que no processamento de 1 tonelada de mandioca são gerados em média 300 L de manipueira na casa de farinha e 600 L na feculária, o que significa dizer que o resíduo gerado na feculária equivale a poluição causada por 200-300 habitantes/dia e na casa de farinha a poluição causada por 150-200 habitantes/dia.

Tal resíduo tem sido relatado como responsável por graves problemas de contaminação ambiental (eutrofização, contaminação dos solos, presença de maus odores, aparecimento de vetores e intoxicação em pessoas, além da morte dos peixes e outros animais) e, igualmente, a todas as atividades agropecuárias que produzem uma considerável quantidade de subprodutos, necessitam de tratamento adequado para manejo ou descarte do mesmo (SILVA *et al.*, 2013b).

Desta maneira, atualmente, a manipueira vem sendo relatada como um subproduto passível de ser aproveitado em outras atividades, não só pela agressão ambiental que provoca, mas também pelo fato de que o despejo indevido deste resíduo constitui uma perda de rendimento para o produtor, caso se considere as quantidades e as potencialidades da composição das águas residuárias geradas nesta atividade.

Dentre a gama de possibilidades para aproveitamento deste resíduo (produção de biomassa lipídica, produção de ácido cítrico, utilização como fertilizante natural, defensivo agrícola, produção de vinagre) (SILVA, 2008), a biodigestão anaeróbia surge como uma promissora tecnologia de tratamento, contribuindo na transformação do subproduto, agregando valor a produção e viabilizando ambientalmente a atividade (SILVA *et al.*, 2013a).

Nesse contexto, a pesquisa constituiu-se em um trabalho no campo experimental, no qual foram avaliadas as características físico-químicas do resíduo (manipueira) e do inóculo (lodo de ETE) utilizados, seguidos de metodologia para implantação dos sistemas de biodigestão anaeróbia, bem como expressão dos resultados de produção de biogás (em concentração de metano) obtidos para as diversas variações de fermentações estudadas, estabelecendo dentre elas a mais indicada para o desenvolvimento do processo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia Industrial da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e no Laboratório de Combustíveis e Energia da Universidade de Pernambuco (POLICOM/ UPE), ambos situados na Capital do Estado, Recife.

Utilizou-se como substrato para o desenvolvimento da pesquisa a manipueira proveniente de casa de farinha situada na zona rural do Município de Sapé- Paraíba, localizado a aproximadamente 55 km da Capital, João Pessoa. E como inóculo, lodo proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE – Peixinhos), situada no Município de Olinda, Zona Norte da Região Metropolitana do Recife (RMR), Pernambuco. Na citada ETE, o processo de tratamento é do tipo secundário com utilização de filtração biológica, e dois tipos de lodo são obtidos: o lodo primário (LP) e o secundário (LS). O primeiro é o lodo resultante da remoção de sólidos em suspensão do esgoto afluente à ETE, enquanto o segundo é aquele resultante do processo de tratamento biológico, ambos anaeróbios.

É importante salientar que, chegada ao laboratório, a manipueira ficou exposta (em recipiente aberto) ao sol e ar durante um período de quatro dias, garantindo a evaporação do ácido cianídrico nela contido ($P_{\text{HCN}} = 25,6 \text{ }^\circ\text{C}$).

Em seguida, as matérias primas foram armazenadas em recipientes hermeticamente fechados e acondicionadas sob-refrigeração (4 - 5 °C) durante toda fase experimental.

A pesquisa desenvolvida foi dividida nas seguintes etapas: obtenção e caracterização das matérias primas; implantação dos sistemas de digestão anaeróbia a partir de manipueira e lodo de esgoto (primário ou secundário); análise do biogás produzido no processo quanto a sua composição química (concentração de metano) e avaliação dos resultados.

2.1 ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO

Na etapa de caracterização da matéria prima, foram determinados para manipueira: potencial hidrogeniônico (pH), sólidos totais (ST), fixos (SF) e voláteis (SV), demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), todos segundo American Public Health Association (APHA),

American Water Works Association (AWWA) e Water Environment Federation (WEF) (2005); teor de umidade (W) segundo ABNT NBR 7190 (1997); análise elementar (C, H, N, S, e O) segundo ASTM D3176-74 (1983); contagem de micro-organismos heterotróficos mesofílicos (bactérias, fungos e leveduras), método indicado por Brasil (2003); e determinação de açúcares redutores livres (AR) e açúcares redutores totais (ART) através do método 3,5-Dinitrosalicílico (DNSA), descrito por Miller (1959). Para os lodos de ETE foram determinados: pH, ST, SF, SV, DQO, DBO, Teor de umidade (W) e análise elementar (C, H, N, S, O), todos conforme metodologias acima citadas.

Durante toda a fase de ensaios laboratoriais, tanto as amostras de manueira quanto as de lodo de ETE foram devidamente homogeneizadas, garantido dessa forma a melhor mistura dos sólidos sedimentáveis.

Os ensaios laboratoriais referentes à caracterização das matérias primas foram realizados em triplicata para o cálculo da média aritmética amostral.

2.2 IMPLANTAÇÃO DOS SISTEMAS DE BIODIGESTÃO

Nesta etapa foram implantados seis sistemas de biodigestão anaeróbia compostos por manueira adicionada de enzimas e lodo de ETE, variando quanto à concentração substrato/inóculo (% m/m) e quanto ao tipo de inóculo utilizado no processo (LP ou LS), conforme Tabela 1.

Tabela 1- Composição dos sistemas de digestão anaeróbia produzidos

Código Biodigestor	Tipo de Lodo	Manueira (% em massa)	Lodo (% em massa)	Relação C/N
ME80LP20	Primário	80	20	14,8/1
ME70LP30	Primário	70	30	13,9/1
ME60LP40	Primário	60	40	13,0/1
ME80LS20	Secundário	80	20	15,5/1
ME70LS30	Secundário	70	30	14,9/1
ME60LS40	Secundário	60	40	14,3/1

Obs.: ME (manueira adicionada de enzimas), LP (lodo primário), LS (lodo secundário)

Estes sistemas foram conduzidos em triplicata e submetidos à temperatura ambiente (± 30 °C). Essa temperatura foi verificada diariamente com auxílio do equipamento Data Logger (temperatura/umidade/pressão barométrica), modelo TR – 73U, marca TANDD (T & D CORPORATION). A relação C/N foi calculada a partir da média ponderada da composição de manueira e lodo de esgoto utilizados nos biodigestores, cuja caracterização físico-química encontra-se na Tabela 2.

Durante o processo de preparação, os meios fermentativos tiveram seu pH inicial corrigidos a um pH praticamente neutro (6,6 – 7,4) com solução de NaOH a 3 mol.L⁻¹, conforme faixa de idealidade sugerida na literatura (CHERNICHARO, 2007). O ajuste do pH próximo à faixa da neutralidade favorece o desenvolvimento das bactérias produtoras de metano, uma vez que estas são sensíveis a pH ácido.

Os ensaios foram desenvolvidos em frascos de penicilina de 100 mL, dos quais foram utilizados 60% do seu volume (60 mL). Cada fermentador foi devidamente vedado com cola de silicone e posteriormente lacrado com tampa de borracha e lacre metálico. A estes foram ainda acopladas seringas de 10 mL com o objetivo de indicar a produção de biogás de cada reator. Os sistemas foram envolvidos em papel alumínio, evitando assim exposição à luz, conforme Figura 1.

Figura 1: Sistemas de biodigestão anaeróbia em frascos de penicilina



O complexo enzimático utilizado no desenvolvimento desse trabalho foi cedido pela empresa Bioenzima Indústria e Comércio Ltda, situada na cidade de Caruaru, Agreste Pernambucano. Ela foi adicionada à manipueira 48 horas antes do processo do preparo das fermentações, em uma proporção de 2% em relação a massa da manipueira utilizada.

2.3 SISTEMA DE ANÁLISE DO BIOGÁS

A composição do biogás produzido foi analisada por cromatografia gasosa em equipamento da Thermo Scientific, modelo TRACE GC ULTRA. A injeção das amostras se deram por válvula pneumática de 6 vias, em equipamento com detector de condutividade térmica (TCD), com coluna capilar com fase estacionária mol sieve 5A de 60 m de comprimento por 0,53 de diâmetro e com espessura do filme de 0,1 μm .

As amostras foram analisadas semanalmente e coletadas diretamente da parte interna de cada reator, de modo a representar de forma mais real possível à composição do biogás naquele intervalo de tempo.

Para interpretação dos resultados, o cromatógrafo a gás foi calibrado com padrões em quantidades precisas e as repostas foram determinadas em termos de área sobre pico, de forma que a resposta pudesse ser estabelecida para cada um dos componentes do gás. A calibração mencionada considerou apenas os principais gases encontrados no biogás (metano e dióxido de carbono).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO SUBSTRATO E INÓCULO

Na Tabela 2 estão expressos os resultados médios obtidos para caracterização do substrato e inóculo utilizados nesse trabalho. É válido salientar que, tanto a manipueira quanto o lodo, são resíduos cujas características físico-químicas estão diretamente relacionadas às características da raiz e do tipo de processamento utilizado, no caso da manipueira, e dos tipos de efluente de entrada e dos processos de tratamento adotados nas ETE's, para o caso dos lodos.

Tabela 2: Caracterização físico-química da manipueira e lodo de ETE utilizados

Características	Manipueira	Lodo primário	Lodo Secundário
pH	3,9	7,6	6,8
ST (g.L ⁻¹)	92,9	44,3	21,6
SF (g.L ⁻¹)	19,5	23,8	13,0
SV (g.L ⁻¹)	73,4	20,5	8,6
DBO (g de O ₂ .L ⁻¹)	29,2	7,6	3,2
DQO (g de O ₂ . L ⁻¹)	101,38	8,22	5,53
W (%)	92,28	98,88	98,85
C (%)	33,40	20,44	24,25
H (%)	7,12	3,68	4,67
O (%)	56,89	71,99	67,89
N (%)	2,14	2,70	2,37
S (%)	0,46	1,19	0,82
C/N	16,66	7,56	10,87
C/H	4,70	5,56	5,31
Bactérias (UFC. mL ⁻¹)	1,95.10 ⁸	-	-
Fungos (UFC. mL ⁻¹)	*	-	-
Leveduras (UFC. mL ⁻¹)	1,81.10 ⁸	-	-
AR (g. L ⁻¹)	4,71	-	-
ART (g. L ⁻¹)	8,1	-	-

UFC- Unidades formadoras de colônia; * Nas placas contendo meio BDA, não houve crescimento de fungos.

Como é possível observar na Tabela 2, a manipueira utilizada apresentou pH ácido (3,9), assemelhando-se aos resultados encontrados nos trabalhos de Cereda (2001), Correia e Del Bianchi (2008) e Andreani *et al.* (2015). E, embora o pH dos lodos utilizados para produção dos meios estivessem próximos da neutralidade (7,43 para o lodo primário e 6,45 para o lodo secundário), os meios necessitaram de correção do pH, já que estavam fora da faixa de pH recomendada para produção de metano (CHERNICHARO, 2007; CORREIA e DEL BIANCHI, 2008). Embora ocasionalmente haja a necessidade de ajustes de pH, estes não representam custos que impactem a operação de uma planta de biogás, devido ao baixo preço das bases utilizadas (CaO, NaOH, entre outros).

No tocante a série de sólidos, conforme pode ser observado na Tabela 2, do valor médio de ST (92,9 g.L⁻¹) obtido para manipueira, aproximadamente 79% são sólidos voláteis e 21% sólidos fixos, indicando predominância de matéria de origem biológica com potencial para ser digerida num processo de digestão anaeróbia. Já para o LP, do valor médio de ST (44,3 g.L⁻¹), aproximadamente 46,3% são SV e 53,7% são SF, enquanto para o secundário, do valor médio de ST obtido (21,6 g.L⁻¹), cerca de 39,8% são SV e 69,2% são SF.

Segundo Suzuki *et al.* (2012), na determinação da série de sólidos, os voláteis são um dos principais parâmetros a serem avaliados, pois indicam de forma aproximada o potencial de degradação da matéria prima. Ainda segundo a autora, na manipueira tem-se que aproximadamente 70% dos voláteis se constituem de compostos reconhecidamente biodegradáveis.

No que se refere à DQO e a DBO da manipueira, diversos trabalhos na literatura relatam que esse substrato apresenta muitas variações em sua composição, afetando diretamente na carga orgânica do material. Na Tabela 3, estão listados valores de DBO e DQO encontrados na literatura.

Tabela 3: Valores mínimos e máximos de DBO e DQO segundo literatura

Autor	DBO mínimo (g de O ₂ .L ⁻¹)	DBO máximo (g de O ₂ .L ⁻¹)	DQO mínimo (g de O ₂ .L ⁻¹)	DQO máximo (g de O ₂ .L ⁻¹)
BARANA (2000)	-	-	41,5	110,5
CORREIA e DEL BIANCHI (2008)	-	-	-	60,0
Pinho (2007)	-	-	-	74,75
LAMO e MENEZES (1979) <i>Apud</i> PINTO (2008)	1,4	34,3	6,28	51,2
ANDREANI (2015)	-	-	10,74	11,8

Obs.: Os autores não apresentaram valores de referência

Observando a Tabela 3, verificou-se que o resultado de DBO obtido para manipueira utilizada neste trabalho (29,2 g de O₂.L⁻¹) se encontrou dentro da faixa de variação apresentada por Pinto (2008), enquanto o resultado de DQO (101,38 g de O₂.L⁻¹) se assemelhou aquele apresentado por BARANA (2000) na caracterização de um dos lotes de manipueira oriunda de casa de farinha.

No que se referem à composição elementar, diversos autores ressaltam a importância do conhecimento de tais parâmetros, pois através deles se faz possível calcular importantes relações, como por exemplo, C/N, que no seu valor ideal, define o favorecimento do desenvolvimento equilibrado do processo anaeróbio.

Segundo FRN/GIZ (2013) e Souza (1984), essa relação é definida como ideal quando situada entre 10 e 30. Relações elevadas de C/N reduzem a atividade metabólica no meio, proporcionando a degradação incompleta do carbono, enquanto relações reduzidas favorecem a formação excessiva de amônia, podendo inibir o crescimento dos micro-organismos metanogênicos. Para os resíduos estudados neste trabalho, a manipueira (C/N = 15,66) e o LS (10,87) apresentaram resultados dentro da faixa recomendada. Embora, o LP possua uma relação C/N de 7,56, este não resulta em desvantagem para o processo de biodigestão, visto que a composição dos meios dentro dos biodigestores, apresentaram valores entre 13 e 14,8 por conta da média ponderada entre a relação C/N da manipueira e do LP, permitindo que os valores se encontrem situados na faixa sugerida, conforme pode ser observado na Tabela 1.

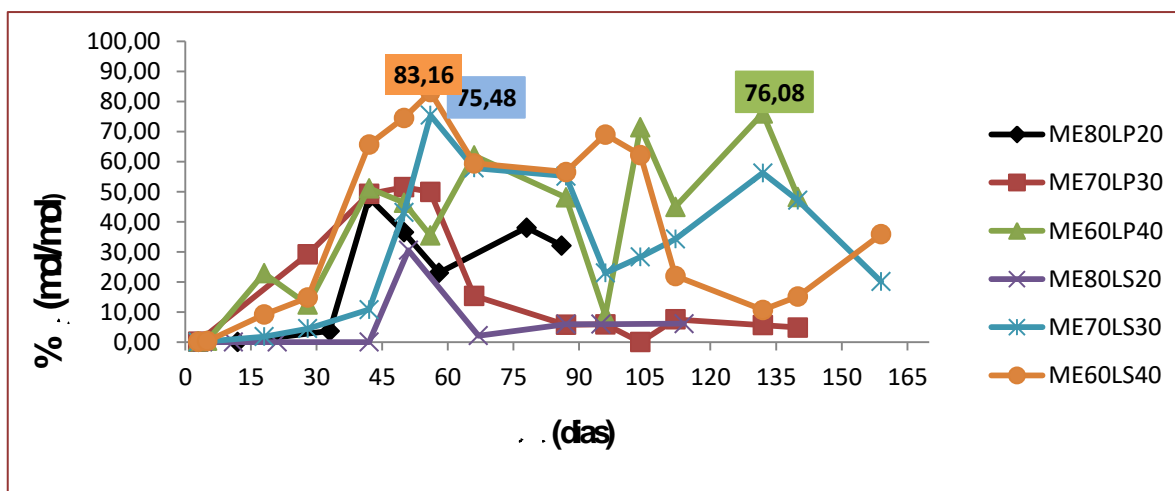
A manipueira investigada nesse trabalho apresentou ainda população microbiana formada principalmente por bactérias (1,95. 10⁸ UFC.mL⁻¹), em menor concentração leveduras (1,81. 10⁸ UFC.mL⁻¹) e ausência de fungos filamentosos. Segundo Lima (2010), a manipueira é um excelente resíduo para o crescimento e desenvolvimento de micro-organismos, pois é rica em carboidratos, proteínas, lipídios e resíduos minerais.

Quanto aos açúcares, a manipueira possui em sua composição açúcares de fácil fermentação (AR = 4,71 g.L⁻¹ e ART = 8,1 g.L⁻¹), que segundo Barana (2000), sob altas temperaturas se degradam rapidamente a ácidos orgânicos, formando a maior parte da matéria orgânica presente no resíduo.

3.2 SISTEMAS DE BIODIGESTÃO X PRODUÇÃO DE BIOGÁS

As condições escolhidas para o desenvolvimento do processo de digestão anaeróbia, mostradas na Tabela 1, foram definidas com dois objetivos principais: o primeiro consistiu em avaliar o desempenho das fermentações anaeróbias a partir da variação da concentração substrato/inóculo (% m/m) estudadas e, o segundo, avaliar o tipo de lodo mais apropriado ao desenvolvimento da digestão com manipueira adicionada de enzimas.

Para atender aos objetivos, os resultados obtidos foram expostos no gráfico da Figura 2, apresentando o perfil de comportamento dos sistemas em termos de concentração de metano (CH₄).

Figura 2: Perfil de formação de CH₄ dos sistemas compostos por manipueira e lodo de ETE

Ao analisar a Figura 2, verificou-se que em um determinado momento de desenvolvimento do processo de biodigestão, os sistemas estudados apresentaram produção de biogás com concentrações significativas de metano (próximo aos 50,0%), exceto o ME80LS20 que atingiu seu ápice aos 51 dias (30,56% CH₄). Tal comportamento demonstra o potencial das matérias primas para esse tipo de tratamento, já que para fins energéticos, o biogás adequado deve apresentar em sua composição acima de 50% de CH₄, segundo fabricante de grupos geradores a biogás (ERBR, 2016).

Ainda analisando a Figura, verificou-se que dentre os sistemas estudados, o ME60LS40 (composto por 60% de manipueira adicionada de enzimas e 40% de LS) foi mais eficiente quanto ao desenvolvimento do processo, dado que apresentou o maior rendimento em CH₄ em um curto período de fermentação (83,16% mol/mol em 56 dias). Para esse sistema, concentrações significativas de metano (acima dos 55,0%) foram observadas a partir do 42º dia de fermentação e se mantiveram em elevada produção até o 104º dia, a partir de onde, posteriormente, o sistema atingiu a fase de maturação do processo, indicada pela produção de biogás com baixo teor de CH₄ (abaixo dos 35,0%). Outros dois sistemas ME60LP40 e ME70LS30 produziram biogás com elevada concentração de metano (76,08% e 75,48%, respectivamente). Embora os dois sistemas tenham apresentado rendimento máximo de CH₄ em concentrações praticamente iguais, o ME70LS30 (composto por 70% de manipueira adicionada de enzimas e 30% de LS) foi considerado mais eficiente dado que seu ápice produtivo se deu aos 56 dias de fermentação, enquanto o do ME60LP40 (composto por 60% de manipueira com enzimas e 40% de LP) se deu apenas aos 132 dias. Verificou-se ainda que, dentre os sistemas que produziram biogás com maiores teores de CH₄, o lodo secundário se mostrou mais apropriado ao desenvolvimento do processo, exceto para o caso do sistema ME60LP40, onde o lodo primário apresentou também elevado rendimento.

O metano, principal componente do biogás no que tange a utilização como recurso energético renovável e biodegradável, pode ser queimado diretamente ou utilizado em outros processos termoquímicos, como gaseificação e pirólise para produção de gás de síntese, e, posterior processamento de combustíveis líquidos. O biogás pode ser purificado, reduzindo o teor de dióxido de carbono, desta forma, aumentando a concentração de CH₄, transformando-o em biometano, que pode ser utilizado para geração de energia elétrica, térmica ou mecânica. Qualquer que seja a sua utilização, haverá economia de recursos ambientais e financeiros (COLDEBELLA *et al*, 2006).

Quanto a Manipueira, esta deve ser utilizada para produção de biogás tanto nas grandes fecularias quanto nas pequenas casas de farinha, que constituem uma realidade em todo território Nacional, especialmente nos estados do Norte e Nordeste brasileiro. Nas casas de farinha é possível implantar pequenos biodigestores e utilizar o produto no lugar do gás liquefeito de petróleo, resultando em ganhos ambientais e financeiros ao pequeno agronegócio.

4. CONCLUSÕES

O processo de produção de biogás a partir da biodigestão anaeróbia de manipueira e lodo de ETE apresentou excelente adaptação, obtendo-se como produto biogás com elevadas concentrações de metano.

O que favorece a utilização deste para fins energéticos, principalmente na própria cadeia produtiva de farinha ou amido, onde o biogás pode substituir a lenha ou outros tipos de combustíveis, oriundos de fontes não renováveis, na geração da energia térmica necessária ao processo.

Embora todos os sistemas implantados tenham apresentado produção de biogás com teores significativos de metano, os resultados indicam que, dentre as concentrações (substrato/inóculo) estudadas, aquela composta por, 60% de manipueira adicionada de enzimas e 40% de lodo secundário (ME60LS40), apresentou-se mais eficiente ao desenvolvimento do processo, gerando biogás rico em metano num curto intervalo de tempo (56 dias). Seguida desta composição, a outra melhor composição foi composta por 70% de manipueira adicionada de enzimas e 30% de lodo secundário (ME70LS30).

Com base nos biodigestores com maior produção de CH₄, verificou-se que, o lodo secundário, foi o inóculo que se mostrou mais apropriado para o desenvolvimento do processo, dado que dentre as composições avaliadas, aquelas compostas por LS apresentaram maiores concentrações de CH₄, exceto para o caso do sistema ME60LP40, onde o lodo primário também se apresentou adequado, produzindo biogás com altos teores de metano.

Podemos através dos estudos realizados concluir que ao serem adicionadas ao substrato, as enzimas agem diretamente no fator tempo, fazendo com que os sistemas atinjam mais rapidamente seu ápice produtivo de biogás rico em metano.

REFERÊNCIAS

- [1]. AGÊNCIA DE RECURSOS RENOVÁVEIS/GIZ (FACHAGENTUR NACHWACHSENDE ROHSTOFFE E V.- FNR). *Guia prático do Biogás: geração e utilização*. Alemanha, 2013. Disponível em: <<http://mediathek.fnr.de/broschuren>>. Acesso em 08 Jan. 2014.
- [2]. ANUÁRIO ESTÁTISCO DE ENERGIA ELÉTRICA 2020. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br>>. Acesso em 05 de Ago. 2021.
- [3]. ANDREANI, C.L.; TORRES, D.G.B.; SCHULTZ, K.Q. de C.; GOMES, S.D. Hydrogen production from cassava processing wastewater in na anaerobic fixed bed reactor with bamboo as a support material. *Revista Engenharia Agrícola – Journal of the Brazilian Association of Agricultural Engineering*, Jaboticabal, v. 35, n. 3, p. 578-587, maio/jun, 2015.
- [4]. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA); WATER ENVIRONMENT FEDERATION (WEF). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 21^a ed., Washington, D.C, USA, 2005.
- [5]. AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Standards Methods for the Ultimate Analysis of Coal and Coke. In: *Annual Book of ASTM Standards*, section D3176-74, 1983.
- [6]. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). *NBR 7190: Projeto de estruturas de madeira. Anexo B - Determinação das propriedades das madeiras para projetos de estruturas*. Rio de Janeiro: ABNT, 1997. 107p.
- [7]. AZIDON, G. Setor Agropecuário alavanca Pib Brasileiro. [S.l.]: *Revista Dinheiro Rural*, 2013. Disponível em: <<http://revistadinheiro rural.terra.com.br/noticia/agroeconomia/setor-gropecuarioalavanca-pib-brasileiro>>. Acesso em 08/12/2013.
- [8]. BARANA, A. C. Avaliação do tratamento da manipueira em biodigestores fase acidogênica e metanogênica. Tese de Doutorado. Botucatu, SP: UNESP, 2000. 95p.
- [9]. BLEY Jr., C.; LIBÂNIO, J. C.; GALINKIN, M.; OLIVEIRA, M. M. *Agroenergia da biomassa residual: perspectivas energéticas, socioeconômicas e ambientais*, 2^a ed. Ver. Foz do Iguaçu/Brasília: Itaipu Binacional, FAO. Ed. Techno Politic, 2009. 140p.
- [10]. BLEY Jr., C. Bioenergia na agricultura familiar: Nova perspectiva sustentável para o setor rural. In: *14^o Congresso Internacional Ramiran - Research Network on Recycling of Agricultural and Industrial Residues in Agriculture*, Anais... Lisboa, Portugal, 2010.
- [11]. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa nº 62*, de 26 de agosto de 2003. Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, DF, 2003.
- [12]. CEREDA, M. P. Caracterização dos subprodutos da industrialização da mandioca. In: *Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca*. São Paulo: Fundação Cargil, 2001. v. 04, cap.1, p. 13-37.
- [13]. CHERNICHARO, C. A. L., Reatores anaeróbios. *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias*. 2. ed. v. 5. Belo Horizonte, MG: DESA/UFGM, 2007.

- [14]. CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento (Brasília, DF) Perspectivas para agropecuária/Companhia Nacional de Abastecimento. [S.l.]: Brasília: *Conab*, 2013. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em 08 Dez. 2013.
- [15]. CORREIA, G. T.; DEL BIANCHI, V. L. Tratamento biológico de água residuária da produção de farinha de mandioca utilizando reator anaeróbico compartimentado vertical (RACOV). *Seminário: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina*, v. 29, n. 2, p. 159-166, Jul./Dez. 2008.
- [16]. ERBR- Catálogo de grupos geradores a gás biogás - gás natural - syngas - glp, disponível no site http://www.erbr.com.br/produtos/folder_geral.pdf. Acesso em dez. 2016.
- [17]. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. [S.l.]: Fundação IBGE, 2014. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/ispa/ispa_201412_5.shtml> Acesso em 09 Dez. 2014.
- [18]. INOUE, K. R. A. Produção de biogás, caracterização e aproveitamento agrícola do biofertilizante obtido na digestão da manipueira. Dissertação de Mestrado. Viçosa, MG: UFV, 2008. 75p.
- [19]. LAMAISON, F. C. Aplicação da água residuária do processamento da mandioca como substrato para a produção de hidrogênio por processo fermentativo. Dissertação de Mestrado. Florianópolis, SC: UFSC, 2009. 83p.
- [20]. LIMA, R. A. Tratamento de efluentes líquidos de unidades produtoras de farinha de mandioca. Dissertação de Mestrado. Recife, PE: UNICAP, 2010. 75p.
- [21]. MARTIN, S.; SILVA, J.N.; OLIVEIRA FILHO, D.; DONZELES, S.M.L.; ZANATA, F.L.; SANTOS, R.R. Tensão térmica e taxa de reação em um reator para gaseificação de biomassa do tipo concorrente. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 57, n. 2, p. 168-174, abr. 2010.
- [22]. MILLER, G. L. *Analytical Chemistry*. V.31, p.426-428, 1959.
- [23]. MONTEIRO, M.R.S. produção de biogás a partir da biodigestão anaeróbia de manipueira e lodo de estação de tratamento de esgoto. Dissertação de Mestrado. Recife, PE: UFPE-CTG-DEQ, 2015, 104p.
- [24]. PERES, S. e PALHA, M.A.P., Inventário da Biomassa Produtora de Biogás de Pernambuco, Recife; Gráfica & Copiadora Nacional, ISBN 978-85-92897-06-2 (impresso) e ISBN 978-85-92897-07-09 (E-book). 125p.
- [25]. PINHO, M. M. C. de A. Características químicas de solos adubados com manipueira. Dissertação de Mestrado. Recife, PE: UFRPE, 2007. 86 p.
- [26]. PINTO, P. H. M. Tratamento de manipueira de fecularia em biodigestor anaeróbio para disposição em corpo receptor, rede pública ou uso em fertirrigação. Dissertação de Mestrado. Botucatu, SP: UNESP, 2008.
- [27]. SANTOS, A. Usos e impactos ambientais causados pela manipueira na microrregião sudoeste da Bahia - Brasil. [S.l.]: Barcelona, 2009. Disponível em: <<http://www.publicacions.ub.edu/pubDigital/desarrolloLocalRegional/articulos.asp>>. Acesso em: 09 Dez. 2013.
- [28]. SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS - SEBRAE. Uso de Resíduos e dejetos como fonte de energia renovável. [S.l.]: *Sebrae*, 2008. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/portalsebrae//bis/dejetos-agropecuários-podem-ser-aproveitados-para-produção-de-energia>>. Acesso em 09 Dez. 2013.
- [29]. SILVA, A. P. e. Aproveitamento sustentável da manipueira. In: *I Simpósio Nacional sobre a Manipueira*, 9, 2008, Vitória da Conquista, BA. Anais... Vitória da Conquista, BA: Simpósio Nacional sobre a Manipueira, 2008.
- [30]. SILVA, C.O.; CEZAR, V.R.S.; SANTOS, M.B>; SANTOS, A.S. Biodigestão anaeróbia com substrato formado pela combinação de esterco ovicaprino, manipueira e biofertilizante. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, Aquidabã, v. 4, n.1, p 88-103, 2013a.
- [31]. SILVA, C.O.; SILVA, A.O.; TIMOTEO, D.A.S.; SANTOS, M.B. Estudo do uso de conchas de sururu (*Mytella falcata*) no controle de pH da manipueira em reator anaeróbico UASB. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, Aquidabã, v. 4, n. 2, p. 111-118, 2013b.
- [32]. SOUZA, M. E. Fatores que influenciam a digestão anaeróbia. *Revista DAE*, (44), p. 88-94, 1984.
- [33]. SUZUKI, A. B. P.; FEIDEN, A.; FERNANDES, D. M.; MARTINS, G. I.; FARIA, R. A. P. Utilização de manipueira juntamente com sólidos da cama de aviário em biodigestores para geração de biogás. *Ambiência – Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais*. v. 08, n. 3, Set./Dez., 2012.
- [34]. UNITED NATIONS FRAMEWORK CONFERENCE ON CLIMATE CHANGE (UNFCCC), 2005. Reducing emissions from deforestation in developing countries: Approaches to stimulate action. Conference of the Parties, Montreal, 28 November to 9 147 December 2005. FCCC/CP/2005/L.2, UNFCCC, Bonn, Germany. Disponível em: <<http://unfccc.int/resource/docs/2005/cop11/eng/misc01.pdf>>. Acesso em: 18 Dez. 2014.

Capítulo 5

Aplicação de coco de jerivá como adsorvente na remoção de metais pesados em águas de abastecimento

Gabriel André Tochetto

Danieli Brandler

Joceane Pigatto

Francine Caldart

Deisy Maria Memlak

Gean Delise Leal Pasquali

Cleuzir da Luz

Adriana Dervanoski

Resumo: A presença de metais pesados na água representa um grave problema ambiental e de saúde pública, por isso a sua remoção é essencial para garantir a potabilidade. A adsorção é uma técnica avançada e eficaz, mas o carvão ativado ainda é caro, assim o desenvolvimento de novos adsorventes de baixo custo é estimulado. Neste estudo, um novo biosorvente de coco de Jerivá (*Syagrus romanzoffina*) foi produzido e avaliado quanto a eficiência de remoção de Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} em soluções aquosas. Com o objetivo de apresentar algumas aplicações do coco de Jerivá como adsorvente para remoção de metais pesados em água de abastecimento, apresentaremos algumas cinéticas e isotermas de adsorção em sistema batelada além de alguns ensaios em coluna de leito fixo (sistema contínuo).

Palavras-chave: Separação por adsorção. Íons metálicos. *Syagrus romanzoffina*. Reator batelada. Coluna de leito fixo.

1. INTRODUÇÃO

O acesso universal a água potável, para o abastecimento público, é uma garantia assumida pelos países signatários da Agenda 2030. Este documento estabelecido pela Organização das Nações Unidas (ONU) apresenta como forma de plano de ação, 17 Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), que devem ser alcançados até 2030 [1].

Entretanto, o avanço desenfreado das indústrias e das cidades, atrelados a políticas públicas de meio ambiente ineficazes, nas décadas passadas, contribuíram para a contaminação dos recursos hídricos [2]. Íons metálicos como cádmio, chumbo, cobre, cromo, mercúrio, níquel e zinco tem causado grande preocupação devido a elevada toxicidade, não biodegradabilidade e bioacumulação [2,3].

A presença de metais pesados em águas pode ocorrer através de processos naturais e antropogênicos [4], entretanto, dependendo da concentração e da forma química que se encontram, os metais podem ser benéficos ou nocivos ao ambiente e aos seres vivos [5].

Os metais normalmente são encontrados em corpos hídricos em concentrações muito baixas, da ordem de ppm a ppb, entretanto, não significa que essas substâncias não apresentam riscos aos seres vivos [2].

Recentemente o Ministério da Saúde publicou a Portaria GM/MS N° 888, de 4 de maio de 2021. A mesma se refere ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano. No Anexo 9, a referida portaria apresenta os padrões de potabilidade para substâncias químicas que representam riscos potenciais à saúde. Para o caso de metais, têm-se: cádmio ($0,003 \text{ mg L}^{-1}$), chumbo ($0,01 \text{ mg L}^{-1}$), cobre (2 mg L^{-1}), cromo ($0,05 \text{ mg L}^{-1}$), mercúrio ($0,001 \text{ mg L}^{-1}$), níquel ($0,07 \text{ mg L}^{-1}$) e zinco (5 mg L^{-1}) [6].

Percebe-se que os limites estabelecidos para a potabilidade da água são bem restritivos, por isso, técnicas convencionais de tratamento não conseguem chegar nesse nível de remoção. Assim, técnicas avançadas são necessárias. Um dos processos já consolidado e que apresenta grande eficiência, seletividade e baixo custo é a adsorção [7].

O carvão ativado comercial é muito eficaz, entretanto, apresenta um custo substancialmente elevado, por isso, a ideia de desenvolver novos materiais adsorventes de baixo custo e com eficácia similar é ainda de grande interesse [8]. Atrelado a uma conscientização de economia circular, pode-se fazer uso de biomassas e resíduos para a produção de adsorventes alternativos.

Em Pigatto et al. [9] é possível encontrar a caracterização completa do adsorvente e ensaios de adsorção utilizando os íons metálicos cádmio, cobre, níquel e zinco. Assim, este estudo tem como objetivo apresentar a aplicação do adsorvente de coco de Jerivá na remoção de íons metálicos em sistema batelada e de fluxo contínuo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. O ADSORVENTE

O material precursor utilizado é o coco de Jerivá (CJ), fruto de uma palmeira (*Syagrus romanzoffiana*) nativa da Mata Atlântica (Figura 1), mas também encontrada em diversos outros locais de clima tropical [10]. O coco de Jerivá, internamente, é similar ao coco-da-baía [11], que é um dos materiais vegetais mais estudado para a produção de carvão ativado [12,13].

Figura 1 – Palmeira *Syagrus romanzoffiana* e detalhe do coco de Jerivá na fase verde



O carvão comercial de origem vegetal é ativado fisicamente, por meio de altas temperaturas durante a pirólise [14]. Por tanto, o adsorvente desenvolvido neste estudo teve ativação térmica. A síntese consistiu em secar o coco de Jerivá em estufa e reduzir a granulometria através de um moinho de facas. Após, foi calcinado a 500 °C, em forno mufla, por 2 h e 30 min. O carvão obtido foi peneirado a 60 mesh e armazenado em dessecador. No estudo de Pigatto et al. [9] podem ser encontradas mais informações.

2.2. CARACTERIZAÇÃO DO CARVÃO ATIVADO

Através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram obtidas micrografias morfológicas do adsorvente. Aplicando os métodos matemáticos propostos por BET (Brunauer, Emmett e Teller) e BJH (Barrett, Joyner e Halenda) nos resultados da isoterma de adsorção e dessorção de N₂ realizada no adsorvente, obteve-se a área superficial e a distribuição de tamanho de poros. A partir da técnica de picnometria com gás hélio, foi encontrada a densidade do adsorvente. Ainda, foram realizados ensaios a fim de determinar a umidade, material volátil, teor de cinzas e carbono fixo.

2.3. ESTUDO CINÉTICO EM REATOR BATELADA

As cinéticas de adsorção foram conduzidas utilizando os metais puros e na mistura. Para o estudo monocomponente a concentração inicial foi de 25 mg L⁻¹ em cada ensaio, enquanto no sistema multicomponente utilizou-se 25 mg L⁻¹ de cada metal, totalizando 100 mg L⁻¹ de íons metálicos. O estudo foi conduzido em reator batelada constantemente agitado (120 rpm) e temperatura controlada (23°C). Para garantir a solubilidade dos metais durante os experimentos, o pH foi ajustado em 5,5. A massa de adsorvente foi de 0,2 g. No estudo de Pigatto [15] e Pigatto et al. [9] podem ser obtidas informações complementares.

2.4. ESTUDO TERMODINÂMICO EM REATOR BATELADA

As isotermas de adsorção foram realizadas variando a concentração dos íons metálicos de 20 a 100 mg L⁻¹. As soluções aquosas dos metais foram ajustadas a um pH próximo a 5,5. Foram utilizadas cerca de 0,2 g de adsorvente. O reator foi constantemente agitado a 120 rpm. O efeito da temperatura foi avaliado em diferentes condições (23, 33 e 43 °C). O tempo de contato foi estabelecido em 30 min. Após, filtração as concentrações remanescentes foram determinadas por um espectrofotômetro de absorção atômica. Este estudo encontra-se detalhado em Pigatto [15] e Pigatto et al. [9]. Os modelos de Langmuir (Eq. 1) e Freundlich (Eq. 2) foram utilizados para o ajuste aos dados experimentais.

$$q_e = \frac{q_m b_L C_e}{1 + b_L C_e} \quad (1)$$

$$q_e = k_F C_e^{1/n_F} \quad (2)$$

2.5. ESTUDO CINÉTICO EM COLUNA DE LEITO FIXO

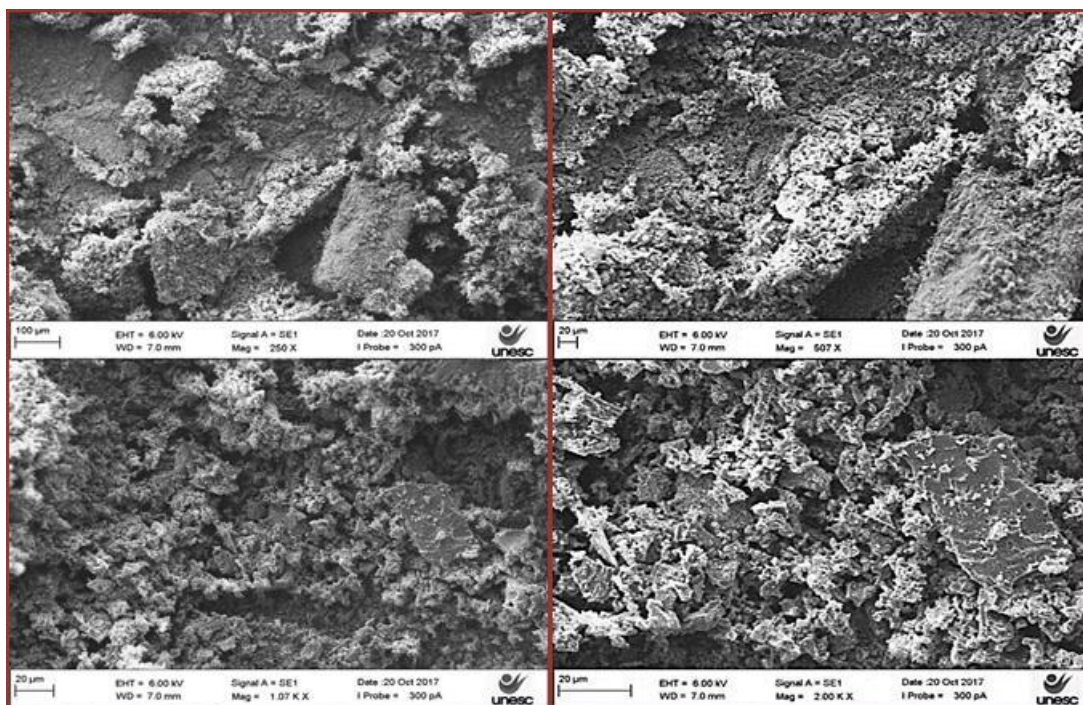
As cinéticas foram conduzidas em uma coluna de vidro com 15 cm de altura e 2 cm de diâmetro interno. A coluna foi empacotada com aproximadamente 8,1 g do adsorvente de coco de Jerivá. Foram preparadas soluções aquosas monocomponente com uma concentração inicial de aproximadamente 25 mg L⁻¹ e pH ajustado em 5,5 para os quatro íons metálicos. A solução aquosa, presente em um reservatório, foi bombeada por uma bomba peristáltica com vazão volumétrica de 10 mL min⁻¹ até a coluna de leito fixo. Amostras foram retiradas no topo da coluna, após o contato entre os íons metálicos e o adsorvente, em diferentes intervalos de tempo, armazenadas e posteriormente analisadas por espectrofotometria de absorção atômica. Maiores detalhes estão descritos em Caldart [16] e Memlak [17].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CARACTERIZAÇÃO DO CARVÃO ATIVADO

O carvão foi caracterizado quanto a morfologia (Figura 2), sendo possível observar uma superfície bastante heterogênea e irregular. Pode-se perceber nas ampliações que o adsorvente possui uma porosidade [9].

Figura 2 – Micrografias da superfície do adsorvente obtida pelo MEV nas ampliações de 250, 500, 1000 e 2000 vezes.



Na Tabela 1, podem ser encontrados os resultados dos ensaios de caracterização do adsorvente de coco de Jerivá [9]. O carvão apresentou baixa umidade e teor de cinza e elevado conteúdo de carbono fixo. Embora o valor da área superficial não seja tão elevado, já é suficiente para o uso como um adsorvente, Singh e Balomajumder [18] encontraram $81,8 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ para um carvão de casca de coco. O valor encontrado para a densidade real do adsorvente está de acordo com outros trabalhos na literatura que produziram adsorventes a partir de biomassas [19].

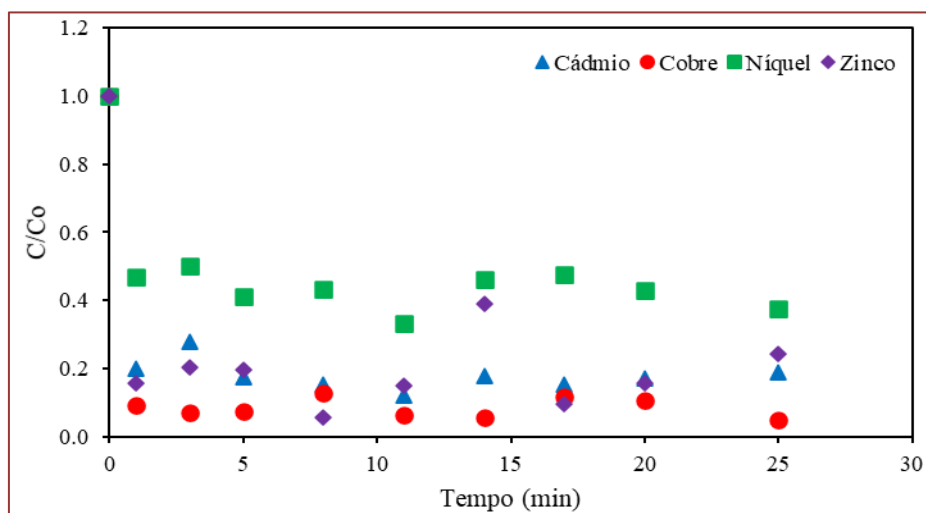
Tabela 1 – Principais resultados encontrados nos ensaios de caracterização do adsorvente

Teste	Resultado
Material volátil	26,47%
Umidade	1,17%
Teor de cinzas	13,53%
Carbono fixo	58,83%
Área superficial	$108 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$
Volume de poro	$0,048 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$
Diâmetro médio dos poros	34,5 Å
Tamanho médio distribuído de poros	20 e 50 Å
Densidade real	1.530 kg m^{-3}

3.2. ESTUDO CINÉTICO EM REATOR BATELADA

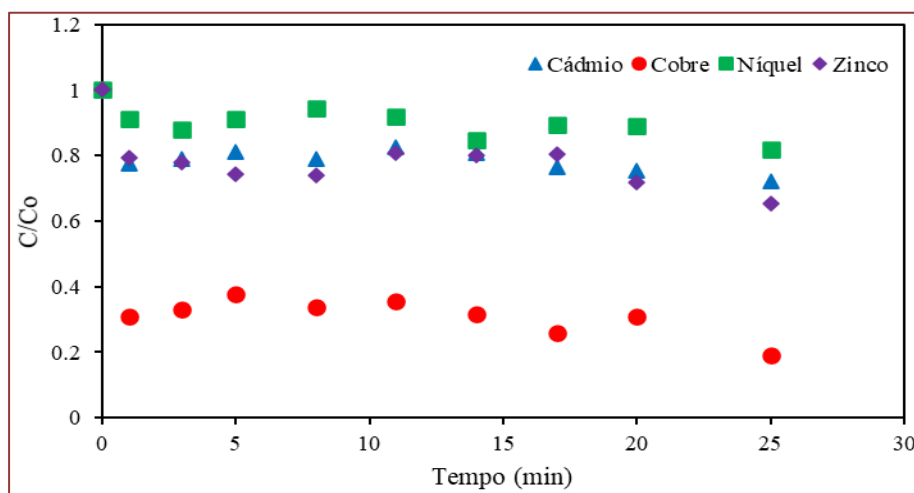
A cinética descreve a taxa de adsorção do soluto na interface sólido-líquido, sendo possível determinar o tempo necessário para que o sistema entre em equilíbrio, ou seja, o momento em que não haverá mais remoção significativa [20]. Os resultados cinéticos monocomponente estão apresentados na Figura 3. A velocidade de adsorção foi considerada rápida, em torno de 15 min para os quatro íons metálicos. Esse comportamento pode estar relacionado com: (i) a granulometria (60 mesh) proporciona maior adsorção na superfície e no macroporo; (ii) a forte agitação do reator (120 rpm) diminui a espessura da camada limite, diminuindo as resistências e promovendo uma rápida transferência de massa da fase fluida para a superfície do adsorvente [9].

Figura 3 – Cinética monocomponente dos íons metálicos em reator batelada



Na Figura 4 estão apresentados os resultados da adsorção dos íons metálicos na mistura. A cinética multicomponente permite avaliar, assim como a monocomponente, o tempo de equilíbrio, e ajuda ainda a esclarecer uma possível competição dos metais pelos sítios ativos do adsorvente.

Figura 4 – Cinética de adsorção multicomponente em reator batelada



Quando se compara a cinética mono (Figura 3) com a multicomponente (Figura 4), fica evidente que há sim competição entre os metais pelos sítios do adsorvente. O Cu^{2+} foi o metal que apresentou maior afinidade com o adsorvente, seguido pelo Zn^{2+} , Cd^{2+} e Ni^{2+} .

3.3. ESTUDO TERMODINÂMICO EM REATOR BATELADA

As isotermas de adsorção permitem obter informações importantes para compreender os mecanismos de processo e verificar a possível aplicação do processo em escalas maiores [20].

Tabela 2 – Parâmetros de ajuste dos modelos de isotermas de adsorção aos dados experimentais

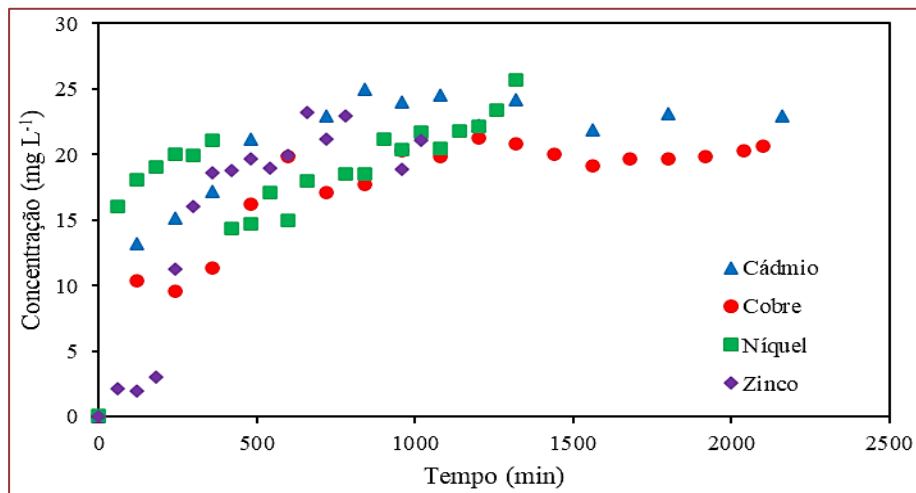
	T (°C)	Langmuir			Freundlich		
		q_m (mg g ⁻¹)	b_L (L g ⁻¹)	R ²	n_F	k_F	R ²
Cu ²⁺	23	16.01	0.85	0.89	12.12	11.32	0.87
	33	22.76	0.38	0.87	4.66	9.55	0.84
	43	25.08	0.30	0.90	0.22	10.27	0.85
Ni ²⁺	23	5.55	0.05	0.99	4.15	1.63	0.99
	33	29.07	0.07	0.87	2.12	3.15	0.61
	43	36.99	0.11	0.81	2.39	7.18	0.75
Cd ²⁺	23	16.38	0.34	0.98	4.52	6.69	0.96
	33	16.23	0.87	0.87	7.92	9.91	0.88
	43	16.50	0.90	0.90	14.65	13.12	0.91
Zn ²⁺	23	7.71	0.57	0.97	7.33	4.60	0.87
	33	8.01	0.74	0.74	11.40	7.90	0.74
	43	9.71	0.98	0.90	18.38	7.60	0.72

A partir da análise do coeficiente de correlação (R²) observa-se que o modelo de Langmuir consegue representar melhor os dados experimentais. Com relação a capacidade de adsorção predita pelo modelo (q_m), observa-se que há um incremento considerável com o aumento da temperatura para os íons Cu^{2+} , Ni^{2+} e Zn^{2+} , no caso do Cd^{2+} a temperatura não favorece a adsorção, indicando processo exotérmico. Os maiores valores são encontrados na temperatura de 43 °C, para o Ni^{2+} (36,99 mg g⁻¹), seguido do Cu^{2+} (25,08 mg g⁻¹), Cd^{2+} (16,50 mg g⁻¹) e Zn^{2+} (9,71 mg g⁻¹). Šoštarić et al. [21] encontraram resultados próximos a estes, utilizando damasco como adsorvente, para o Pb^{2+} obteve-se 22,19 mg g⁻¹, no caso do Zn^{2+} o valor foi 5,06 mg g⁻¹, enquanto para o Cu^{2+} encontrou-se um valor de 4,24 mg g⁻¹.

3.4. ESTUDO CINÉTICO EM COLUNA DE LEITO FIXO

Na Figura 5 são apresentadas as cinéticas de adsorção em sistema contínuo na forma de curvas de ruptura (*breakthrough curve*). Essa apresentação dos dados cinéticos é obtida quando uma solução, contendo determinado soluto, é colocado em contato com um leito de adsorvente de forma contínua.

Figura 5 – Curvas de ruptura obtidas para os quatro íons metálicos durante a adsorção em coluna de leito fixo.



Conforme Luz et al. [22] e Abdolali et al. [2] as curvas de ruptura são importantes resultados que permitem compreender como se dá a saturação do adsorvente. Em estágios iniciais ($t = 0$) os sítios ativos do adsorvente estão livres e por tanto, conseguem adsorver mais rapidamente os íons metálicos presentes na solução afluente à coluna. A água coletada após a adsorção encontra-se separada do soluto. Com o passar do tempo, a tendência é que os poros e a superfície do adsorvente sejam ocupados pelos íons metálicos, até que em determinado momento o sistema entra em equilíbrio e não ocorre mais a separação dos metais, nesse momento ocorre a saturação do adsorvente.

Verifica-se que o Zn^{2+} atingiu a saturação em cerca de 660 min, seguido Cd^{2+} (840 min), do Cu^{2+} em 1200 min e do Ni^{2+} que levou aproximadamente 1320 min para saturar o adsorvente.

Outra informação de extrema relevância para a análise de resultados de adsorção diz respeito a capacidade de sorção. Para sistema de fluxo contínuo encontrou-se que a maior capacidade foi do Zn^{2+} ($9,156 \text{ mg g}^{-1}$), seguido do Ni^{2+} ($8,957 \text{ mg g}^{-1}$), Cu^{2+} ($7,190 \text{ mg g}^{-1}$) e Cd^{2+} ($7,171 \text{ mg g}^{-1}$).

4. CONCLUSÃO

Ao final deste estudo percebe-se que o adsorvente desenvolvido a partir do coco de Jerivá, uma biomassa abundante, apresenta características estruturais e morfológicas condizentes com outros adsorventes já consolidados e estudados na literatura. Ainda, por meio de estudos cinéticos e termodinâmicos em reator batelada, foram obtidas informações importantes sobre os mecanismos controladores do processo. Testes foram realizados em uma coluna de adsorção de leito fixo. A capacidade de adsorção foi obtida, demonstrando potencial de aplicação do adsorvente na remoção de íons metálicos presentes em águas de abastecimento.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e a Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) pela disponibilização da infraestrutura para a realização dos experimentos. Ao CNPq, CAPES e FAPESC pelo suporte financeiro concedido.

REFERÊNCIAS

- [1]. UNITED NATIONS. Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development. Disponível em: <<https://sdgs.un.org/2030agenda>>. Acesso em: 29 jun. 2021.
- [2]. ABDOLALI, A. et al. Application of a breakthrough biosorbent for removing heavy metals from synthetic and real wastewaters in a lab-scale continuous fixed-bed column. *Bioresource Technology*, v. 229, p. 78-87, 2017. Doi: 10.1016/j.biortech.2017.01.016.
- [3]. SALAM, O. E. A.; REIAD, N. A.; ELSHAFEI, M. M. A study of the removal characteristics of heavy metals from wastewater by low-cost adsorbents. *Journal of Advance Research*, v. 2, p. 297-303, 2011. Doi: 10.1016/j.jare.2011.01.008.
- [4]. HU, G. et al. Heavy metals risk assessment on drinking water: An integrated probabilistic-fuzzy approach. *Journal of Environmental Management*, v. 250, p. 109514, 2019. Doi: 10.1016/j.jenvman.2019.109514.
- [5]. OGA, S.; CAMARGO, M. M. de A.; BATISTUZZO, J. A. de O. Fundamentos de toxicologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2014. ISBN: 978-8574541075.
- [6]. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS Nº 888. Diário Oficial da União. Brasília, 4 maio 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>. Acesso em: 02 jul. 2021.
- [7]. PARK, J. H. et al., Competitive adsorption of heavy metals onto sesame straw biochar in aqueous solutions. *Chemosphere*, v. 142, p. 77-83, 2016. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.05.093.
- [8]. HOKKANEN, S.; BHATNAGAR, A.; SILLANPAA, M. A review on modification methods to cellulose-based adsorbents to improve adsorption capacity. *Water Research*, v. 91, p. 156-173, 2016. Doi: 10.1016/j.watres.2016.01.008.
- [9]. PIGATTO, J. et al. Development and characterization of a new adsorbent based on Jerivá coconut (*Syagrus romanzoffiana*) applied for removing toxic metals from water. *Desalination and Water Treatment*, v. 201, p. 261-277, 2020. Doi: 10.5004/dwt.2020.25893.
- [10]. MOREIRA, M. A. C. et al. Characterization of *Syagrus romanzoffiana* oil aiming at biodiesel production. *Industrial Crops and Products*, v. 48, p. 57-60, 2013. Doi: 10.1016/j.indcrop.2013.04.006.
- [11]. COIMBRA, M. C.; JORGE, N. Proximate composition of guariroba (*Syagrus oleracea*), jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) and macaúba (*Acromia aculeata*) palm fruits. *Food Research International*, v. 44, p. 2139-2142, 2011. Doi: 10.1016/j.foodres.2011.03.032.
- [12]. SOUSA, D. A. et al. Development of a heavy metal sorption system through the P=S functionalization of coconut (*Cocos nucifera*) fibers. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 138-143, 2010. Doi: 10.1016/j.biortech.2008.08.051.
- [13]. GEORGE, A. M.; TEMBHURKAR, A. R. Analysis of equilibrium, kinetic, and thermodynamic parameters for biosorption of fluoride from water onto coconut (*Cocos nucifera* Linn.) root developed adsorbent. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, v. 27, p. 92-99, 2019. Doi: 10.1016/j.cjche.2018.03.004.
- [14]. CARBOMAFRA - INDUSTRIAS QUÍMICAS CARBOMAFRA S.A. Carvão Ativado. Disponível em: <http://www.carbomafra.com.br/carvao.htm>>. Acesso em: 29 jun. 2021.
- [15]. PIGATTO, J. Adsorção mono e multicomponente de íons metálicos presentes em água de abastecimento utilizando coco de Jerivá (*Syagrus romanzoffian*) como adsorvente. 2018. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Pinhalzinho. 2018.
- [16]. CALDART, F. Remoção de metais pesados Ni²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺ de efluente sintético utilizando coco de Jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) como adsorvente: reator batelada e coluna de leito fixo. 2018. Monografia (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária, Erechim, 2018.
- [17]. MEMLAK, D. M. Aplicação de coluna de leito fixo na adsorção de dessorção mono e multicomponente de metais tóxicos presentes em água utilizando adsorvente alternativo. 2019. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Pinhalzinho. 2019.
- [18]. SINGH, N. BALOMAJUMDER, C. Simultaneous removal of phenol and cyanide from aqueous solution by co-culture of strain immobilized onto coconut shell activated carbon. *Desalination and Water Treatment*, v. 57, p. 26136-26152, 2016. Doi: 10.1080/19443994.2016.1159988.
- [19]. PINTO, M. V. DE S.; DA SILVA, D. L.; SARAIVA, A. C. F. Obtenção e caracterização de carvão ativado de caroço de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) para a avaliação do processo de adsorção de cobre(II). *Acta Amazonica*, v. 43, p. 73-80, 2013. Doi: 10.1590/S0044-59672013000100009.

- [20]. KEBEDE, T. G. Study on adsorption of some common metal ions present in industrial effluents by *Moringa stenopetala* seed powder. *Journal of Environmental Chemical*, v. 6, p. 1378-1389, 2018. Doi: 10.1016/j.jece.2018.01.012.
- [21]. ŠOŠTARIĆ, T. D. Study of heavy metals biosorption on native and alkali-treated apricot shells and its application in wastewater treatment. *Journal of Molecular Liquids*, v. 259, p. 340-349, 2018. Doi: 10.1016/j.molliq.2018.03.055.
- [22]. LUZ, A. D. et al. Analysis of competition between multicomponent BTX compounds for the active site of adsorption in a fixed-bed column. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 52, p. 16911-16921, 2013. Doi: 10.1021/ie402452h.

Capítulo 6

Estudo da capacidade adsortiva da biomassa de palma forrageira (Opuntia tuna Mill) como adsorvente para remoção de contaminantes orgânicos em corpos d'água

Thalita Daiane Neves Martins

Lenilde Mérgia Ribeiro Lima

Jayane Karine Pereira de Araújo

Joanny Lays Bandeira Cruz da Silva

Fagner José da Costa Oliveira

Lígia Maria Ribeiro Lima

Resumo: A indústria de petróleo lida diariamente com problemas devido a vazamentos, derrames e acidentes durante o refino. A busca por novas tecnologias para o tratamento de efluentes contaminados tem crescido consideravelmente. Dentre os processos empregados para a descontaminação de efluentes, encontra-se a adsorção, que utiliza biomassas como adsorventes e tem se mostrado bastante eficiente. O presente trabalho avaliou a capacidade da palma forrageira (*Opuntia tuna Mill*), seca ao natural, como adsorvente de gasolina em corpos d'água, por meio de experimentos de cinética de adsorção e de equilíbrio. Os resultados indicaram que, na cinética, a adsorção foi rápida, com a maior quantidade de remoção do contaminante ocorrendo no tempo de 10 minutos. Com relação ao equilíbrio de adsorção, a capacidade máxima de adsorção foi de aproximadamente 5,5 g por grama de biomassa de palma. Os resultados confirmaram que, para os estudos de adsorção da gasolina, a palma surge como um promissor adsorvente.

Palavras-chave: adsorção; tratamento de efluentes; palma forrageira; gasolina

1. INTRODUÇÃO

O eminente crescimento demográfico, rápido e desordenado, ocasiona uma sobrecarga quanto ao uso dos recursos hídricos, de acordo com “Morelli (2005)”. Em meio às reservas naturais, a água se destaca por ser indispensável para a sobrevivência, como menciona “Negreiros *et al.* (2010)”.

A água pode ter sua qualidade afetada pelas mais diversas atividades do homem, sejam elas domésticas, comerciais ou industriais. De acordo com “Pereira (2016)”, cada uma dessas atividades gera poluentes característicos que têm uma determinada implicação na qualidade do corpo receptor.

O conceito de água poluída compreende não só as modificações das propriedades físicas, químicas e biológicas da água, mas também a adição de substâncias líquidas, sólidas ou gasosas capazes de tornar as águas impróprias para os diferentes usos a que se destinam, conforme mostra “A Poluição... (2016)”.

Segundo “Grassi (2001)”, existem duas estratégias adotadas no controle da poluição aquática: redução na fonte e tratamento dos resíduos de forma a remover os contaminantes ou ainda de convertê-los a uma forma menos nociva. O tratamento dos resíduos tem sido a melhor opção no caso de contaminantes de fontes pontuais.

Vazamentos, derrames e acidentes durante o refinamento, transporte e operações de armazenamento do petróleo e seus derivados são alguns problemas enfrentados pela indústria. Em casos de derramamento de combustíveis os principais contaminantes capazes de impactar o meio ambiente e são nocivos para o ser humano, são os hidrocarbonetos monoaromáticos, os denominados compostos BTEX, conforme “Forte *et al.* (2007)”.

Dentre os processos mais utilizados para a descontaminação de corpos aquáticos, a adsorção vem se destacando como um método eficiente e adaptável às mais diferentes aplicações. Segundo “Guelfi e Scheer (2007)”, o fenômeno de adsorção é caracterizado pela habilidade de sólidos porosos reterem, através de interações físicas ou químicas, as moléculas de um componente de uma mistura, separando assim os componentes dessa mistura.

De acordo com “Ribeiro *et al.* (2000)”, diversos materiais podem ser utilizados para o processo de adsorção de poluentes orgânicos, podendo ser orgânicos naturais, de origem animal ou vegetal, minerais e orgânicos sintéticos. Dentre os de origem vegetal, podem-se citar sabugo de milho, fibras de casca de árvores, palha, feno, fibras e algodão e celulose de plantas análogas ao algodão.

Abordando os tipos de materiais de origem vegetal, a palma forrageira (*Opuntia ficus*) encontrada no semiárido da região Nordeste, é importante para vários usos, sobretudo para a pecuária brasileira, como o uso como ração animal nos períodos de estiagem. Por sua grande versatilidade, segundo “Macêdo (2014)”, a palma adaptou-se bem às condições edafoclimáticas da região e passou a se utilizada na alimentação dos animais nas épocas de estiagem, apesar do fracasso na produção de corantes. Por apresentar essas características citadas, a palma forrageira é de interesse na busca por novos conhecimentos referentes às suas potencialidades e aplicabilidades nas mais diferentes áreas, para o desenvolvimento de novas tecnologias a partir de recursos encontrados em na região do cariri paraibano.

1.1. POLUIÇÃO HÍDRICA POR COMPOSTOS HIDROGENOCARBONADOS

Nos últimos anos, é notória a preocupação da sociedade quanto à prevenção do meio ambiente. No caso de derramamento de gasolina, uma das maiores preocupações é a contaminação de aquíferos que sejam usados como fontes de abastecimento de água para consumo humano. Existem diversas fontes de contaminação do ecossistema por hidrocarbonetos provenientes do petróleo, sendo de causas naturais ou devido a alguma atividade humana, conforme “Carvalho (2014)”.

Segundo “Côcco (2008)”, a gasolina é um produto obtido a partir do refino do petróleo. Sua composição varia conforme a matéria-prima, os cortes realizados na coluna de destilação e a mistura com naftas. É uma mistura complexa de hidrocarbonetos com número de carbonos variando de 4 a 12, sendo composta principalmente de alcanos, ciclanos, aromáticos, alcenos, sulfurados, nitrogenados e oxigenados. O composto mais abundante é o álcool etílico anidro, adicionado à gasolina em grandes quantidades (20–25% em volume), com a finalidade de reduzir emissões tóxicas e servir como agente antidetonante. De acordo com “Alves (2012)”, os monoaromáticos do grupo BTEX (benzeno tolueno, etilbenzeno e xileno), derivados do petróleo, fazem parte da constituição da gasolina brasileira, e são potencialmente tóxicos aos ecossistemas.

Devido à sua composição química, o derramamento de gasolina em corpos aquáticos torna-se um problema não só de poluição ambiental, mas de saúde pública também. Por isso, inúmeros processos têm sido estudados para a remoção de contaminantes hidrogenocarbonados em água. Dentre os mais utilizados, destaca-se a adsorção.

1.2. PROCESSO DE ADSORÇÃO

Dentre os vários tratamentos para a descontaminação de corpos hídricos o processo de adsorção vem ganhando espaço, despertando o interesse de pesquisadores, mostrando-se eficaz para a remoção de compostos orgânicos e metais pesados, utilizando materiais sintéticos, como as zeólitas, conforme “Santos *et al.*, (2007)”.

De acordo com “Lima (2010)”, pode-se definir adsorção como sendo a fixação de moléculas (adsorbato) de um fluido, líquido ou gás, na superfície de um sólido (adsorvente). A atração e fixação do adsorbato à superfície do adsorvente se dão através de forças físicas, adsorção física ou de interações químicas, adsorção química.

A adsorção é um processo de separação de grande aplicação na indústria química, petroquímica e bioquímica. A descoberta e comercialização de novos materiais adsorventes (zeólitas sintéticas) conduziram ao desenvolvimento de adsorção como processo de separação, segundo “Ruthven (1988)”.

Diversas matérias podem ser utilizadas para o processo de adsorção de poluentes orgânicos, podendo ser orgânicos naturais de origem animal ou vegetal, minerais e orgânicos sintéticos, conforme “Ribeiro *et al.*(2000)”.

No Nordeste do Brasil se tem dado prioridade a biomassas nativas para aplicação como adsorvente. Atualmente vêm sendo utilizadas as mais variadas espécies de biomassas vegetais nas pesquisas de descontaminação de águas por substâncias orgânicas. No caso do semiárido nordestino, há uma grande variedade de espécies de vegetação que estão sendo estudadas para aplicação como adsorventes, tais como cana-de-açúcar, conforme mostra “Souza *et al.* (2011)” e mandacaru, de acordo com “Lima *et al.*,(2014)”, além de outras que deverão ser pesquisadas.

1.2.1. MODELO DE LANGMUIR

Em 1918, Langmuir propôs uma teoria para explicar a adsorção sobre uma superfície uniforme, simples, infinita e não porosa, segundo “Porpino (2009)”. De acordo com “Sena (2015)”, este modelo baseia-se na hipótese de movimento da molécula adsorvida pela superfície do adsorvente. À medida que mais moléculas são adsorvidas, há uma distribuição uniforme formando uma monocamada que recobre toda a superfície.

Langmuir utiliza o conceito dinâmico do equilíbrio de adsorção que estabelece a igualdade nas velocidades de adsorção e dessorção. O modelo está baseado em três hipóteses: 1) a adsorção não pode ir além do recobrimento com uma monocamada; 2) todos os sítios de adsorção são equivalentes uns aos outros e a superfície deve ser homogênea; e 3) a capacidade de uma molécula ser adsorvida em um certo sítio é independente da ocupação dos sítios vizinhos, conforme “Coelho *et al.* (2014)”.

A fórmula é representada pela equação 01:

$$\frac{q}{q_s} = \frac{bC}{1+bC} \quad (01)$$

Em que, q/q_s é a taxa de adsorção; q_s é a máxima capacidade de adsorção; b é o parâmetro da equação de Langmuir e c é a concentração do adsorbato na fase líquida.

Pode ser considerado como o modelo mais eficaz para a representação de isotermas em que há uma interação forte entre a superfície do adsorvente e o soluto para um único componente. Esse modelo considera que há um número fixo de sítios no sólido; todos os sítios são igualmente energéticos, portanto possuem a mesma entalpia de adsorção; cada sítio retém somente uma molécula do adsorbato

(monocamada); as moléculas adsorvidas em sítios vizinhos não interagem entre si e no equilíbrio a taxa de adsorção é igual à taxa de dessorção, segundo “Lima (2010)”.

1.3. PALMA FORRAGEIRA

Originária do México, a palma forrageira, ilustrada na Figura 1, é uma cultura que vem sendo cultivada em todo o mundo. Apresenta um alto grau de diversidade genética, conforme “Agra (2014)”.

Figura 1. Cultivo de palma forrageira na cidade de Sumé-PB, no Câmpus da UFCG-CDSA.



Segundo “Nunes (2011)”, a grande diversidade de usos e aplicações da palma forrageira revela a versatilidade desta espécie que, mesmo cultivada no semiárido para alimentação animal, não tem sua potencialidade explorada plenamente.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A palma foi coletada no Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), na cidade de Sumé – PB. A metodologia seguiu o procedimento realizado por “Lima *et al.* (2014)”, que utilizou o mandacaru (*Cereus jamacarina*) na forma particulada para remoção da mistura gasolina/óleo diesel utilizando o processo de adsorção. Foram coletadas 05 raquetes da palma forrageira e, após sua coleta, foram cortadas e os pedaços colocados em bandejas (Figura 2a). A seguir, foram submetidas ao processo de secagem ao natural, na qual foram deixadas expostas ao ar livre. Este processo demorou cerca de 20 dias e, após este período, o material apresentou-se como mostrado na Figura 2b.

Figura 2. (a) Palma cortada antes da secagem e (b) Palma após a secagem.



Depois de seca, a palma forrageira foi triturada em um moinho de facas. Após a trituração, foi submetida à análise granulométrica utilizando peneiras do tipo Tyler referente a 10 *mesh* com diâmetro de orifício na faixa entre 1 a 2 mm.

2.1. OBTENÇÃO DAS CURVAS CINÉTICAS DE ADSORÇÃO

Para o estudo da cinética de adsorção foram utilizados 12 frascos erlenmeyer, colocados na mesa agitadora parada onde, inicialmente foram adicionados 40 mL de água, com auxílio de uma proveta de 50 mL, em cada erlenmeyer e 12 mL do adsorbato. Os frascos erlenmeyer permaneceram 5 minutos sob agitação na mesa agitadora, com velocidade de 130 rpm. Após 5 minutos, a cada erlenmeyer foi adicionada a biomassa na forma particulada, com o auxílio de um funil, com tempos crescentes de 5 a 60 minutos. Assim que o tempo de agitação de cada erlenmeyer chegou ao fim, os mesmos foram retirados da mesa agitadora, e a mistura água/gasolina/biomassa de cada erlenmeyer foi transferida para um béquer, separando a biomassa com auxílio de uma peneira, da fase líquida, para que fosse possível fazer a análise volumétrica do poluente adsorvido pela biomassa. A análise volumétrica foi feita com auxílio de uma proveta de 100 mL.

2.2. OBTENÇÃO DAS ISOTERMAS DE EQUILÍBRIO

Para a obtenção das isotermas de adsorção foi utilizada a mesa agitadora citada anteriormente, na qual foram colocados doze frascos erlenmeyer contendo 1,2 g da biomassa e água com gasolina, variando a concentração inicial de 5 a 60% de contaminante.

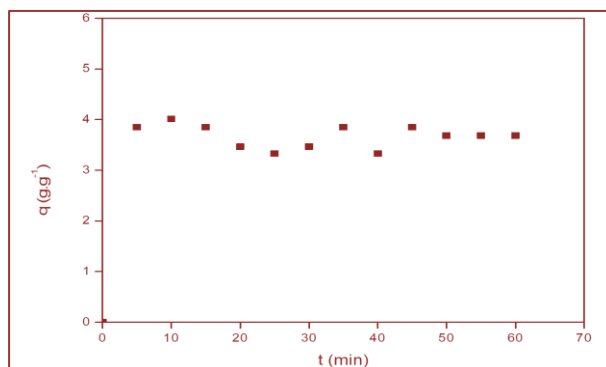
As medições dos poluentes e da água foram realizadas com auxílio de provetas. Com os frascos erlenmeyer colocados na mesa agitadora, adicionaram-se a cada um, os respectivos volumes de água e gasolina calculados para cada concentração, para um volume total da mistura de 52 mL. A mesa foi acionada e, antes de colocar a biomassa no primeiro erlenmeyer, deixou-se sob agitação por 5 minutos. Em seguida, com um intervalo de 5 min., adicionaram-se aos demais frascos erlenmeyer. Os frascos erlenmeyer ficaram durante 60 minutos sob agitação na mesa agitadora, com velocidade de 130 rpm. Assim que o tempo de agitação de cada erlenmeyer chegou ao fim, cada um foi retirado da mesa agitadora, e a mistura heterogênea gasolina/água/biomassa contida em cada erlenmeyer foi transferida para um béquer, separando a biomassa, com auxílio de uma peneira, da fase líquida para que fosse possível realizar a análise volumétrica do poluente adsorvido pela biomassa. A análise volumétrica foi feita com auxílio de uma proveta de 100 mL.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CINÉTICA DE ADSORÇÃO

A curva obtida referente à cinética de adsorção está mostrada na Figura 3, relacionando a quantidade adsorvida de contaminante por gramas de biomassa, ou seja, a quantidade de gasolina em gramas adsorvidos, por cada grama de biomassa do adsorvente em função do tempo.

Figura 3. Cinética da palma com casca para o sistema biomassa/gasolina.



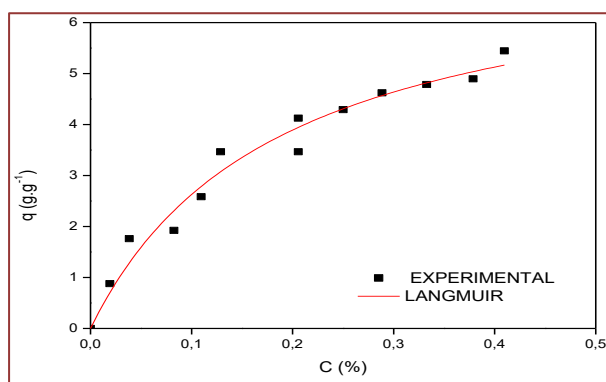
A partir da Figura 3, foi observado que a taxa de adsorção foi rápida, com os valores obtidos próximos. Os melhores resultados de adsorção da gasolina foram obtidos nos primeiros minutos do experimento, sendo a maior quantidade adsorvida durante o tempo de 10 minutos. Após esse tempo, foi observado um

decréscimo quanto à capacidade adsorptiva da palma forrageira até o tempo de 40 minutos para, em seguida, os valores permanecerem praticamente constantes. Segundo “Lima et al. (2014)”, a possível diminuição da eficiência adsorptiva da biomassa com casca ocorrida a tempos mais altos, pode ser devido à saturação da palma.

3.2. ISOTERMAS DE EQUILÍBRIO

Na Figura 4 estão apresentados os resultados obtidos para a obtenção da isoterma de equilíbrio, a partir da análise da água contaminada com gasolina, variando a concentração do contaminante de 5 a 60%, em contato com a palma forrageira.

Figura 4. Cinética da palma com casca para o sistema biomassa/gasolina.



Com relação ao equilíbrio na adsorção, a capacidade máxima de adsorção (q_s) da gasolina foi de aproximadamente 5,445g por grama de biomassa para a palma forrageira. Os resultados foram considerados significativos comparados com “Costa (2014)”, que obteve em seus experimentos 7,5g de gasolina adsorvidos, para o mandacaru proveniente do Rio Grande do Norte, e aproximadamente 6,0g por grama de biomassa, para o mandacaru proveniente da Paraíba. Pode-se observar que o modelo de Langmuir adequa-se bem aos pontos obtidos.

4. CONCLUSÃO

Por meio dos experimentos realizados, pode-se concluir que:

- A cinética de adsorção foi bastante rápida, iniciando-se em 10 minutos, do contato entre a mistura água/gasolina e a biomassa (adsorvente). As oscilações observadas, em relação à quantidade de gasolina que foi adsorvida, pode ter ocorrido devido à adsorção de água pela palma, ocasionando um deslocamento em relação ao adsorbato.
- A isoterma de adsorção revela-se bem ajustada ao modelo de Langmuir, mostrando ser favorável à adsorção.

REFERÊNCIAS

- [1]. A POLUIÇÃO DAS ÁGUAS, Disponível em: www.snirh.pt, Acesso em: Março de 2016.
- [2]. AGRA, T. A. A. Removedor de esmaltes a base de palma forrageira: Uma alternativa econômica, sustentável e economicamente correta para o Semiárido Brasileiro, Monografia, UEPB, 2014.
- [3]. ALVES, C. G. R. Degradação de compostos orgânicos voláteis usando catalisador de SBA- 15 contendo titânio. Dissertação (Mestrado), UFRN, 2012.
- [4]. CARVALHO, E. S. Reuso do mesocarpo de coco na remoção de contaminantes derivados de petróleo presentes em corpos d'água, utilizando sistema de adsorção em leito diferencial. Monografia, UEPB, 2014.
- [5]. CÔCCO, L. C. Previsão de propriedades físico-químicas e composição química da gasolina a partir de espectros no infravermelho. Tese (Doutorado), UFPR, 2008.
- [6]. COELHO, G. F.; JR. GONÇALVES, A. C.; SOUSA, R. F. B.; SCHWANTES, D.; MIOLA, A. J.; DOMIGUES, C. V. R. Uso de técnicas de adsorção utilizando resíduos agroindustriais na remoção de contaminantes em águas. *Jornal de Ciências Agrônômicas*, Umuarama, v.3, n. especial, p.291-317, 2014.
- [7]. COSTA, K. J. B. Utilização do Mandacaru (*Cereus jamacaru*) como biomassa adsorvente de gasolina presente em corpos d'água. Monografia, UEPB, 2014.
- [8]. FORTE, J. E.; AZEVEDO, M. S.; OLIVEIRA, R. C.; ALMEIDA, O. R. Contaminação de aquífero por hidrocarbonetos: estudo de caso na Vila Tupi, Porto Velho – Rondônia. *Revista Química Nova*, vol. 30, n. 7, 1539-1544, 2007.
- [9]. GRASSI, M. T. As águas do planeta Terra, *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, Edição especial – Maio 2001.
- [10]. GUELFÍ, L. R.; SCHEER, A. P. Estudo de Adsorção Para Purificação e Separação de Misturas na Indústria Petrolífera. Engenharia Química. Universidade Federal do Paraná. Curitiba - PR, 2007.
- [11]. LIMA, L. M. R.; COSTA, K. J. B.; OLIVEIRA, E. D. C.; OLIVEIRA, E. K. G.; SANTOS, T. C.; SILVA, V. L. M. M. Utilização do mandacaru (*Cereus jamacaru*) como biomassa adsorvente de gasolina presente em corpos d'água, X Encontro Brasileiro sobre Adsorção, Guarujá-SP, 2014.
- [12]. LIMA, L. M. R. Estudo da ampliação de escala na adsorção de contaminantes orgânicos presentes em efluentes aquosos mediante leito fixo de biomassa, Tese (Doutorado), UFCG, 2010.
- [13]. MACÊDO, H. C. Influência da Cochonilha do Carmim (*Dactylopiusopuntiae*) sobre o Sistema Produtivo da Palma Forrageira (*Opuntia ficus indica Mill*) em Caturité-PB, 2014.
- [14]. MORELLI, E. B. Reuso da Água para lavagem de veículos. Dissertação (Mestrado). USP, 2005
- [15]. NEGREIROS, A. B.; NASCIMENTO, A. F.; SILVA, R. F.; DINIZ, M. A. R. Problematização Ambiental dos Lava-Jatos da Cidade de Floriano-PI. Instituto Federal de Educação, *Ciência e Tecnologia do Piauí*, Campus Floriano. 2010.
- [16]. NUNES, S. C. Usos e aplicações da palma forrageira como uma grande fonte de economia para o Semiárido Nordeste. *Revista Verde* (Mossoró – RN – Brasil) v.6, n.1, p. 58 - 66 janeiro/março de 2011.
- [17]. PEREIRA, R. da S. Poluição hídrica: causas e consequências, Disponível em: www.vetorial.net, Acesso em: Abril de 2016.
- [18]. PORPINO, K. K. P. Biossorção de ferro (II) por casca de caranguejo *Ucides cordatus*. Dissertação (Mestrado), UFPB, 2009.
- [19]. RIBEIRO, T. H.; GROSSI, L.; AMARAL, S.; RUBIO, J. Sorção de Compostos Orgânicos pela Biomassa Seca da *Salvinia sp.* (RS). II Encontro Brasileiro de Adsorção – II EBA, Florianópolis – Santa Catarina, pp. 383-393, 2000.
- [20]. RUTHVEN, D. M. Zeolites as Selective Adsorbentes – Synthetic Zeolites are Used Widely as Selective Adsorbents in a Range of Large Scale Separation Processes. *Chemical Engineering Progress*, pp. 42-50, 1988.
- [21]. SANTOS, E. G.; ALSINA, O. L. S.; SILVA, F. L. H. Desempenho de Biomassas na Adsorção de Hidrocarbonetos leves em efluentes aquosos. *Revista Química Nova*, vol. 30, No. 2, 327-331, 2007.
- [22]. SENA, L. F. Estudo Cinético da capacidade de Biossorção de metais pesados em resíduos sólidos orgânicos. Monografia, UFCG, 2015.
- [23]. SOUZA, R. S.; LIMA, L. M. R.; SILVA, V. L. M. M. Adsorção de óleo diesel em sistema de leito diferencial com biomassa bagaço de cana-de-açúcar. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v.6.2 (2011) 123-126, ISSN 1809-8797, 2011.

Capítulo 7

Estudo térmico e caracterização de cargas de fundo das torres de destilação a vácuo e atmosférica

Regineide de Oliveira Lima

Camila Gisele Damasceno Peixoto

Valter José Fernandes Júnior

Antônio Souza de Araujo

Amanda Duarte Gondim

Resumo : Este trabalho trata de um estudo de caracterização de resíduos de petróleo, os quais são comumente denominados como cargas de alimentação, que por sua vez são gerados dentro do processo de refino. O resíduo atmosférico (RAT) é uma carga proveniente da torre de destilação atmosférica e o resíduo de vácuo (RV) é uma carga oriunda da torre de destilação à vácuo. Os resíduos foram caracterizados pela análise elementar, SARA e estudo termogravimétrico. Através das análises realizadas foi possível constatar que estes resíduos ainda apresentam grande potencial econômico, podendo assim recuperar frações desejáveis para a indústria de petróleo.

Palavras-chave: Resíduo atmosférico, resíduo de vácuo, caracterização e termogravimetria.

1. INTRODUÇÃO

O refino do petróleo consiste em uma série de beneficiamentos pelos quais passa o óleo bruto para a obtenção de derivados de grande interesse comercial, englobando etapas físicas e químicas de separação que originam diversas frações de destilação. Estas são então processadas através de outra série de etapas de separação e conversão para fornecer os derivados finais. Refinar petróleo é, portanto, separar as frações desejadas, processá-las e lhes dar acabamento, de modo a se obterem produtos com maior valor agregado [SZKLO; ULLER, 2008].

Os resíduos da indústria de petróleo podem ser provenientes de exploração, ou podem ser gerados a partir do processamento do óleo cru durante as etapas do refino. Na torre de destilação atmosférica é formado um produto de fundo (RAT), o qual segue como uma carga de alimentação para a torre de destilação a vácuo. Sendo este submetido à zona de vácuo, ocorre um aproveitamento de boa parte deste subproduto. A carga de fundo gerada na torre de destilação a vácuo é denominado como resíduo de vácuo (RV) [LIMA, 2011].

De acordo com Szklo e Uller [2008], esses resíduos, além de apresentarem peso molecular elevado, também contém compostos aromáticos polinucleares (PNA) e contaminantes inorgânicos.

Segundo Meng et al. [2009], os resíduos de maneira geral são de difícil conversão devido o requerimento elevado de energia durante o processamento e refinamento, porém ainda se encontram nestes tipos de resíduo frações de hidrocarbonetos com grandes valores comerciais. Os principais constituintes dos resíduos são asfaltenos, aromáticos, resinas e saturados.

Surge assim, a necessidade de estudos e caracterizações destes resíduos para torná-los viáveis quando submetidos aos processos de conversões.

A determinação dos teores de CHNS ocorre pela combustão da substância orgânica na presença de ar (que entra no reator no momento da injeção da amostra no mesmo). O reator contendo óxido de cobre finaliza a combustão do material. O teor de oxigênio é calculado segundo a equação 1.

$$\text{Teor de O} = 100 - (C + H + N + S) \quad [1]$$

A cromatografia em camada fina (TLC-FID) é um caso particular da cromatografia líquida, que é uma técnica de separação de substâncias em função da afinidade diferenciada por uma fase sólida estacionária e uma fase líquida móvel. A cromatografia em camada fina, quando aplicada a petróleo, é uma ferramenta que tem como objetivo a determinação semiquantitativa das proporções de hidrocarbonetos saturados, aromáticos, resinas e asfaltenos (SARA).

A análise térmica é uma técnica que tem sido utilizada para o estudo e caracterização dos petróleos, seus derivados e resíduos. Essa técnica é normalmente empregada para avaliar o craqueamento, como também a combustão.

Como foi estudado por Gonçalves et. al. [2010], a termogravimetria (TG) auxilia o estudo do efeito da composição do petróleo e a cinética de degradação, sendo os resultados correlacionados com as propriedades físico-químicas.

Este trabalho tem como objetivo caracterizar os resíduos RAT e RV por análise elementar e SARA. Além de realizar o estudo térmico com objetivo de verificar suas pontencialidades.

2. METODOLOGIA

2.1. ANÁLISE ELEMENTAR

A análise elementar foi realizada para a determinação dos teores de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio nas amostras dos resíduos. Para a realização desta análise foi pesado cerca de 3 mg em uma capsula de estanho de cada amostra de resíduo e em seguida foi colocada no amostrador automático do equipamento, conforme é mostrado na Figura 1.

O equipamento utilizado foi um analisador modelo EACHNS-O 1110 series, da marca Thermo Quest CE Instruments, com as seguintes condições de operação:

- Gás de arraste: He – 130 ml/min;
- Gás de queima: O₂ – 300 ml/min;
- Temperatura do reator: 1000 °C;
- Tempo de corrida: 420 segundos;
- Ar sintético

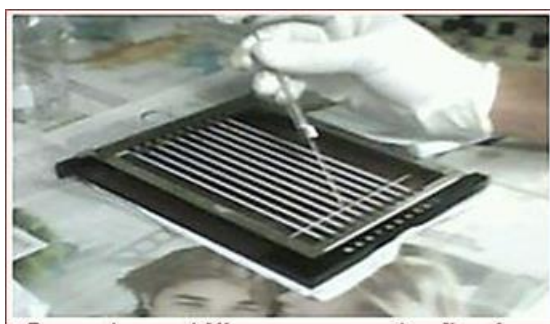
2.2. ANÁLISE SARA

Através desta análise foram determinados os compostos saturados, aromáticos, resinas e asfaltenos. Foi pesado 0,1 g da amostra e diluído em 10 ml de diclorometano. Logo em seguida, com auxílio de uma seringa, as amostras diluídas foram filtradas (Figura 2) em filtros miliporosos (0,45µm). O spot de cada amostra filtrada foi realizado com uma quantidade de 1 µL e a origem foi definida pela linha branca do suporte de acrílico (Figura 3). Depois de spotado, foi lavada a seringa 6 vezes antes de utilizar outra amostra.

Figura 2 - Processo de filtração com filtros miliporosos



Figura 3 - Suporte metálico para spotação das amostras.



Em diferentes cubas (Figura 4) foram colocados 60 mL de cada um dos solventes nas cubas de eluição (cuba 1- hexano; cuba 2 – tolueno). Foram colocados também 60 mL do solvente da terceira cuba, sendo uma mistura de solventes com diferentes proporções (diclorometano e metanol - 57:3). O suporte metálico com os rods foi colocado dentro da cuba 1 (Hexano) e deixou-se eluir por 40 minutos. Após este tempo, o suporte metálico com os rods é retirado da cuba e colocado em um forno a uma temperatura de 175°C durante 2 minutos.

O suporte metálico com os rods foi colocado na cuba 2 (Tolueno) e deixou-se eluir até 60 cm (escala de medida no suporte metálico). Em seguida foi levado ao forno por 2 minutos. Por último, o suporte metálico

com rods foi colocado na cuba 3, deixou-se eluir até 25 cm, levou-se para o forno e em seguida para o Iatroskan da Marca Mitsubishi Kagaku Iatron modelo MK-6s.

Figura 4: (a) Cubas de Hexano, (b) Tolueno, (c) Diclorometano com Metanol.



2.3. ANÁLISE TERMOGRAVIMETRIA TG/DTG

A análise de TG e DTA foi utilizada com intuito de avaliar a degradação térmica dos resíduos atmosféricos e de vácuo. O equipamento utilizado foi uma termobalança TGA/SDTA 851 - Mettler Toledo. A faixa de temperatura foi de 35 a 900 °C, a uma razão de aquecimento de 10°C min⁻¹, sob fluxo de nitrogênio a 50 mlmin⁻¹. As análises foram feitas utilizando cadinhos de alumina abertos com uma quantidade de amostra de aproximadamente 32 mg.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

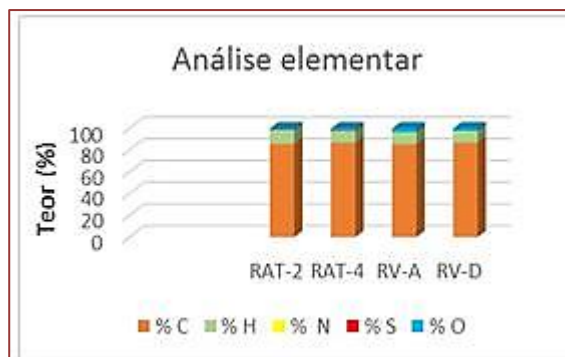
3.1 ANÁLISE ELEMENTAR

Através da análise elementar foi observado que não houve modificações significativas em termos das % de carbonos para os resíduos estudados. Os RV's estudados apresentaram menor percentual de hidrogênio e maior porcentagem de nitrogênio e oxigênio quando comparados com os RAT'S analisados, conforme mostrado na Tabela 1 e Figura 5. Os resíduos atmosféricos apresentaram uma maior quantidade percentual de hidrogênio acarretando em uma maior relação H/C.

Tabela 1: Análise elementar dos resíduos

Amostra	% C	% H	% N	% S	% O
RAT-2	86,0	12,5	0,26	0,42	1,1
RAT-4	87,0	10,6	0,30	0,52	1,5
RV-A	85,5	9,6	0,97	<L _D	3,9
RV-D	87,0	9,4	1,0	<L _D	2,6

Figura 5: Análise elementar dos resíduos estudados



3.2 ANÁLISE SARA

Os resíduos de petróleo são constituídos de frações consideravelmente pesadas, resultando em uma composição química complexa.

Esta afirmação ficou evidenciada através dos resultados mostrados na Tabela 2, observando-se um alto teor de aromáticos e resinas. Como o RV é uma fração de um processo no qual já foram retiradas frações mais leves, quando comparado com o RAT, já esperava-se este conter uma elevada quantidade de compostos asfálticos, os quais apresentam alto peso molecular em sua composição.

Tabela 2: Análise SARA dos resíduos RV-A e RV-4

Frações		Tr	H	Ap	A (%)
RV-A	Saturados	0,046	2,5	4,8	7,7
	Aromáticos	0,240	6,4	14,4	22,9
	Resinas	0,406	24,0	20,7	32,8
	Asfaltenos	0,458	11,5	23,1	36,6

Frações		Tr	H	Ap	A (%)
RAT-4	Saturados	0,010	0,98	1,5	6,4
	Aromáticos	0,250	3,8	7,8	33,9
	Resinas	0,381	17,2	9,6	41,9
	Asfaltenos	0,461	4,8	4,1	17,8

3.3 ANÁLISE DE TG/DTG

Através dessa análise foi possível fazer um estudo termogravimétrico. Avaliando as curvas TG/DTG dos resíduos de vácuo e atmosférico, conforme apresentadas na Figura 6 e 7, respectivamente, foi possível determinar: as etapas, a faixa de temperatura em que ocorre a perda de massa, o percentual de perda de massa, o resíduo gerado no final do processo térmico e uma análise de remoção das frações leve, média e pesadas contidas em cada resíduo estudado, segundo apresentado na Tabela 3.

Figura 6: (a) Análise de TG e (b) de DTG dos resíduos de vácuo

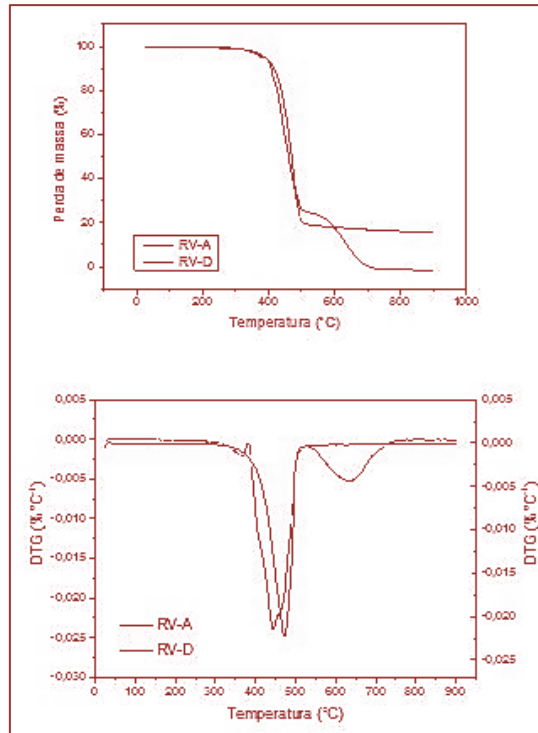


Figura 7: (a) Análise de TG e (b) de DTG dos resíduos atmosféricos

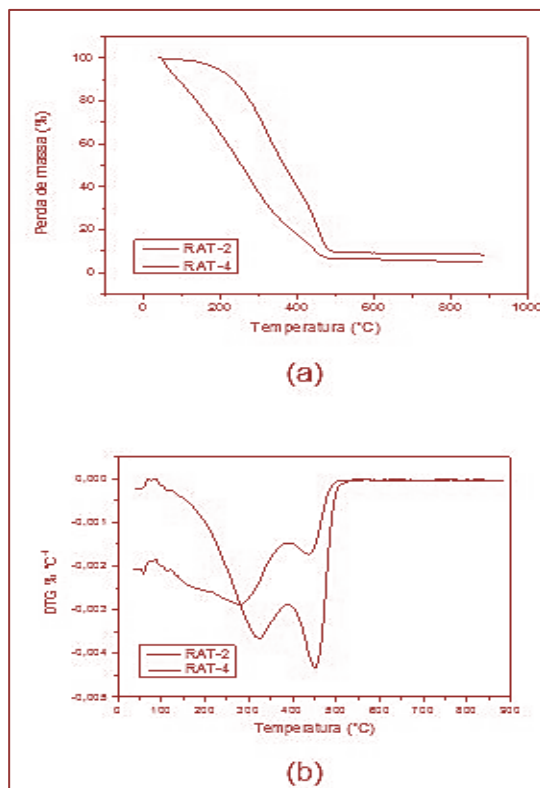


Tabela 3: Atribuições TG/DTG dos resíduos

		T (°C)	Tp (°C)	Perda m(%)	Anal. Fração	Rs (%)
RV-A	I	35-382	364	4,96	leve	
	II	382-521	445	70,3	média	
	III	523-749	635	24,7	pesada	-
RV-D	I	35-526		81,1	média-pesada	18,9
RAT-2	I	35-385	279	79,8	leve	
	II	385-525	436	13,7	média-pesada	6,5
RAT-4	I	35-388	324	56,9	leve	
	II	388-535	453	33,8	média-pesada	9,3

CONCLUSÕES

Por meio deste estudo foi possível constatar a grande importância das caracterizações SARA e teor elementar das amostras em estudo, bem como estimar o grande potencial energético dos resíduos de vácuo e atmosférico gerados no processo de refino. Através da análise termogravimétrica foi possível averiguar os eventos de perda de massa, os quais mostram a remoção das frações leves, médias e pesadas. Estas frações são referentes a composição química dos compostos saturados, aromáticos, resinas e asfaltenos contidos em cada amostra. O alto teor de carbono, seguido da presença de hidrogênio, nitrogênio, oxigênio. Mostra os constituintes elementares de um óleo fóssil com potencial energético. Portanto, os resultados apresentados neste trabalho comprovam que tanto o resíduo atmosférico quanto o resíduo de vácuo apresentam constituintes de interesse comercial.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Catálise e Petroquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte e a UFPE.

REFERÊNCIAS

- [1]. GONÇALVES, M. L. A.; MOTA, D.A.P.; TEXEIRA, A.M.R.F.; TEXEIRA M.A.G. Pyrolysis of petroleum fractions: kinetic investigation by thermogravimetry. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, v.91,2, p.341-346, 2010.
 - [2]. LIMA, R.O. Pirólise Térmica e Catalítica de Resíduos de Vácuo Gerados no Refino de Petróleo. 2011. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia de Petróleo. Natal-RN.
 - [3]. MENG, X.; XU, C.; GAO, J.; Li, L.; Liu, Z. Catalytic and thermal pyrolysis of atmospheric residue. *Energy & Fuels*, v.23, p.65-69, 2009.
- SZKLO, A.; ULLER, V.C, Fundamentos do Refino de petróleo, Rio de Janeiro: Interciência,2008.

Capítulo 8

Influência dos parâmetros da moagem de alta energia nas propriedades de dispersão do ZnO particulado

Laiza Gabriela Sanches Peres

João Otávio Donizette Malafatti

Thamara Machado de Oliveira Ruellas

Letícia Ferreira Lacerda Schildt

Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Elaine Cristina Paris

Resumo: A obtenção de nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) pelo método *top-down* utilizando a técnica de moagem de alta energia (MAE) tem se mostrado eficiente e reproduzível. A variação nos parâmetros de moagem pode afetar as propriedades das nanopartículas. Neste trabalho, avaliou-se a dispersão das nanopartículas em meio aquoso após a variação do tempo de moagem, de 1 h até 24 h, bem como suas características estruturais. Pela técnica de difração de raios X (DRX), observou-se picos do ZnO correspondentes à fase wurtzita, mais estável para este óxido, sem aparecimento de novas fases após o processo de moagem. A eficiência na diminuição do tamanho de partículas a partir das moagens de ZnO comercial foi avaliada através da análise de espalhamento dinâmico de luz (DLS), em que foi possível observar uma redução significativa dos diâmetros médios de partículas, sobretudo para os tempos de moagem superiores a 8 h. Neste sentido, a melhor condição encontrada para a moagem em moinho atritor de partículas de ZnO na velocidade de 2000 rpm foi de 16 h, em que houve boa homogeneização e diminuição do tamanho com menor gasto energético, comparado a 24h, garantindo boa dispersão em água e um bom custo-benefício do processo de moagem. O tamanho médio de partículas obtido foi de 255 nm após 16 h de moagem, comparado ao comercial de 865 nm, conforme a análise de DLS. Assim, o processo de moagem mostrou-se capaz de promover as propriedades de estabilidade da dispersão das partículas de ZnO, a partir da diminuição dos valores de diâmetro médio com maior homogeneidade de distribuição dos particulados, empregando-se o método *top-down*.

Palavras chaves: óxido de zinco, nanopartículas, moagem, método *top-down*, dispersão.

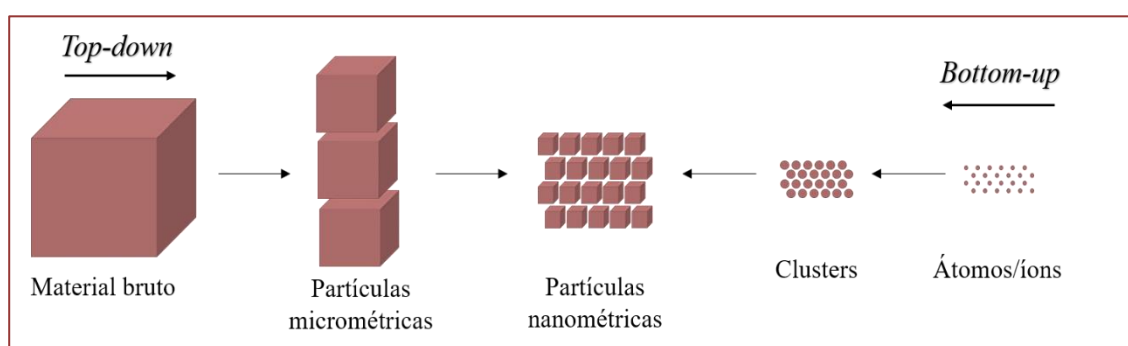
1. INTRODUÇÃO

O óxido de zinco (ZnO) está entre os óxidos de metal mais amplamente sintetizado devido a sua grande variedade em campos de aplicação: na indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia, eletrônica, como aditivo em produtos cerâmicos, vidro, borracha, adesivos e tintas [1,2]. Trata-se de um composto inorgânico na forma de pós de cor branca, altamente estável, com propriedades anticorrosivas, habilidade de bloquear a luz UV, boa condutividade térmica, não-tóxico e de baixo custo [2,3]. Já foram reportados três tipos de estruturas diferentes para o ZnO, que são wurtzita, blenda de zinco e sal-gema, porém esse óxido ocorre quase exclusivamente na forma wurtzita, uma estrutura cristalina hexagonal, constituída de íons de zinco (Zn^{2+}) e oxigênio (O^{2-}) [2,4].

Uma forma de melhorar as propriedades do ZnO, conforme a aplicação de interesse, é reduzindo o tamanho das partículas para a escala nanométrica, o que aumenta a área e a quantidade de defeitos de superfície, tornando-o altamente reativo. Uma das vantagens que as nanopartículas de ZnO apresentam, por exemplo, é a propriedade antimicrobiana, que possibilita a aplicação em tratamento de feridas, em obturações dentárias temporárias, como conservante e componente em embalagens de alimentos, entre outras [1,3,5]. Dependendo do tamanho das nanopartículas, elas apresentam propriedades diferentes. Nanopartículas de ZnO com diâmetros abaixo de 100 nm se destacam pelas propriedades catalíticas, uma vez que apresentam maior área de superfície. Quando seu diâmetro está entre 40 e 100 nm, as nanopartículas de ZnO também podem ser utilizadas na fabricação de protetores solares e revestimentos têxteis, uma vez que absorvem e dispersam a radiação ultravioleta. Já as nanopartículas de ZnO com diâmetro entre 200 e 400 nm refletem e espalham a luz, apresentando a cor branca na superfície em que é aplicada [3].

As propriedades físico-químicas das nanopartículas de ZnO também dependem do método de síntese. Há dois métodos convencionais de síntese de materiais nanométricos: *top-down* e *bottom-up*, representados na FIGURA 1. Os métodos classificados como *top-down* reduzem as partículas até a escala nanométrica aplicando uma força mecânica no material em estado bruto, usando técnicas como moagem, sonicação e ablação a laser [6]. Este método requer alto controle das variáveis do processo para que ocorra a redução das partículas até a escala nano. Para os métodos *bottom-up*, a formação das nanopartículas se dá a partir de precursores que passam por reações químicas sob elevado controle termodinâmico, para que os átomos e moléculas se reorganizem formando as estruturas desejadas. São exemplos de *bottom-up*: processo sol-gel, coprecipitação química, deposição de vapor químico, auto agregação de monocamada, entre outros [6,7].

FIGURA 1. Representação esquemática dos métodos *top-down* e *bottom-up* para produção de nanopartículas.



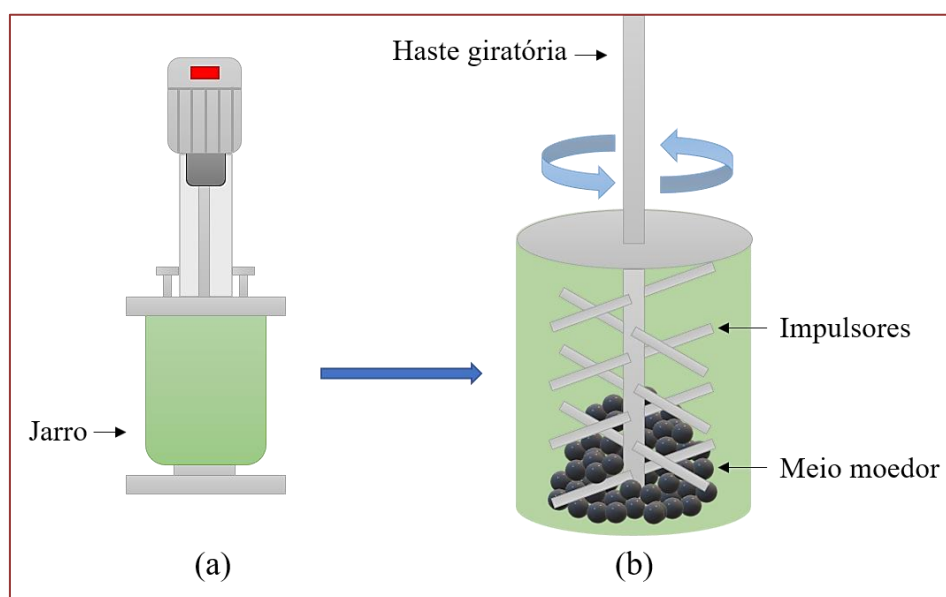
Fonte: Adaptado de Khanna *et al.* [8]

Uma técnica efetiva e amplamente utilizada referente ao método *top-down* é a moagem de alta energia (MAE), pois possibilita a obtenção de partículas em grande escala, curto espaço de tempo, de maneira confiável e reproduzível [9]. Utiliza-se um moinho com bolas ou esferas (como meio moedor) em rápida rotação capaz de gerar alta energia por intermédio de repetidas colisões entre as partículas, as esferas e o recipiente. Vários parâmetros podem ser alterados no processo de moagem, como a velocidade e tempo de moagem, temperatura, número de esferas e diâmetro das mesmas, volume do recipiente e proporção em massa entre esferas e precursor [10].

Este processo geralmente é utilizado para diminuir a granulometria de sólidos, porém também podem ocorrer processos mecanoquímicos durante a moagem, quando a energia mecânica proporciona a ativação de reações químicas [11]. Para a produção de nanopartículas de ZnO, a técnica de MAE é utilizada principalmente para conversão microcristais a materiais nanocristalinos. Há também vários compostos à base de zinco que podem se decompor em temperaturas relativamente baixas (130 - 290°C) com a consequente formação de ZnO, como hidróxido de zinco (Zn(OH)_2), hidrozincita ($\text{Zn}_5(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_6$) e smithsonita (ZnCO_3) [11,12].

O moinho tipo atritor (FIGURA 2(a)) é um equipamento eficiente em MAE, sendo capaz de exercer forças de cisalhamento e impacto sobre o material, o que proporciona a produção de partículas significativamente pequenas [13]. Consiste em um sistema que possui um jarro na posição vertical em que está inserida uma haste com impulsores dispostos perpendicularmente (FIGURA 2(b)), sendo capazes de fornecer energia mecânica ao meio moedor. A redução das partículas ocorre pelo impacto entre as partículas com as esferas e o jarro, além do impacto com a haste e os impulsores [14].

FIGURA 2. a) Moinho atritor e b) Parte interna do moinho atritor.



Fonte: Adaptado de Suryanarayana [15]

A técnica de MAE tem sido utilizada para obtenção de nanopartículas de diversos materiais. Li *et al.* [16] otimizaram os parâmetros de MAE e, a partir de micropartículas de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$, obtiveram nanopartículas de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ equiaxiais dispersas com pureza de 99,96% e tamanho médio de partícula de 8 nm. Estas nanopartículas foram submetidas à separação por coagulação fracionada, objetivando separar uma faixa estreita de distribuição de tamanhos, e sinterizaram para obter a cerâmica nanocristalina de Al_2O_3 com uma média de tamanho de grãos de 34 nm e densidade relativa de 99,8%. Zheng *et al.* [17] utilizaram MAE em partículas micrométricas de YSn_2 (cerca de 100 μm), com o intuito de obter material anódico nanocristalino de alta performance para aplicação em baterias de íons lítio (Li^+), uma vez que nanopartículas de YSn_2 podem adsorver Li^+ . Os autores alcançaram o objetivo, produzindo nanopartículas de 100 nm por intermédio do processo de moagem. Tung *et al.* [18] prepararam nanopartículas de ferro por MAE e chegaram a tamanho de cristalito médio de 11 nm após 10 horas de moagem sob ar atmosférico com estrutura cristalina monofásica.

Mekprasart *et al.* [10] partiram de pós de ZnO comercial com tamanhos de partículas de 535 nm e utilizaram MAE à velocidade de 600 rpm por 10 minutos para reduzir as nanopartículas para dimensão de 240 nm. Já Otis *et al.* [11] investigaram a síntese mecanoquímica livre de solvente do ZnO a partir de cristais de $\epsilon\text{-Zn(OH)}_2$ utilizando MAE, e produziram nanopartículas com tamanhos entre 10 e 30 nm, baseado no tempo de moagem. Neste sentido, o sistema MAE mostra-se promissor para a redução de partículas de ZnO micrométrico para a escala nanométrica.

Nesse contexto, este trabalho objetivou a otimização do método *top-down* utilizando a técnica MAE para a

produção de nanopartículas de ZnO, para avaliação das propriedades estruturais e sua estabilidade de dispersão.

2. METODOLOGIA

2.1. MOAGEM DAS PARTÍCULAS DE ZNO

Para realizar o processo de moagem das partículas de ZnO comercial (Votorantim Metais) utilizou-se um moinho tipo atritor da marca Netzsch modelo PE 075. Na execução do procedimento o volume do vaso foi ocupado em 60%, sendo distribuído entre ZnO (56 g) e água (112 g) na proporção 1:2 (m/m), respectivamente. A moagem foi executada a partir do contado do material precursor com esferas de zircônia com diâmetro aproximado de 3 mm no meio moedor. Nas condições do equipamento utilizou-se rotação de velocidade 2000 rpm (máxima do equipamento equivalente a 3000 rpm), sendo variado o tempo de exposição de 1, 4, 8, 16 e 24 h, a fim de verificar os efeitos nas propriedades do ZnO. Ao final do processo de moagem, o ZnO foi separado do meio moedor a partir do uso de uma peneira de 100 mesh, e realizada a secagem na temperatura de 80°C durante 24 h.

2.2. CARACTERIZAÇÃO

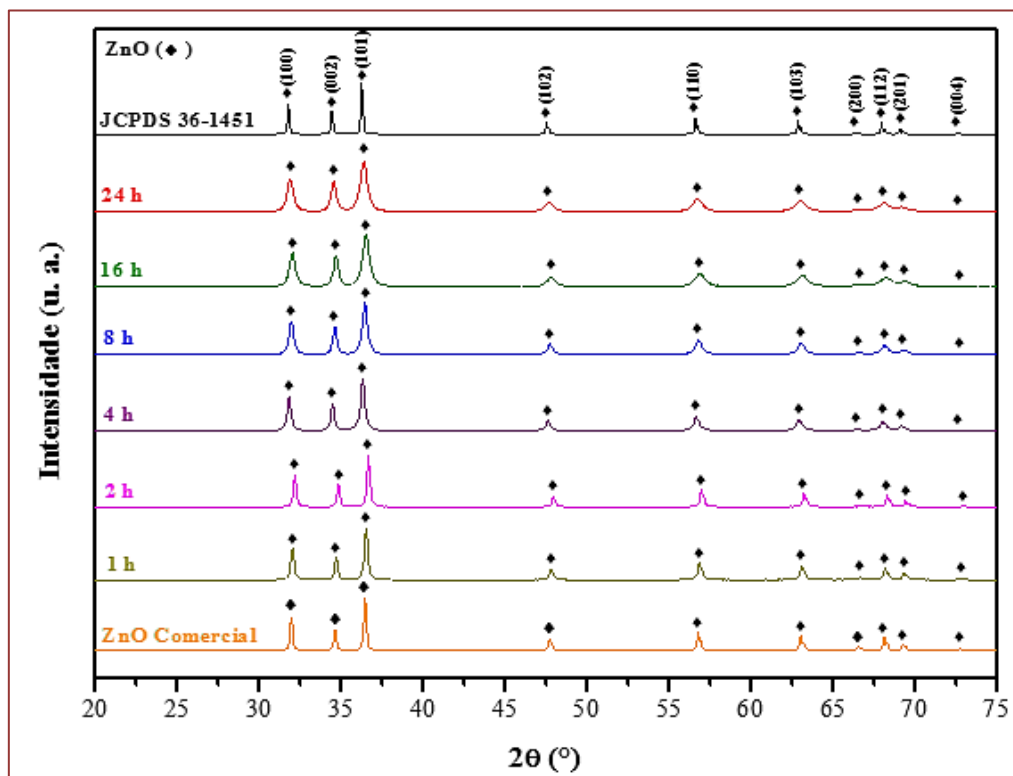
Para caracterização das partículas de ZnO foi realizado difração de raios X (DRX), a fim de verificar a fase estrutural, pureza e alterações no tamanho de cristalito. Os difratogramas foram obtidos a partir de um equipamento da marca Shimadzu®, modelo LabX XRD-6000, radiação Cu-K α de λ equivalente a 1,5406 Å, varredura de 2θ entre 10° a 80° e velocidade de 1°min⁻¹. As medidas de FWHM (largura à meia altura) foram obtidas a partir de ajuste Gaussiano dos picos de maior intensidade. O cálculo de tamanho de cristalito foi feito considerando a medida ajustada à Gaussiana do valor de FWHM do pico de maior intensidade, considerando k como 0,94, através da equação de Scherrer [19]. Os dados de cela unitária foram obtidos através da análise para estrutura hexagonal utilizando-se o *software* UnitCell (95% de confiabilidade), após análise do difratograma. Por fim, as estruturas da cela unitária em 3D foram obtidas através dos parâmetros de rede obtidos anteriormente, com o *software* gratuito VESTA (*Visualization for Electronic and Structural Analysis*). De modo a complementar a caracterização estrutural, foi utilizada a espectroscopia Raman com o uso de um equipamento da marca Bruker VERTEX FT-IR acoplado com módulo FT-Raman RAM II, laser Nd:YAG (1064 nm) e um detector de germânio (Ge) resfriado com nitrogênio líquido. A análise foi feita com resolução de 4 cm⁻¹ e 200 varreduras na região entre 50 e 1000 cm⁻¹. As propriedades estruturais de absorvância de radiação ultravioleta e de *band gap* foram obtidas a partir de um equipamento Shimadzu UV-vis, modelo 2600, utilizando o modo de reflectância e radiação na faixa de 200 a 1200 nm. Para obtenção dos resultados de *band gap* foram realizados cálculos matemáticos de Kubelka-Munk a partir dos coeficientes de absorvância. Os ensaios de estabilidade, homogeneidade de tamanho e de dispersão das partículas de ZnO em meio aquoso foram realizados a partir da análise de espalhamento de luz dinâmico (DLS), em um equipamento da marca Malvern Instruments, modelo Zetasizer Nano ZS90. O preparo das amostras para as medidas foi feito a partir de uma solução de 20 mL de água deionizada (pH = 7) com 1 mg de ZnO dispersado em ultrassom de ponta marca Branson modelo 500 durante o tempo 1 min direto com intensidade frequência de 30%, sendo retirada 2 mL de volume para leitura em uma cubeta de quartzo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de difração de raios X (DRX) foi realizada para o ZnO comercial e para as amostras que passaram pelo processo de moagens por 1, 2, 4, 8, 16 e 24 h, para se obter dados acerca da estrutura encontrada, das fases presentes, dos parâmetros de rede e inferir sobre o grau de pureza das amostras analisadas. O difratograma obtido para as amostras podem ser vistos na FIGURA 3, e os valores calculados de largura à meia altura (FWHM) dos três picos de maior intensidade, correspondentes aos planos (100), (002) e (101), podem ser vistos na FIGURA 4.

Primeiramente, acerca da FIGURA 3, é possível observar que todas as amostras apresentaram apenas picos correspondentes ao ZnO de estrutura hexagonal, grupo P63mc, da ficha 36-1451 do *Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS), cujo difratograma também pode ser observado na FIGURA 3, com os planos cristalográficos indicados. Não foram observadas fases secundárias ou planos cristalográficos não pertencentes ao ZnO nos difratogramas das amostras analisadas, o que indica ausência de contaminação no processo de moagem. A presença da fase wurtzita era esperada, uma vez que é a mais estável para o óxido de zinco [20].

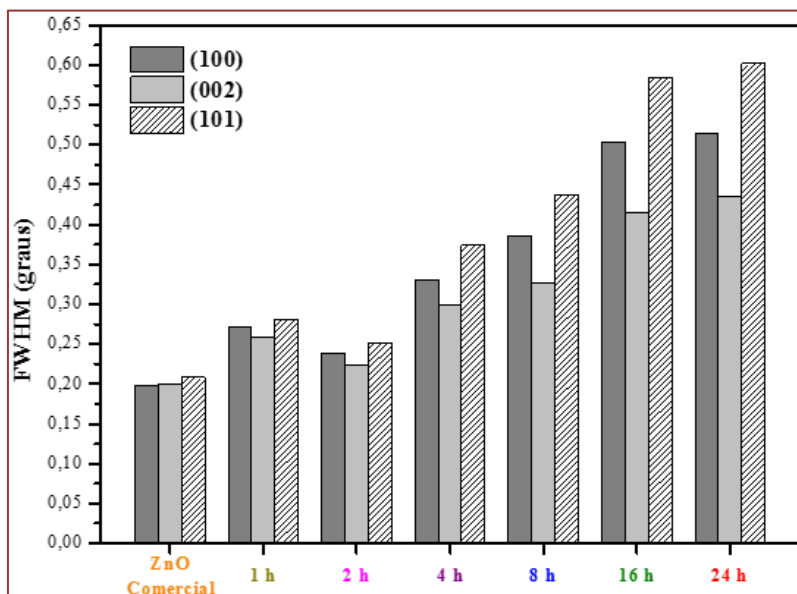
FIGURA 3. Difratogramas do ZnO comercial, das amostras após moagens por 1, 2, 4, 8, 16 e 24 h e da ficha de referência.



Fonte: Dos autores (2021).

É possível observar, ainda pela FIGURA 3, que os picos das amostras submetidas à moagem apresentaram um alargamento conforme o aumento do tempo de moagem, em comparação à amostra de ZnO comercial. Para se obter mais informações acerca do alargamento destes picos, foram realizados ajustes Gaussianos aos picos de maior intensidade, após subtração de linha base, e os valores de largura à meia altura (FWHM) foram calculados para os planos (100), (002) e (101). Esses valores estão dispostos na FIGURA 4, em que é possível observar que, de fato, a largura aumentou conforme o aumento do tempo de moagem.

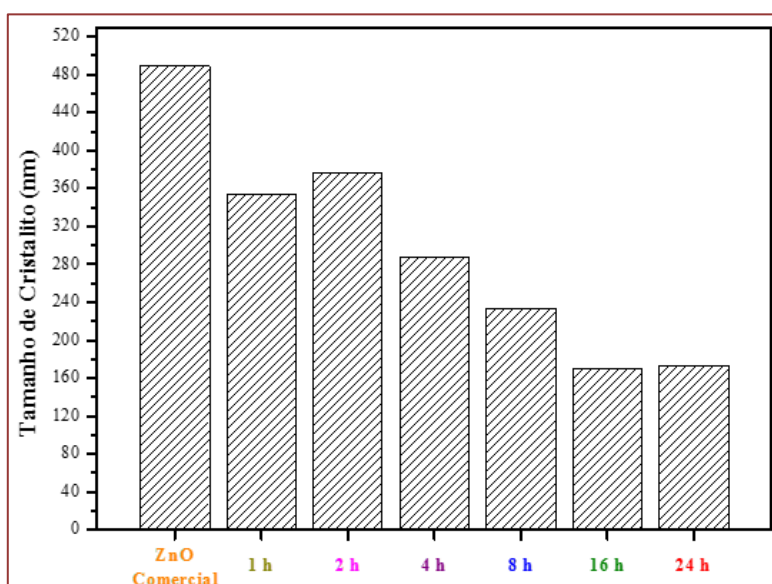
FIGURA 4. Medidas de largura à meia altura (FWHM) dos três picos de maior intensidade para o ZnO comercial e para as amostras submetidas a moagem.



Fonte: Dos autores (2021).

O alargamento de pico observado para as amostras submetidas à moagem pode ser atribuído a dois fatores principais. O primeiro é uma possível amorfização parcial da estrutura, quando comparada ao ZnO comercial, devido à deformação mecânica que ocorre na superfície do óxido quando ele colide repetidamente com o meio moedor [21]. O segundo fator é inerente ao processo proposto, *top-down*, em que o aumento da homogeneidade das partículas e da diminuição no seu tamanho à escala nanométrica, ocasionam um alargamento dos picos de difração. A análise dessa influência também pode ser vista na FIGURA 5, em que os tamanhos de cristalitas foram calculados pela Equação de Scherrer [19], para o pico de maior intensidade. É possível observar na FIGURA 5 que o aumento no tempo de moagem afetou consideravelmente o tamanho das partículas, até 16 h, cujo valor se manteve até 24 h.

FIGURA 5. Tamanhos de cristalitas (Scherrer) para o ZnO comercial e para as amostras submetidas a diferentes tempos de moagem.



Fonte: Dos autores (2021).

A partir dos difratogramas, foi possível calcular, também, os parâmetros de rede para cada amostra, e compará-los com os resultados da ficha JCPDS 36-1451. Os parâmetros foram calculados com o auxílio do *software* UnitCell, como descrito na metodologia, com 95% de confiabilidade. Esses resultados podem ser vistos na

TABELA 2 a seguir, assim como os valores fornecidos na ficha JCPDS número 36-1451 e a variação percentual da amostra com a referência utilizada, indicada na tabela por *e* (%).

TABELA 2. Parâmetros de redeTT calculados para as amostras analisadas

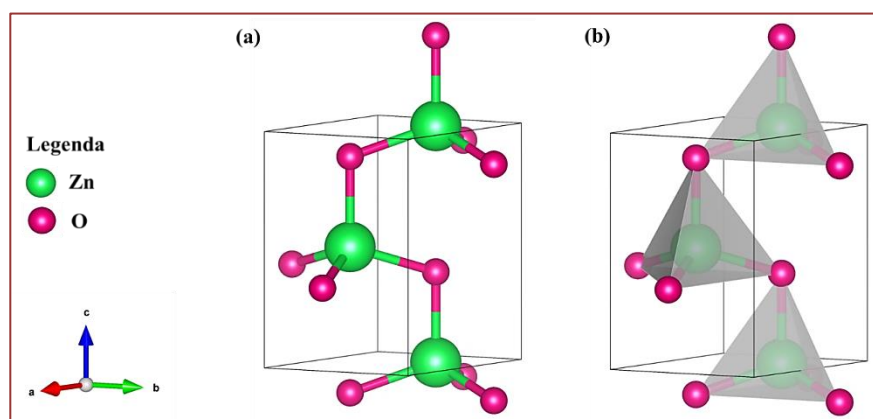
Amostras	Parâmetros			
	$a = b$ (Å)	<i>e</i> (%)	<i>c</i> (Å)	<i>e</i> (%)
ZnO Comercial	3,24078	- 0,28	5,19302	- 0,26
1 h	3,23712	- 0,39	5,18847	- 0,35
2 h	3,23145	- 0,57	5,17818	- 0,55
4 h	3,24691	- 0,09	5,20345	- 0,06
8 h	3,24066	- 0,28	5,19356	- 0,25
16 h	3,23621	- 0,42	5,18918	- 0,34
24 h	3,24252	- 0,23	5,19687	- 0,19
Referência: JCPDS nº 36-1451	3,24982		5,20661	

Fonte: Dos autores (2021).

A partir da TABELA 2, foi possível constatar que as variações de parâmetros de rede calculadas foram todas menores que 0,6%, (em módulo) para todas as amostras, o que reforça a ideia de manutenção da pureza, mesmo após os tratamentos de moagem.

Por fim, a amostra de 16 h, sendo a primeira a apresentar manutenção de valores de FWHM, é apresentada estruturalmente na FIGURA 6. Todas as estruturas foram obtidas no *software* VESTA considerando os parâmetros de rede obtidos a partir dos dados de DRX. Esse procedimento foi realizado para todas as amostras, cujos resultados foram correspondentes, com pequenas alterações de espaçamentos entre as moléculas, não perceptíveis nas figuras. Por isso, apenas a estrutura construída para a amostra de 16 h é mostrada a seguir, na posição cristalográfica padrão para a cela unitária.

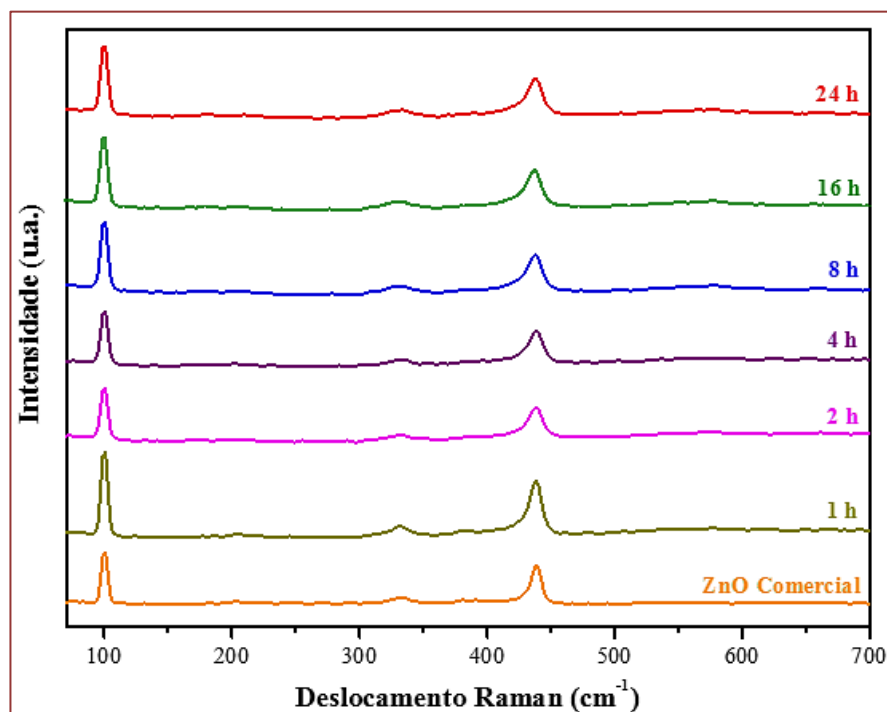
FIGURA 6. Cella unitária da amostra de ZnO após 16 h de moagem (a) sem e (b) com poliedros representados.



Fonte: Dos autores (2021).

Com o intuito de avaliar as alterações estruturais das partículas de ZnO após o processo de moagem foi realizado a análise de espectroscopia Raman, como apresentado pela FIGURA 7. Inicialmente, é possível observar que os particulados, após a moagem em todas condições de tempos avaliadas (1 a 24 h), demonstraram o mesmo comportamento vibracional óptico típico do ZnO.

FIGURA 7. Espectro Raman do ZnO comercial e após o processo de moagem em velocidade 2000 rpm no período entre 1 e 24 h.

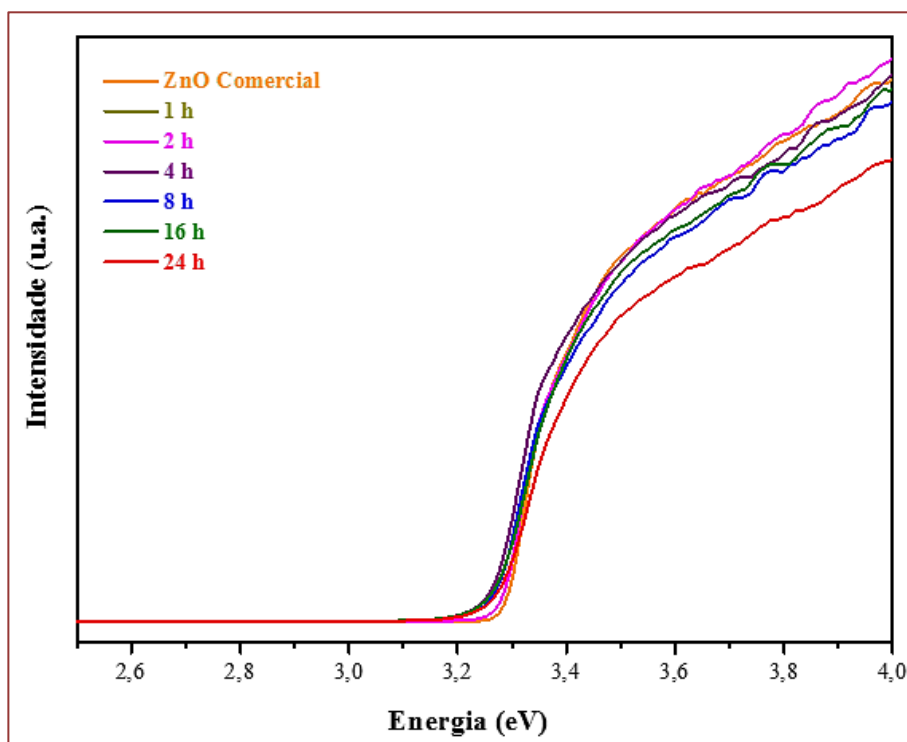


Fonte: Dos autores (2021).

Por meio dos espectros são observados os três modos vibracionais principais do ZnO localizados em 99 cm^{-1} associados às vibrações de Zn ($E_{2\text{baixo}}$), 329 cm^{-1} a qual representa a dispersão de segunda ordem correspondente ao limite entre $E_{2\text{alto}}$ e $E_{2\text{baixo}}$ e em 438 cm^{-1} referente as vibrações de O ($E_{2\text{alto}}$), típicas da fase estrutural wurtzita do ZnO [22]. Adicionalmente, é verificado para o espectro do ZnO obtido após o processo de moagem de 16 horas, picos mais alargados, similares aos evidenciados no difratograma de raios X. Dessa maneira, as caracterizações estruturais à média e longa distância (DRX) e curta e média (Raman), possibilitaram evidenciar as alterações nas propriedades estruturais ZnO após o processo de moagem.

Já para as propriedades óticas do ZnO foi utilizado os resultados de absorção de radiação ultravioleta-visível a partir da análise de espectroscopia de reflectância difusa (DRS), FIGURA 8. A partir dessa técnica foi possível verificar as propriedades dos valores de *band gap* dos particulados após o processo de moagem.

FIGURA 8. Espectroscopia de reflectância difusa (DRS) das partículas de ZnO comercial e após o processo de moagem durante 1 até 24 h.

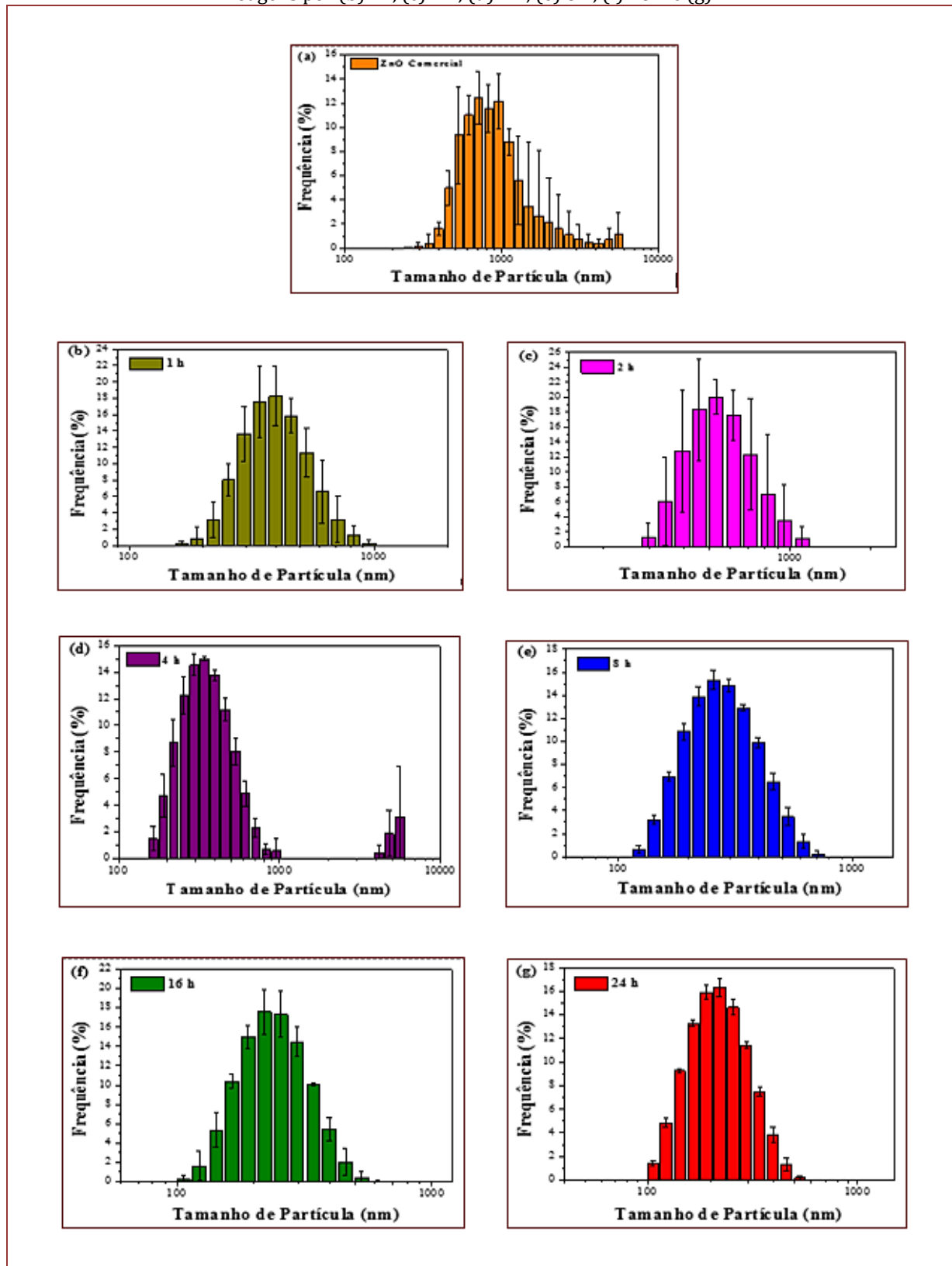


Fonte: Dos autores (2021).

Nos resultados é possível observar todos os materiais apresentaram valores similares de aproximadamente 3,3 eV, indicando que as propriedades óticas do ZnO foram preservadas após o processo de moagem em todos os tempos avaliados de 1 até 24 h. Os valores obtidos estão de acordo com o encontrado na literatura [23] para o ZnO.

A eficiência na diminuição do tamanho de partículas a partir das moagens do ZnO Comercial foi avaliada por intermédio da análise de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS). Os histogramas de distribuição das partículas podem ser vistos na FIGURA 9, para o ZnO Comercial e para as amostras submetidas a moagens por 1, 2, 4, 8, 16 e 24 h. É possível observar, nos gráficos apresentados, a homogeneidade de distribuição das partículas em função do intervalo logarítmico no eixo das abcissas. Ao se comparar as amostras que foram submetidas à moagem ao ZnO comercial (sem moagem), é possível observar que houve redução significativa de tamanhos de partículas, mesmo para pequenos tempos de moagem.

FIGURA 9. Espalhamento dinâmico de luz (DLS) para o (a) ZnO Comercial e para as amostras submetidas a moagens por (b) 1 h, (c) 2 h, (d) 4 h, (e) 8 h, (f) 16 h e (g) 24 h



Fonte: Dos autores (2021).

No gráfico do ZnO comercial, apresentado na FIGURA 9 (a), é possível observar que a faixa de partículas encontra-se entre 300 nm e 5 µm, com valor médio na faixa de 865 nm. Com o aumento no tempo de

moagem, as partículas foram reduzidas e houve uma diminuição notável na heterogeneidade de dispersão. Para o tempo de moagem de 1 h, a faixa de partículas foi de 200 nm a 1 µm, com valor médio na faixa de 414 nm. Para 2 h, a faixa foi de 200 nm a 1 µm, com valor médio na faixa de 559 nm. Nos processos de 1 e 2 h, embora a diminuição de tamanho de partículas seja evidenciada, houve baixa eficiência, quando se considera a alta heterogeneidade constatada nos histogramas, somadas a uma faixa larga de distribuição de tamanhos de partículas, visível nas FIGURAS 9 (b) e 9(c). Para moagens de 4 h, persistiu-se o comportamento de considerável heterogeneidade, na faixa entre 100 nm e 1 µm, predominantemente. Entretanto, o tamanho de partículas foi mais intensamente reduzido, com valores médios na faixa de 373 nm, como observado na FIGURA 9(d).

Para tempos de moagens superiores a 8 h, uma maior homogeneidade foi observada nos histogramas de distribuição, com tamanhos de partículas e aglomerados ainda mais reduzidos, e mais próximos a dimensão de 100 nm. Para moagens de 8 h, o intervalo ficou entre 100 e 700 nm, com valores médios na faixa de 300 nm, que pode ser visto na FIGURA 9(e). Para as moagens de 16 e 24 h, visíveis nas FIGURAS 9(f) e 9(g), respectivamente, os intervalos foram de 100 nm e 500 nm, em ambos os casos, com valores médios de 255 nm para 16 h e 234 nm para 24 h de moagem.

Vale ressaltar que os resultados de DLS foram coerentes com os resultados obtidos para os tamanhos de cristallitos, em que o mesmo comportamento de diminuição de partículas foi observado. A partir da análise de DLS, é possível inferir que o fornecimento energético do movimento mecânico do moinho não foi suficiente para promover choques efetivos, tanto entre as partículas no meio, quanto com as partículas e as paredes do moinho, que diminuíssem as partículas de forma considerável, para os tempos de 1, 2, e 4 h. Já para os tempos a partir de 8 h, foi possível observar que a energia fornecida foi suficiente e houve redução efetiva nos tamanhos de partículas, com maior homogeneidade de distribuição.

Outros resultados encontrados na literatura para partículas de WO_3-CuO corroboram o comportamento apresentado acerca da moagem [24], em que as partículas foram reduzidas de 25 µm a 390 nm mediante moagem de alta energia por um período de 5 h. Os autores associam a diminuição do tamanho de partículas à energia mecânica fornecida em tempo adequado para romper a resistência do material e subsequentemente fragmentá-lo.

Por fim, vale ressaltar que os tempos de 16 e 24 h de moagem apresentaram resultados altamente similares em termos de homogeneidade de distribuição e tamanho de partículas. Sendo assim, considerando o menor custo energético promovido pelas moagens de 16 h, em detrimento das moagens de 24 h, e o melhor custo-benefício, a moagem de 16 h foi determinada por este trabalho como a melhor condição para o processo de moagem do ZnO em moinho atritor entre todas as condições avaliadas.

4. CONCLUSÕES

Acerca das caracterizações realizadas na avaliação da eficácia dos tempos de moagem para o ZnO comercial em moinho atritor foi possível observar, primeiramente, a manutenção da fase pura wurtzita, hexagonal do grupo P63mc, típica do óxido, para todos os tempos de moagens analisados. Também foram observados os mesmos valores médios de *band gap* e os modos vibracionais típicos para o ZnO, para todas as amostras, inclusive aquelas que foram submetidas a diferentes tempos de moagem.

A avaliação do tempo de processamento confirmou que o aumento do tempo de 1 h até 24 h possibilita a diminuição do tamanho das partículas. Neste sentido, a melhor condição encontrada para a moagem em moinho atritor, na velocidade de 2000 rpm, foi de 16 h. Este foi o menor tempo que possibilitou uma diminuição efetiva de tamanho de partículas com reduzido gasto energético, possibilitando a maior homogeneização das partículas quando dispersas em água, sendo avaliado como o melhor custo-benefício para a moagem realizada.

Por fim, o processo de moagem mostrou-se capaz de promover as propriedades de estabilidade de dispersão das partículas a partir da diminuição do diâmetro médio e da maior homogeneidade de distribuição dos particulados.

REFERÊNCIAS

- [1]. S. Sabir, M. Arshad, S.K. Chaudhari, Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture: Synthesis and applications, *Sci. World J.* 2014 (2014). <https://doi.org/10.1155/2014/925494>.
- [2]. A. Rahman, M.H. Harunsani, A.L. Tan, M.M. Khan, Zinc oxide and zinc oxide-based nanostructures: biogenic and phyto-genic synthesis, properties and applications, Springer Berlin Heidelberg, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02530-w>.
- [3]. A. Czyżowska, A. Barbasz, A review: zinc oxide nanoparticles–friends or enemies?, *Int. J. Environ. Health Res.* 00 (2020) 1–17. <https://doi.org/10.1080/09603123.2020.1805415>.
- [4]. C. Mayrinck, E. Raphael, J.L. Ferrari, M.A. Schiavon, Synthesis, Properties and Applications of Nanostructured Zinc Oxide, *Rev. Virtual Química.* 6 (2014) 1185–1204. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20140078>.
- [5]. K.S. Siddiqi, A. ur Rahman, Tajuddin, A. Husen, Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Activity Against Microbes, *Nanoscale Res. Lett.* 13 (2018). <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2532-3>.
- [6]. S. Sadhasivam, M. Shanmugam, P.D. Umamaheswaran, A. Venkattappan, A. Shanmugam, Zinc Oxide Nanoparticles: Green Synthesis and Biomedical Applications, *J. Clust. Sci.* 0 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10876-020-01918-0>.
- [7]. A. Bhakay, M. Rahman, R.N. Dave, E. Bilgili, Bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs via nanocomposites: Formulation–Processing aspects and challenges, *Pharmaceutics.* 10 (2018). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030086>.
- [8]. P. Khanna, A. Kaur, D. Goyal, Algae-based metallic nanoparticles: Synthesis, characterization and applications, *J. Microbiol. Methods.* 163 (2019) 105656. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105656>.
- [9]. S.K. Verma, P.K. Panda, E. Jha, M. Suar, S.K.S. Parashar, Altered physiochemical properties in industrially synthesized ZnO nanoparticles regulate oxidative stress; Induce in vivo cytotoxicity in embryonic zebrafish by apoptosis, *Sci. Rep.* 7 (2017) 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14039-y>.
- [10]. W. Mekprasart, B.R. Ravuri, R. Yimnirun, W. Pecharapa, Photoluminescence and X-ray photoelectron spectroscopic study of milled-ZnO material prepared by high energy ball milling technique, *ScienceAsia.* 46 S (2020) 91–96. <https://doi.org/10.2306/SCIENCEASIA1513-1874.2020.S013>.
- [11]. G. Otis, M. Ejgenberg, Y. Mastai, Solvent-free mechanochemical synthesis of zno nanoparticles by high-energy ball milling of ϵ -Zn(OH)₂ crystals, *Nanomaterials.* 11 (2021) 1–12. <https://doi.org/10.3390/nano11010238>.
- [12]. E. Tóthová, M. Senna, A. Yermakov, J. Kováč, E. Dutková, M. Hegedüs, M. Kaňuchová, M. Baláž, Z.L. Bujňáková, J. Briančin, P. Makreski, Zn source-dependent magnetic properties of undoped ZnO nanoparticles from mechanochemically derived hydrozincite, *J. Alloys Compd.* 787 (2019) 1249–1259. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.02.149>.
- [13]. Y.M. Tan, C.Y. Tan, S. Ramesh, Y.C. Teh, Y.H. Wong, B.K. Yap, Effect of Attritor Milling on Synthesis and Sintering of Forsterite Ceramics, *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* 13 (2016) 726–735. <https://doi.org/10.1111/ijac.12543>.
- [14]. C. Suryanarayana, Mechanical Alloying and Milling, *Mater. Manuf. Process.* 22 (2007) 790–791. <https://doi.org/10.1080/10426910701416344>.
- [15]. C. Suryanarayana, Mechanical alloying and milling, *Mech. Alloy. Milling.* 46 (2004) 1–472. <https://doi.org/10.4150/kpmi.2006.13.5.371>.
- [16]. L. Li, S. Pu, Y. Liu, L. Zhao, J. Ma, J. Li, High-purity disperse α -Al₂O₃ nanoparticles synthesized by high-energy ball milling, *Adv. Powder Technol.* 29 (2018) 2194–2203. <https://doi.org/10.1016/j.apt.2018.06.003>.
- [17]. X. Zheng, C. Yang, X. Chang, Z. Liu, X. Wu, H. Zhou, J. Zheng, X. Li, A high capacity nanocrystalline Sn anode for lithium ion batteries from hydrogenation induced phase segregation of bulk YSn₂, *J. Mater. Chem. A.* 6 (2018) 21266–21273. <https://doi.org/10.1039/c8ta07578f>.
- [18]. D.K. Tung, D.H. Manh, L.T.H. Phong, P.H. Nam, D.N.H. Nam, N.T.N. Anh, H.T.T. Nong, M.H. Phan, N.X. Phuc, Iron Nanoparticles Fabricated by High-Energy Ball Milling for Magnetic Hyperthermia, *J. Electron. Mater.* 45 (2016) 2644–2650. <https://doi.org/10.1007/s11664-016-4457-x>.

- [19]. P. Scherrer, Bestimmung der Grösse und der inneren Struktur von Kolloidteilchen mittels Röntgenstrahlen [Determination of the size and internal structure of colloidal particles using X-rays], *Nachr Ges Wiss Goettingen, Math. Klasse. 2* (1918) 98–100.
- [20]. Y. Chergui, T. Aouaroun, M.J. Hadley, R. Belkada, R. Chemam, D.E. Mekki, Molecular dynamics simulation of ZnO wurtzite phase under high and low pressures and temperatures, *Mater. Res. Express. 4* (2017). <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aa9767>.
- [21]. C.A. Aggelopoulos, M. Dimitropoulos, A. Govatsi, L. Sygellou, C.D. Tsakiroglou, S.N. Yannopoulos, Influence of the surface-to-bulk defects ratio of ZnO and TiO₂ on their UV-mediated photocatalytic activity, *Appl. Catal. B Environ. 205* (2017) 292–301. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2016.12.023>.
- [22]. A.F. Jaramillo, R. Baez-Cruz, L.F. Montoya, C. Medinam, E. Pérez-Tijerina, F. Salazar, D. Rojas, M.F. Melendrez, Estimation of the surface interaction mechanism of ZnO nanoparticles modified with organosilane groups by Raman Spectroscopy, *Ceram. Int. 43* (2017) 11838–11847. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.06.027>.
- [23]. T.M.O. Ruellas, L.O.O. Peçanha, G.H.S. Domingos, C.R. Sciena, J.O.D. Malafatti, E.C. Paris, S.C. Maestrelli, T.R. Giraldi, Zinc oxide pieces obtained by pressing and slip casting: physical, structural and photocatalytic properties, *Environ. Technol. (United Kingdom). 0* (2019) 1–13. <https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1683078>.
- [24]. B. Duan, D. Wang, Preparation of highly dispersed superfine W – 20 wt % Cu composite powder with excellent sintering property by highly concentrated wet ball-milled process, *Rare Met. 37* (2018) 961–967.

Capítulo 9

*Fermentative parameters for collagenase production by *Penicillium* sp. isolated from the soil of Caatinga*

Maria Carolina de Albuquerque Wanderley

Mirella Monteiro Silva

Isabele Albuquerque Alcoforado Ferreira

Sara Isabel da Cruz Silvério

Carolina de Albuquerque Lima Duarte

José António Couto Teixeira

Ana Lúcia Figueiredo Porto

Abstract: Collagenolytic proteases can hydrolyze both denatured and native collagen and are becoming increasingly important commercially. The aim of this work was to select a new strain of *Penicillium* sp. isolated from the soil of Caatinga for collagenase production. A factorial design 2⁴ was performed to determine the best conditions of enzyme production. Collagenolytic activity reported on this work is about 2 times larger than existing data. According to the growth kinetics, after 126 hours of production, were obtained the highest values of collagenolytic activity and specific activity. The highest values of collagenolytic activity and specific activity were obtained on a culture medium containing 0.25% (w/v) gelatin, 200 rpm, pH 8.0 and 24 °C. Only two factors were statistically significant: pH and temperature, both with negative effects. The experimental design made possible to define fermentation culture conditions able to increase by 66% the value of the initial enzyme activity.

1. INTRODUCTION

Collagen is the major fibrous element of skin, intestines, bones, tendons, cartilage, blood vessels and teeth found in all animals, corresponding to 30% of the total protein and 6% of the human body weight (Jain and Jain, 2010; Suphatharaprateep et al., 2011).

Proteases are enzymes produced by many organisms, such as plants, animals, and microorganisms like fungi. Filamentous fungi stand out in the enzyme industry for their biochemical diversity and susceptibility to genetic modification, in addition to their vast capacity to produce hydrolytic enzymes (Mamo and Assefa, 2018; Purushothaman et al., 2019). Collagenolytic proteases can hydrolyze both native and denatured collagen and are becoming increasingly important commercially (Lima et al., 2009).

Among the collagenolytic enzyme producing microorganisms, filamentous fungi have great advantages such as high productivity and low production costs and the resulting enzyme can be easily modified (Lima et al., 2011a). The collagenase produced by microorganisms is preferable because of its biochemical diversity and susceptibility to genetic manipulation (Lima et al., 2011a; Rosso et al., 2012).

The enzyme production is extracellular which makes it particularly easy to recovery at the end of fermentation (Sandhya et al., 2005). Studies report collagenase biosynthesis by fungi belonging to genera *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* and *Alternaria* (Yakovleva et al., 2006).

The *Penicillium* species have a greater biotechnological potential compared to the other genera mentioned, both for production of proteases and other enzymes. They can grow in different conditions as well as to use a wide variety of substrates (Ikram-ul-Haq and Mukhtar, 2007).

The aim of this work was to select strain of the *Penicillium* genus, isolated from the soil of Caatinga (Pernambuco – Brazil), as a collagenase producer and to determine the best conditions for the production in an inexpensive culture medium containing only gelatin as substrate, evaluating the effect of temperature, pH, agitation and initial concentration of substrate.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. MICROORGANISMS

The strains of *Penicillium* sp. (UCP 1285, UCP 1286, UCP 1288, UCP 1289, UCP 1291 and UCP 1292) isolated from the soil of Serra Talhada and São José do Belmonte cities, present in Caatinga biome (Pernambuco – Brazil), were obtained from UCP - the Collection of the Catholic University of Pernambuco, UNICAP.

2.2. CULTURE MEDIA

The culture media used for enzyme production was gelatin medium, consisting of: gelatin (0.5% w/v), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.025 w/v), K_2HPO_4 (1.5 w/v), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.015 w/v), $CaCl_2$ (0.025 w/v) and mineral solution (1% w/v). This medium was sterilized in an autoclave at 121 °C for 15 min.

For the experiments aiming at defined the optimal composition of the culture medium, gelatin concentration values were (0.25% w/v), (0.50% w/v) and (0.75% w/v).

2.3. SCREENING OF *Penicillium* STRAINS AS COLLAGENASE PRODUCERS

Collagenase of *Penicillium* sp. strains was obtained from the culture supernatant. Strains were sub-cultured on malt extract agar plates, incubated at 30 °C for 72 h and a calibrated cellular suspension (corresponding to an average cell concentration of 106 cells/mL) was used to inoculated a 125 mL Erlenmeyer flask containing 25 mL of gelatin culture medium (0.50 w/v) supplemented with 1.0% (v/v) of a mineral solution, and grown for 72 h at 28 °C in an orbital incubator shaker with 150 rpm. After this time, cultures were filtered and the supernatants analyzed for collagenase production.

2.4. KINETICS OF GROWTH AND COLLAGENASE PRODUCTION

Inoculum spores were produced in agar plates containing a cell culture grown for 5 days at 28 °C, and then suspended in 3 mL of a 0.9% (w/v) NaCl and 0.01% (v/v) Tween 80 solution, previously sterilized at 121 °C for 20 min. After inoculation with a 150 µL spores suspension (106 spores/mL), fermentation was carried out for 8 days at 28 °C and 150 rpm in 1 L Erlenmeyer flasks containing 250 mL of the culture medium. At 6-hour intervals, samples were taken for determination of biomass, protein content and collagenolytic activity.

Cotton caps were used to minimize water evaporation. The broth obtained at the end of fermentation (126 h) was vacuum filtered through 0.45 µm-pore diameter nitrocellulose membranes to remove the mycelium.

2.5. SCREENING OF SIGNIFICANT VARIABLES FOR COLLAGENASE PRODUCTION

A 2⁴ full design was carried out at all combinations of the levels given in Table 1. The center point was performed in quadruplicate, to provide an estimate of the variance of the pure experimental error responses. All statistical and graphical analyzes were performed with 95 % confidence using the Statistica 8.0 software (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Table 1. Factors and corresponding levels used in a 2⁴ design to investigate the production of collagenase by *Penicillium* sp. isolated from Caatinga

Factors	Lowest (-1)	Central (0)	Highest (+1)
pH	6	7	8
Gelatin concentration (% p/v)	0.25	0.50	0.75
Temperature (°C)	24	28	32
Orbital agitation speed(rpm)	100	150	200

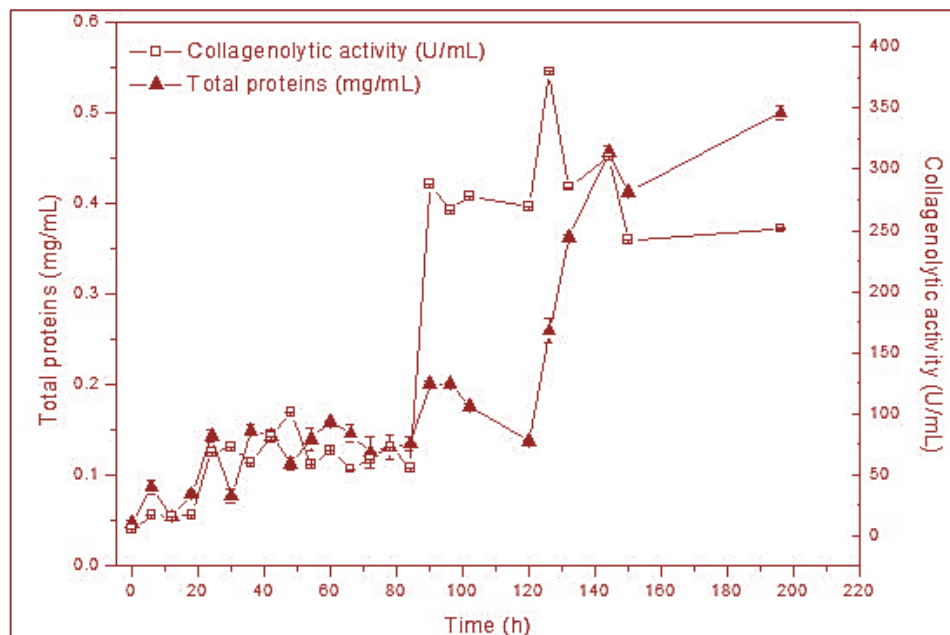
2.6. ANALYTICAL METHODS

The Azo dye-impregnated collagen assay was carried out according to a modified version of the method developed by Chavira et al. (1984). Azocoll was washed and suspended in 0.05 M Tris-HCl buffer containing 1 mM CaCl₂ up to a final concentration of 0.5% (w/v). Subsequently, 150 µL of cell-free filtrate and 150 µL of buffer were mixed with 270 µL of azocoll suspension in a 2.0-mL reaction tube, incubated at 37 °C in a water bath under agitation. After 18 h of incubation, the samples were chilled in ice for 5 min to stop the reaction and centrifuged at 10,000 × g and 4 °C for 20 min. The absorbance of the supernatant was measured at 520 nm by a UV-Vis spectrophotometer. One unit of enzyme activity (U) was defined as the amount of enzyme, per millilitre, that led, after 18 h of incubation, to an absorbance increase of 0.1 at 520 nm. Protein concentration was determined by the method of Bradford modified using "Coomassie Blue Bright" to detect minute amounts of protein in biological fluids. The calibration curve was made from stocks of bovine serum albumin (BSA) solutions. Biomass was determined by the dry weight method using pre-weighted nitrocellulose membranes with 0.45 µm-pore diameter, after drying at 80 °C for 24 h.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The strain selected among the six species was *Penicillium* UCP 1286, which had the best collagenolytic activity. The results for growth and collagenase production kinetics are shown in Figure 1. Enzyme synthesis is shown to begin during the microbial growth phase, but the highest production occurs in the stationary phase. An increase in the enzyme activity is observed at 96 hours.

Figure 1. Kinetics of growth and collagenase production by *Penicillium* UCP 1286 isolated from caatinga in gelatin culture medium



As the culture medium contained only gelatin and salts, it is likely that the fungus required an adaptive period. This agrees with results reported by other authors that described the production of collagenase after the cell growth period (Lima et al., 2011b; Petrova et al., 2006; Suphatharaprateep et al., 2011). The highest collagenase activity was obtained after 126 hours, reaching 379.80 units. Based on these results, the incubation time for further optimization study was 126 hours.

Table 2 shows the conditions and results of the fermentations (after 126 hours) conducted according to the established experimental design. The highest values of collagenolytic activity (632.70 U/mL) and specific activity (3954.38 U/mg) were obtained with the run 9, conducted with 0.25% (w/v) gelatin, 200 rpm, pH 8.0 and 24 °C.

A full factorial model was designed to compare the activity data. This model included four main effects, six two-factor, four three-factor and one four-factor interactions. The statistically significant estimates of the effects (at the 95% confidence level) indicates that, on average, higher activities were obtained when factors 1 (pH) and 3 (temperature) were selected at their lowest levels. With respect to the effect of the factors on the biomass concentration, the substrate concentration was the only one that presented positive significant effect.

Overall, the application of the factorial design allowed increasing the enzyme production by about 66%. The obtained values for collagenolytic activity values were substantially higher than those reported in the literature for *Bacillus* sp.: 43.5 U/mL (Jain and Jain, 2010), *Candida albicans*: 7.6 U/mL (Lima et al., 2009) and *Penicillium aurantiogriseum*: 164 U/mL (Lima et al., 2011a).

Table 2. Conditions and results of fermentations conducted according to the 2⁴ factorial design

Run	pH	S ₀ (% w/v)	T (°C)	Agitation (rpm)	X (g/L)	TP (mg/mL)	A _c (U/mL)	a _c (U/mg)
1	6	0.25	24	100	0.48	0.15	531.55	3603.73
2	8	0.25	24	100	0.36	0.18	481.95	2744.20
3	6	0.75	24	100	0.80	0.25	447.65	1786.13
4	8	0.75	24	100	0.92	0.24	481.70	1996.68
5	6	0.25	32	100	0.53	0.13	560.20	4351.07
6	8	0.25	32	100	0.17	0.24	177.70	746.25
7	6	0.75	32	100	0.62	0.26	396.65	1544.14
8	8	0.75	32	100	0.72	0.19	349.50	1798.07
9	6	0.25	24	200	0.45	0.16	632.70	3954.38
10	8	0.25	24	200	0.30	0.16	471.20	2888.58
11	6	0.75	24	200	0.98	0.36	475.10	1319.72
12	8	0.75	24	200	0.40	0.36	424.15	1188.51
13	6	0.25	32	200	0.48	0.12	468.05	3920.84
14	8	0.25	32	200	0.51	0.15	424.10	2815.60
15	6	0.75	32	200	0.53	0.32	405.95	1271.08
16	8	0.75	32	200	0.38	0.20	338.65	1662.09
17	7	0.5	28	150	0.77	0.22	427.95	1923.37
18	7	0.5	28	150	0.75	0.23	424.85	1882.99
19	7	0.5	28	150	0.72	0.24	432.90	1842.13
20	7	0.5	28	150	0.74	0.23	428.80	1874.54

Results related to 126 hours of fermentation. pH = initial pH of the medium; S₀ = initial concentration of gelatin; T = temperature; X = biomass concentration; TP = total protein; A_c = volumetric collagenolytic activity; a_c = specific collagenolytic activity.

The values of the significant effects indicate that, on average, higher activities were obtained when factors 1 (pH) and 3 (temperature) were selected at their lowest levels. With respect to the effect of the factors on the biomass concentration, the substrate concentration was the only one that presented a positive significant effect.

4. CONCLUSIONS

The fungus *Penicillium* UCP 1286 isolated from soil of the caatinga proved to be a promising producer of the collagenase enzyme. The micro-organism was able to produce significantly higher values than reported in the literature using a simple and inexpensive substrate as culture medium.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERENCES

- [1]. Chavira, R.K., Burnett, T.J., Hageman, J.H., 1984. Assaying proteinases with azocoll. *Anal Biochem.* 136, 4446-4450.
- [2]. Ikram-Ul-Haq, H., Mukhtar, 2007. Biosynthesis of acid proteases by *Penicillium griseoroseum* IH-02 in solid-state fermentation. *Pakist J Botan.* 39, 2717-2724.
- [3]. Jain, R., Jain, P.C., 2010. Production and partial characterization of collagenase of *Streptomyces exfoliates* CFS 1068 using poultry feather. *Indian J Exp Biol.* 48, 174-178.
- [4]. Lima, C.A., Rodrigues, P.M.B., Porto, T.S., Viana, D.A., Lima Filho, J.S., Porto, A.L.F., Carneiro-da-Cunha, M.G., 2009. Production of a collagenase from *Candida albicans* URM3622. *Biochem Eng J.* 43, 315-320.
- [5]. Lima, C.A., Lima Filho, J.L., Barros Neto, B., Converti, A., Carneiro-da-Cunha, M.G., Porto, A.L.F., 2011a. Production and characterization of a collagenolytic serine proteinase by *Penicillium aurantiogriseum* URM 4622: a factorial study. *Biotechnol Bioproc Eng.* 16, 549-560.
- [6]. Lima, C.A., Marques, D.A.V., Neto, B.B., Lima Filho, J.L., Carneiro-da-Cunha, M.G., 2011b. Fermentation medium for collagenase production by *Penicillium aurantiogriseum* URM4622. *Biotechnol Prog.* 27, 1470-1477.
- [7]. Mamo, J.; Assefa, F. The role of microbial aspartic protease enzyme in food and beverage industries, *J. Food Qual.* 2018 (2018) 1-15.
- [8]. Petrova, D.H., Shishkov, S.A., Vlahov, A.A., 2006 Novel thermostable serine collagenase from *Thermoactinomyces* sp. 21E: purification and sob properties. *J Basic Microbiol.* 46, 275-285.
- [9]. Purushothaman, K.; Bhat, S. K.; Singh, S. A. et al, Aspartic protease from *Aspergillus niger*: Molecular characterization and interaction with pepstatin A. *International Journal of Biological Macromolecules* 139 (2019) 199-212.
- [10]. Rosso, B.A., Lima, C.A., Porto, T.S., Nascimento, C.O., Pessoa Júnior, A., Converti, A., Carneiro-da-Cunha, M.G., Porto, A.L.F., 2012 Partitioning and extraction of collagenase from *Penicillium aurantiogriseum* in poly(ethylene glycol)/phosphate aqueous two-phase system. *Fl Ph Equil.* 225, 20-25.
- [11]. Sandhya, C., Sumantha, G., Szakacs, G, Pandey, A., 2005. Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Proc. Biochem.* 40, 2689-2694.
- [12]. Suphatharaprateep, W., Cheirsilp, B, Jongjareonrak, A., 2011. Production and properties of two collagenases from bacteria and their application for collagen extraction. *New Biotechnol.* 28, 649-655.
- [13]. Yakovleva, M.B., Khoang, T.L., Nikitina, Z.K., 2006. Collagenolytic activity in several species of Deuteromycetes under various storage conditions. *Appl Biochem Biotechnol.* 42, 431-434.

Capítulo 10

*Optimization of cell growth and carotenoid production by *Sporidiobolus ruinenia* using sugarcane juice supplemented with yeast extract*

Patricia Teixeira Damasceno Lobo

Hugo Neves Brandão

Sandra Aparecida de Assis

Abstract: Two experimental designs were used for the optimization of carotenoid production by *Sporidiobolus ruinenia*. First, a complete factorial 2^3 was used to assess the influence of the sugarcane juice (5, 15 and 25%) and the yeast extract (0, 5 and 10 g L⁻¹) in carotenoid production. The optimum value obtained from the first design was set and used during the second design which was performed according to Doelher's design. It assessed the influence of agitation speed (130, 180 and 230 rpm) and initial pH (4.0, 5.0, 6.0, 7.0 and 8.0). The optimum conditions that for maximum carotenoid production (1040.0 µg L⁻¹) by *S. ruinenia* are 9.0% sugar cane juice, 7.8 g L⁻¹ of yeast extract, initial pH of 4.8, agitation speed of 180 rpm. Biomass growth conditions were also studied, and optimum parameter values were determined. HPLC analysis confirmed the presence of β-carotene in the analyzed samples. Results suggest that the carotenoids can be produced using sugarcane juice as a low-cost carbon source.

Keywords: Carotenoids; Experimental design; Microorganism; *Sporidiobolus ruinenia*; Sugarcane juice, Yeast,

1. INTRODUCTION

Carotenoids are yellow, orange, or red pigments that can be synthesized by many plants and microorganism as yeast and shows use in food, pharmaceutical, cosmetics, and animal feed industries (Mezzomo and Ferreira, 2016). Several biological activities to health benefit have been attributed to carotenoids such as: strengthen the immune system and reduction of the risk of degenerative health issues such as cancer, cardiovascular diseases, macular degeneration and cataracts, besides some of them are the precursors of vitamin A.

Yeasts are notable for their growth capacity and production of carotenoids (Otero et al., 2019). Some genera the yeast are currently known as the carotenogenic yeast of the *Rhodotorula*, *Rhodospodium*, *Sporobolomyces* and *Sporidiobolus* and *Phafia*. There are studies about the carotenoid production from yeast (Valduga et al, 2009a; Machado et al., 2019). The improvement of biotechnological carotenoid production processes involves increasing pigments productivity and reducing costs of production. Thus, several studies aimed to identify the source and concentration of carbon and nitrogen as well as the presence of salts and the optimum pH, temperature and stirring speed that mostly contribute for increasing pigments productivity in yeast (Yimyoo et al., 2011; Valduga et al., 2009b). The use of yeast for carotenoids production can be economically viable due to the possibility of use low-cost carbon source (Cardoso et al, 2017).

The innovative aspect of this experiment consists of proposing a viable alternative for the production of microbiological carotenoids, in addition to highlighting the predictive character of the microorganism in question, which was isolated in the semi-arid region of Bahia. The region that, despite the hot and dry character of the climate, reveals a high degree of biodiversity and points to the possibility of microorganisms from this biome, to present peculiar characteristics, and great resistance in relation to environmental conditions, including the possibility of withstanding the temperatures high, often used in industrial processes (Sena et al., 2006).

Thus, the present study aimed to maximize the production of carotenoids and biomass from the yeast *Sporidiobolus ruinenia*, using sugarcane juice supplemented with yeast extract as a low-cost cultivation medium.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. MICROORGANISM AND ITS MAINTENANCE

The strain of the yeast *Sporidiobolus ruinenia* was obtained from the collection of the Laboratory of Enzymology and Fermentation Technology of the State University of Feira de Santana.

2.2. PREPARATION OF THE CULTURE MEDIUM

The sugarcane juice was diluted in distilled water according to the experimental design and after the pH was adjusted with 5M HCl to pH 2.0. Experimental designs were employed for the optimization. After the pH adjustment, the sugarcane juice was boiled in water bath (40 min) and cooled to room temperature. The pH was adjusted to 6.0 with 1 M NaOH. Subsequently, the sugarcane juice was filtered to remove the precipitate and the other compounds were then added to it. The final pH was adjusted as experimental design and the medium was sterilized at 121°C/30 minutes (Bhosale and Gadre, 2001).

2.3. EXPERIMENTAL DESIGN

Two experimental designs were used to determine the optimal condition for growth and carotenoid production. The first experimental design was a complete factorial 2^3 and two variables were assessed in it: concentration of the sugarcane juice (5, 15 and 25%) and the yeast extract (0, 5 and 10 g L⁻¹).

The optimum value obtained from the first design was set and used during the second design which was performed according to Doelhart's design. It assessed the influence of agitation speed (130, 180 and 230 rpm) and initial pH (4.0, 5.0, 6.0, 7.0 and 8.0). The parameters used were based on data taken from the literature for related research (Maldonade et al 2012, Valduga et al, 2009, Valduga et al 2011)

2.4. CAROTENOID PRODUCTION.

To standardize the inoculum, isolated colonies were transferred to a Petri dish containing YM agar and incubated in a greenhouse at 28 °C for 24h. After this period, the colonies were diluted in 0.45% saline solution, and then held with a spectrophotometer at 600 nm in order to standardize the inoculum in 10^7 number of microorganisms. Fermentation was carried in erlenmeyer (250 mL) with 90 mL of the medium to be fermented and 10 mL of inoculum. After, the erlenmeyer flask cultures were incubated in orbital shaker. The fermentation conditions of its flask varied according to the experimental design.

2.5. EXTRACTION AND DETERMINATION OF CAROTENOIDS

After fermentation, cells were separated by centrifuging (4.000 g for 10 min) and were washed twice with distilled water. After, the cells were then dried at 85°C to a constant weight. The reducing sugar was measured by the 3,5-dinitrosalicylic acid method (Miller, 1959).

The ruptured of the cells were done with dimethylsulphoxide (DMSO) at 55°C, for 30 minutes and after the carotenoids were extracted with petroleum ether. The total carotenoid concentration (measured as β -carotene) in the petroleum ether extract was determined by measuring the optical density at 485 nm with the UV-VIS spectrophotometer using the absorption coefficient $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 2,592$ (Sedmak, 1990).

The total amount of carotenoids was spectrophotometrically estimated and expressed in $\mu\text{g L}^{-1}$, according to the following formulas:

Carotenoids ($\mu\text{g g}^{-1}$): $[A_{485} \times V \text{ (mL)} \times 10^4] / [A_{1\%}^{1\text{cm}} \times P]$ and Carotenoids ($\mu\text{g L}^{-1}$): $[A_{485} \times V \text{ (mL)} \times 10^4] / [A_{1\%}^{1\text{cm}} \times v]$. Where: A = absorbance (485nm) v = extract volume (ml), $A_{1\%}^{1\text{cm}}$ = absorption coefficient of torulene or β -carotene in petroleum ether (2,680 or 2,592), P = weight of sample (g). V = sample volume (Peterson et al, 1958).

2.6. CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS

For chromatographic analysis, extracts belonging to maximum pigment production were re-dissolved in acetone and individually injected into the chromatograph. The analysis was performed with high pressure liquid chromatography on a Hitachi model EZChrom Elite HPLC system equipped with a VRW HITACHI L-2130 pump, a VRW HITACHI L-2300 oven, a VRW HITACHI L-2455 Diode-Array Detector (DAD) coupled with an auto injector. It was used a reverse-phase HPLC column: LiChroCART Purospher Star® RP18-e (250 mm x 4.6 mm i.d., 5 μm) (Merck, Darmstadt, Germany) coupled with LiChroCART 4-4 LiChrospher 100RP18 (5 μm) (Merck, Darmstadt, Germany). The mobile phase consisted of water:acetone (5:95) with isocratic elution for 20 min. The column temperature was maintained at 25°C with a flow rate of 1 mL/min. An injection volume of 10 μL of the extract was used. Spectral data were recorded in 485 nm throughout the entire procedure (Valduga et al, 2009).

2.7. STATISTICAL ANALYSIS

The results were assessed through variance analysis (ANOVA) in the Statistic software, version 7.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, USA) (32), to verify the variables has statistically significant effects ($p < 0.05$ and $p < 0.1$), as well as the model fitting the experimental data. All assays were performed in random order.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. EFFECT OF CONCENTRATION OF SUGARCANE JUICE AND YEAST EXTRACT

The results of the optimization by *S. ruiginiae* are shown in table 1. The specific carotenoid production value obtained from the pigment concentration per gram of dry mass ($\mu\text{g g}^{-1}$) and the volumetric production obtained from the pigment concentration per liter of fermented medium were evaluated ($\mu\text{g L}^{-1}$).

Table 1. Doehlert planning matrix used and the averages of the responses: specific carotenoids ($\mu\text{g g}^{-1}$), total ($\mu\text{g L}^{-1}$), biomass (g L^{-1}) and residual sugar (g L^{-1}) in yeast *S. ruineniae*

Assay	Sugarcane juice (%)	Extract yeast (g L^{-1})	Carotenoids ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Carotenoids ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Biomass (g L^{-1})	Residual sugar (g L^{-1})
1	25.0	0.0	184.5	138.7	2.3	1.40
2	25.0	5.0	131.6	21.1	6.4	0,79
3	25.0	10.0	127.1	39.0	5.4	0.72
4	15.0	0.0	69.8	16.8	1.6	0.91
5	15.0	5.0	694.8	158.8	5.5	0.16
6	15.0	5.0	751.2	156.7	6.1	0.12
7	15.0	5.0	831.8	178.9	5.7	0.15
8	15.0	10.0	581.1	142.8	5.4	0.10
9	5.0	0.0	57.5	70.8	1.6	0.61
10	5.0	5.0	600.0	232.4	3.8	0.08
11	5.0	10.0	715.9	265.1	3.6	0.06

The data obtained revealed that the different concentrations of sugarcane juice and yeast extract have a great influence on cell growth and carotenoid biosynthesis.

The total carotenoids production varied from $57.5 \mu\text{g L}^{-1}$ to $831.8 \mu\text{g L}^{-1}$ (assays 9 and 7, respectively), specific production between $21.1 \mu\text{g g}^{-1}$ and $265.1 \mu\text{g g}^{-1}$ (assays 2 and 11). The biomass production already varied from 1.6g L^{-1} to 6.4g L^{-1} test (9 and 2).

The results indicate that the concentration of carotenoids is not completely associated with the concentration of biomass. The sugarcane juice, acts as a glucose source providing energy through its breakdown and consequent production of ATP, in addition to a carbon source to be assimilated for the biosynthesis of molecules (Liu and Wo, 2007). The yeast extract acts as an organic source of nitrogen. It is known that the presence of these two elements are indispensable conditions to promote the development of the primary metabolism of the microorganism, such as cell growth, as well as secondary metabolism, such as pigments.

The lower nitrogen content can result in nutritional deficiency, leading to a decline in product yield, while the higher concentration will result in greater cell mass Anzola-Rojas et al., (2015).

The results of carotenoid production and cell growth were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) with ($p < 0.05\%$). The quadratic effect was significant by the test based on the Fisher distribution (F-test) and p value. The Pareto chart diagram showed that the variables yeast extract and sugarcane juice has significant effect ($p < 0.05$).

The equations corresponding to the model proposed for carotenoids production and cell growth are shown in the following equations:

Equation 1:

$$Z = -272.2 + 66.8 X_1 - 2.1 X_1^2 + 192.8 X_2 - 10 X_2^2 - 3.5 X_1 X_2$$

Where Z = Concentration of carotenoids ($\mu\text{g/L}$); X_1 = sugarcane juice (%); X_2 = yeast extract (g L^{-1}).

Equation 2:

$$Y = 0.24 + 0.19 X_1 - 0.004 X_1^2 + 1.03 X_2 - 0.082 X_2^2 + 0.005 X_1 X_2$$

Where Y = Biomass yield (g/L); X_1 = sugarcane juice (%); X_2 = yeast extract (g L^{-1}).

The optimal values predict for maximum carotenoid production from *S. ruininae* yeast are sugarcane juice 9.0% and yeast extract 7.8 g L⁻¹ with maximum production of 787 μg L⁻¹. The optimal conditions for maximum biomass were sugarcane juice 25.5% and yeast extract 7.1 g L⁻¹ in order to get 6.6 g L⁻¹ as response (Figs 1 and 2) respective.

Figure 1. Response surface for the production of carotenoids (μg L⁻¹) concentration in function of sugarcane juice (%) yeast extract (g L⁻¹).

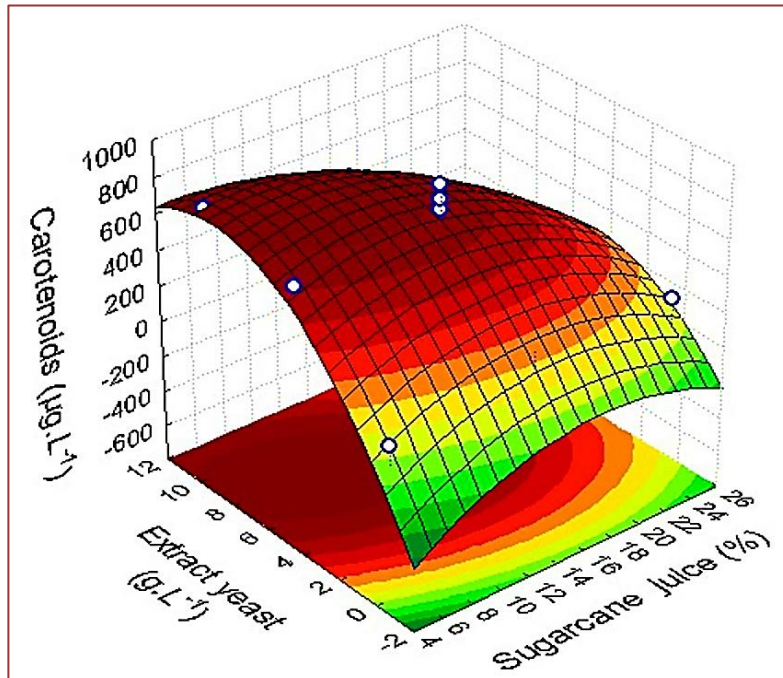
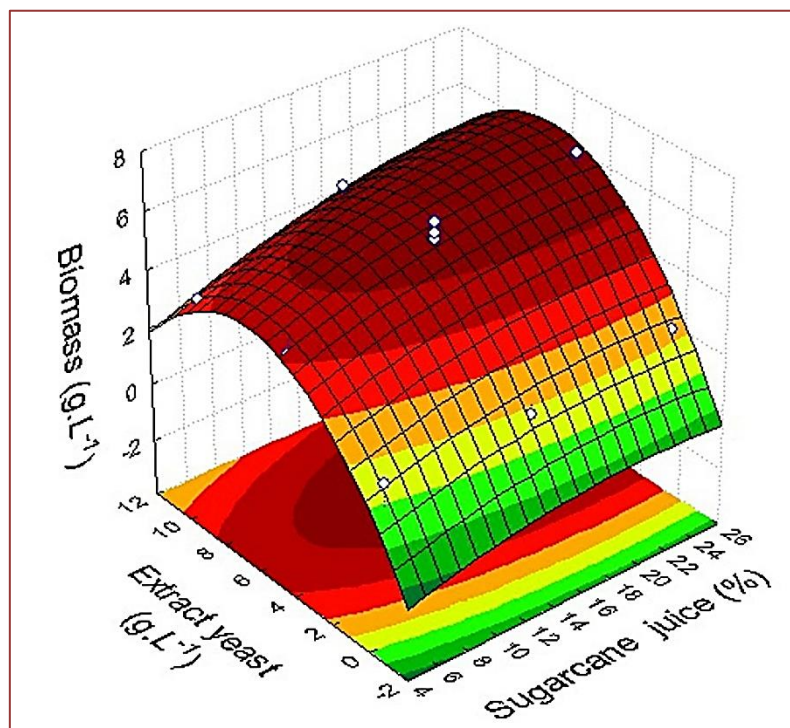


Figure 2. Response Surface for the production of biomass (g L⁻¹) as a function of the concentration of sugarcane juice (%) and yeast extract (g L⁻¹).



The residuals sugar content in all the assays indicates that the used carbon source was well assimilated by the microorganism.

Other authors have studied the optimization of carotenoid production in yeasts, using agro-industrial products as a means of cultivation. Bagy et al., (2016) used onion residues as a culture medium for *Rhodotorula glutinis* obtaining a carotenoid production of (27.4 mg L⁻¹).

Abdelhafez et al., (2016) when testing, sugarcane molasses as a culture medium for *Serratia marcescens* obtained a production of 1.1 mg L⁻¹ of β carotene. It is observed with these reports that the use of agro-industrial products for yeast growth and carotenoid synthesis represents an additional alternative to reduce process costs.

3.2. EFFECT OF AGITATION SPEED AND INITIAL PH

After optimizing the best conditions for pigment production and cell growth, the effect of the agitation speed and initial pH of the carotenoid production and biomass production was studied.

The highest predicted value for total carotenoid production (1.066,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) occurred at 180 rpm and using

an initial pH between 6.0 (Test 5). The highest specific production of 422.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ occurred when shaking was used speed of 180 rpm and initial pH 4.0 (test 3). The maximum biomass production 6.1 g L⁻¹ was obtained using the initial conditions of 180 rpm and an initial pH of 8.0 (test 7) (Table 2).

Table 2. Doehlert planning matrix used and the averages of the responses: specific carotenoids ($\mu\text{g g}^{-1}$), total ($\mu\text{g L}^{-1}$), biomass (g L⁻¹) and residual sugar (g L⁻¹) in yeast *Sporidiobolus ruinenia*.

Assay	Mixing Speed (rpm)	pH initial	Carotenoids ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Carotenoids ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Biomass (g L ⁻¹)	Residual sugar (g L ⁻¹)
1	230	5.0	534.61	295.9	2.5	0.09
2	230	7.0	561.67	232.4	2.7	0.11
3	180	4.0	1041.69	422.5	2.8	0.07
4	180	6.0	1000.66	358.9	3.1	0.09
5	180	6.0	1066.08	263.4	2.8	0.16
6	180	6.0	1030.27	311.15	2.9	0.15
7	180	8.0	973.77	279.8	6.1	0.20
8	130	5.0	514.78	312.1	2.9	0.41
9	130	7.0	455.26	159.0	3.4	0.33

It was observed that the pH interfered both in the production of carotenoids and in cell growth. The best pH values for cell growth are not the same for the production of carotenoids since, during the initial phase of the fermentation process, certain yeasts produce carbonic intermediates that tend to lower the pH of the medium leading to greater acidification, resulting in a possible reduction in the rate of cell growth. In contrast, these intermediate metabolites are subsequently reassimilated and stimulate carotenogenesis (Frengova et al., 1994).

The increase in carotenoid production based on agitation speed is justified because data from the literature indicate that in order to obtain an efficient culture and with high rates of cell growth, high consumption of the carbon source is necessary so that there is abundance in the generation of carbon dioxide and ATP, which requires the existence of dissolved oxygen. Thus, as the O₂ storage capacity in aqueous solutions is very low, it is necessary to promote the agitation of a culture medium so that the aerobic fermentation process is carried out efficiently (Branco et al., 2010).

According to Sharma and Ghoshal (2020) for aerobic organisms, oxygen is the key substrate for cell growth and other metabolic processes such as carotenoid synthesis.

The results of carotenoid production and cell growth were submitted to Analysis of Variance (ANOVA) with ($p < 0.05\%$). The quadratic effect was significant by the test based on the Fisher distribution (F-test) and p value. Pareto shows that the variable speed and agitation and pH had a significant effect ($p < 0.05$).

For the production of biomass, the test of lack-of-fit sum of squares ($F_{\text{cal.}} 48.2 > F_{\text{tab.}} 18.5$) indicates that there is lack of adjustment between the outcomes and the proposed model. Thus, this kind of model is not adequate to describe the relationships between the obtained responses and can no used to predictions.

The equation corresponding to the proposed model for production and production of carotenoids is presented in equations 3.

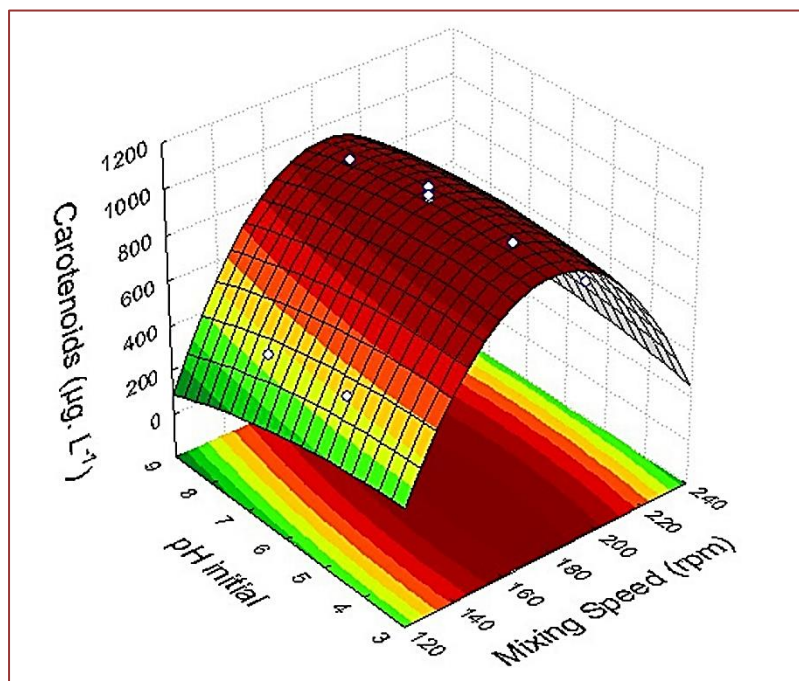
Equation 3:

$$Z = -5351.81 + 71.39X_1 - 0.20X_1^2 - 18.75X_2 - 6.09X_2^2 + 0.43X_1X_2.$$

Where Z = Concentration of carotenoids ($\mu\text{g L}^{-1}$); X_1 = agitation speed; X_2 = initial pH.

The response surface generated by the results (Fig. 3) shows that the production of carotenoids (g L^{-1}) depends on variations in the stirring speed and initial pH.

Figure 3. Response surface for the production of carotenoids ($\mu\text{g L}^{-1}$) function of mixing speed (rpm) and initial pH.



In similar research Chang and yang (2016) obtained the maximum production of carotenoids ($1.040,0 \mu\text{g L}^{-1}$) using a stirring speed of 180 rpm and an initial pH of 4.8. The results obtained by the present study were superior to those observed by other researchers using sugarcane juice. Banzatto et al. (2013) in the cultivation of *R. rubra*, reached $274 \mu\text{g L}^{-1}$ ($33 \mu\text{g g}^{-1}$). Otero et al., (2019), obtained as results with *R. glutinis* ($881 \mu\text{g L}^{-1}$), *R. graminis* ($594 \mu\text{g L}^{-1}$) and *R. mucilaginososa* ($487\text{-}590 \mu\text{g L}^{-1}$).

3.3. MODEL VALIDATION

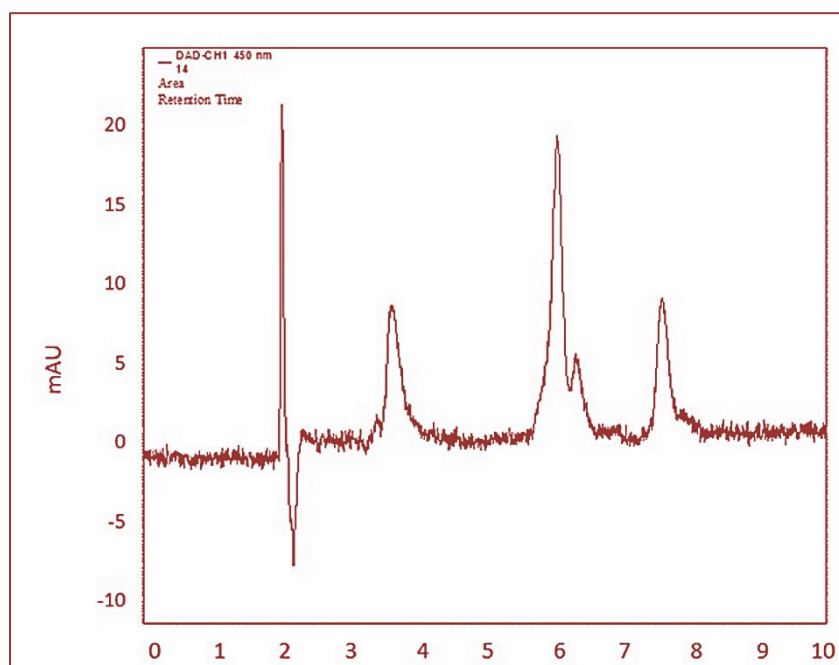
The proposed model was validated, and the optimal conditions obtained in this study were therefore tested in the concentration of sugarcane juice of 9.0%, yeast extract 7.8 g L^{-1} , initial pH of 4.8 and stirring

speed of 180 rpm a carotenoid production of $1.260,0 \mu\text{g L}^{-1}$ was obtained, indicating that the proposed model was valid.

3.4. IDENTIFICATION OF CAROTENOIDS

The pigments obtained were identified by HPLC as β -carotene (fig. 4). The results of the retention times are in line with those reported in other works (Squina, 2003).

Figure 4. HPLC chromatogram of carotenoids obtained from *S. ruineniae*



4. CONCLUSION

Optimizing carotenoid production in *S. ruineniae* yeast proved to be a viable process. The medium sugarcane juice supplemented with yeast extract is appropriate for production of cell yeast and carotenoids. Pigment production associated with stressing conditions, mainly involving low nutrition level, is a good indicator of process cost reduction when possibly applied in industrial scale. Thus, *S. ruineniae* yeast can be a promising microorganism for commercial carotenoids production by using diluted sugarcane juice as an inexpensive carbon source.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by FINEP, CAPES, CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa) and FAPESB (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia). We also thank the Programa de Pós-Graduação Recursos Genéticos Vegetais UEFS.

REFERENCES

- [1]. Abdelhafez, A.A., Hussein, S.M., Ali, A.A. Sanad, H.M. (2016) Optimization of β -carotene production from agro-industrial by-products by *Serratia marcescens* ATCC 27117 using Plackett–Burman design and central composite design, *Ann. Agric. Sci.*, 61. 87-96.
- [2]. Anzola-Rojas, M.D.P., Fonseca, S.J., Silva, C.C., Oliveira, V.M., Zaiat, M. (2015) The use of the carbon/nitrogen ratio and specific organic loading rate as tools for improving biohydrogen production in fixed-bed reactors, *Biotechnol.*, 5 46–54.
- [3]. Bagy, M.M.K., Abd-Alla, M.H., Nafady, N.A., Morsy, F.M. (2016) Mahmoud, G.A.E Bioconversion of plant wastes to β -carotene by *Rhodotorula glutinis* KU550702, *Eur. J. Biol. Res.*, 6, 226–241.

- [4]. Bhosale, P., Gadre, R.V. (2001) β -Carotene production in sugarcane molasses by a *Rhodotorula glutinis* mutant. *J. Ind. Microbiol Biotech.*, 26, 327–332.
- [5]. Branco, L.S.C.; Almeida, M.M.T.; Caetano, T.M; Pinto, G.A. S., Azeredo, H.M.C. (2010) Estudo da ampliação de escala na produção de biomassa por *Rhodotorula* sp. CNPAT-02 em processo batelada para obtenção de carotenóides. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química (CBEQ), p. 6926-6924.
- [6]. Cardoso, L.A.C.C., Kanno, K.Y.F., Karp, S.G. (2017) Microbial production of carotenoids –A review. *Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. Afr. J. Biotechnol.*, 16, 139-146.
- [7]. Cheng, Y.T., Yang, C.F.(2016) Usando a cepa *Rhodotorula mucilaginosa* para produzir carotenóides a partir de resíduos alimentares. *J. Taiwan Inst. Chem. E.*, 61, 270–275.
- [8]. Frengova, G., Simova, E., Pavlova, K., Beshkova, D., Grigorova, D. (1994) Formation of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* in whey ultrafiltrate. *Biotechnol Bioeng.*, 44, 888-894.
- [9]. Liu, Y.S.; Wu, J.Y.; Ho, K.P. (2006) Characterization of oxygen transfer conditions and their effects on *Phaffia rhodozyma* growth and carotenoid production in shake-flask cultures. *Biochem. Eng. J.*, 27,331–335.
- [10]. Machado, W.R.C., Silva, L.G., Vanzela E.S.L., Braz, V.L.D.B. (2011) Evaluation of the process conditions for the production of microbial carotenoids by the recently isolated *Rhodotorula mucilaginosa* URM 7409. *J. Food Technol., Campinas.* 22.
- [11]. Maldonado, I.R., Rodriguez-Amaya, D., Scamparini, A.R.P. (2012) Statistical optimisation of cell growth and carotenoid production by *Rhodotorula mucilaginosa*. *Braz. J. Microbiol.*, 43, 109-115.
- [12]. Mezzomo, N.; Sandra R.S. Ferreira, S.R.S. (2016) Carotenoids Functionality, Sources, and Processing by Supercritical Technology: A Review. *J. Chem.* 2016.
- [13]. Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31, 426-428
- [14]. Otero, D.M., Bulsing, B.A., Huerta, K.M., Rosa, C.A., Zambiasi, R.C., Burkert, C.A.V., Burkert, J.F.M. (2019) Carotenoid-producing yeasts in the brazilian biodiversity: isolation, identification and cultivation in agroindustrial waste. *Braz. J. Chem. Eng.*, 36, 117-129.
- [15]. Peterson, W.J., Evans, W.R., Ellein, L., Bell, T.A., Etchells, J.L. (1958) Quantitative determination of the carotenoids in yeasts of the genus *Rhodotorula*. *J. Bacteriol.* 75, 586-591.
- [16]. Sedmak, J.J., Weerasinghe, D.K., Jolly, S.O. (1990) Extraction and quantitation of astaxanthin from *Phaffia Rhodozyma*. *Biotechnol Tech.* 4, 107-110.
- [17]. Sena, A.R., Koblitz M.G.B., Neto A.G., Uetanabaro A.P.T. (2006) Seleção de fungos do semi-árido baiano secretores de hidrolases de interesse em alimentos. *Sitientibus.* 35:91-98.
- [18]. Sharma R, Ghoshal G. (2020) Optimization of carotenoids production by *Rhodotorula mucilaginosa* (MTCC-1403) using agro-industrial waste in Bioreactor: A statistical approach, *Appl. Biotechnol. Rep.*, 25.
- [19]. Squina, F.M., Mercadante, A.Z. (2003). Análise por CLAE, de carotenóides de cinco linhagens de *Rhodotorula*. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.*, 39: 309 -318.
- [20]. Valduga, E., Oliveira, P.O., Tiggemann, T.L., Zeni, J., Colet, R., Cansian, J.M., Treichel, H., Luccio, M. (2009a). Original article Evaluation of the conditions of carotenoids production in a synthetic medium by *Sporidiobolus salmonicolor* (CBS 2636) in a bioreactor. *Int. J. Food. Sci. Technol.*, 44, 2445–2451.
- [21]. Valduga, E., Valério, A., Treichel, H., Luccio, M.D. (2009b) Furigo Júnior, A. optimization of the production of total carotenoids by *Sporidiobolus salmonicolor* (CBS 2636) Using Response Surface Technique. *Food Bioprocess Tech.*, 2, 415–421.
- [22]. Valduga, E., Tatsch, P., Vanzo, L.T., Rauber, F., Luccio, M.D., Treichel, H.(2009c) Assessment of hydrolysis of cheese whey and use of hydrolysate for bioproduction of carotenoids by *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636. *J. Sci. Food. Agr.* 89, 1060–1065
- [23]. Valduga, E., Schwartz, C.R.M, Tatsch, O.P., Tiggemann, L., Luccio, M.D., Treichel, H. (2011) Evaluation of aeration and substrate concentration on the production of carotenoids by *Sporidiobolus salmonicolor* (CBS 2636) in bioreactor. *Eur. Food Res. Technol.*, 232, 453–462
- [24]. Yimyo, T., Yongmanitchai, W., Alimong, S. (2011) Carotenoid production by *Rhodospiridium paludigenum* DMKU3-LPK4 using glycerol as the carbon source. *Kasetsart. J. N. Sci.*, 45, 90-100

Capítulo 11

Extração assistida por micro-ondas de cafeína de café para utilização na formulação de um creme e um filme funcional para área dos olhos

Giovana Fernandes Teixeira

Rafaela Cristina Sanfelice

Mônica Hitomi Okura

Geoffroy Roger Pointer Malpass

Ana Claudia Granato Malpass

Resumo: A cafeína é um alcaloide amplamente utilizado em cosméticos devido à sua alta atividade biológica e capacidade de penetrar na pele, podendo melhorar a microcirculação dos vasos sanguíneos. Assim, a cafeína se torna um destaque para formulações cosméticas para a área dos olhos, uma vez que essa região possui uma pele fina permitindo sua permeação e, assim, auxiliando na atividade antienvhecimento. Esta pesquisa teve como objetivo produzir um creme e um filme funcional incorporados com cafeína. A extração de cafeína foi assistida por micro-ondas e o produto foi caracterizado por espectroscopia no ultravioleta-visível e infravermelho. Em seguida, uma formulação enriquecida em vitamina E com 3% de cafeína foi preparada além de filmes de alginatos de sódio incorporados de 5, 10 e 15% de cafeína, ambos os produtos para uso na área dos olhos. Logo após, foram realizadas as avaliações de estabilidade acelerada e estendida, bem como a segurança microbiológica da formulação a 3% de cafeína, enquanto a espessura, morfologia, solubilidade em água, grau de intumescimento, teor de umidade e opacidade. dos filmes de alginato incorporados com cafeína foram avaliados. A partir dos resultados obtidos, foi possível concluir que os produtos inovadores para a área dos olhos elaborados neste trabalho são estáveis e seguros para o uso, sendo o filme de alginato com a adição de 15% de cafeína o mais apto para ser utilizado como cosmético.

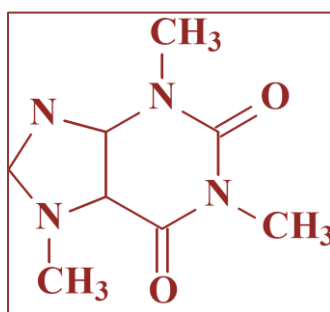
Palavras-chave: Cafeína, Cosméticos, Resíduos, Extração, Biofilmes

1. INTRODUÇÃO

O café é uma planta pertencente ao gênero *Coffea* da família *Rubiaceae*, descoberta na Etiópia, que possui grande relevância no contexto do agronegócio mundial e é comercializado em mais de 70 países, dos quais se destacam o Brasil, Vietnã, Colômbia e Indonésia. No Brasil, o café possui uma importância histórica no desenvolvimento do país e está consolidado como um dos principais produtos do agronegócio brasileiro, por possuir diversas regiões desenvolvedoras dessa cultura. Essa variedade de regiões produtoras e a extensão dessas áreas fazem com que o Brasil seja o maior produtor mundial de café e o segundo maior mercado consumidor (XIMENES & VIDAL, 2017).

A cafeína (Figura 1), 1,3,7-trimetilxantina, cuja estrutura contém um esqueleto de purina (DE MARIA & MOREIRA, 2006), é um alcaloide encontrado em café, chás e alguns refrigerantes e é conhecida como um estimulante suave do sistema nervoso central. Esse composto está sendo cada vez mais usado em cosméticos devido à sua alta atividade biológica, capacidade de penetrar na barreira da pele e de melhorar a microcirculação sanguínea dos vasos capilares, além de acelerar a drenagem do sistema linfático do tecido adiposo, o que acarreta redução do inchaço (Herman & Herman, 2013). De acordo com estudo realizado por Herman & Herman (2013), a adição de cafeína em formulações cosméticas de protetores solares auxilia na proteção contra a radiação ultravioleta (UV), o que ajuda na prevenção contra o câncer de pele e reduz a formação de radicais livres, evitando danos celulares.

Figura 1. Estrutura química da cafeína



Fonte: Dos autores, 2020

Os compostos polifenólicos são um grupo importante de metabólitos, os quais podem ser encontrados no extrato do café e que possuem uma ampla gama de propriedades fisiológicas, sendo que a mais requisitada está associada à sua atividade antioxidante e capacidade de neutralização dos radicais livres. (HEIM et al., 2002; DE LA LASTRA & VILLEGAS, 2005; BERNAL et al., 2010). Nesse sentido, nota-se que o extrato de café tem um amplo espectro de ações, pois possui uma grande aplicabilidade em diversos setores industriais, sendo um deles o de cosméticos.

Rodrigues et al. (2016), realizaram um estudo in vitro e in vivo do efeito da utilização de extrato de resíduo de café em um modelo de pele humana validado para avaliação da irritação e um modelo de olho em validação. Os resultados obtidos pelos autores em ambos os estudos revelaram que o extrato de resíduo de café é seguro em relação à pele e à irritação ocular.

Segundo dados da ABIHPEC (Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos), a indústria brasileira de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos apresentou um crescimento ininterrupto por mais de 20 anos. No entanto, o setor passou por uma forte crise em 2015-2016, voltando a crescer quase 3% na receita em 2017, crescimento quase três vezes maior que o PIB brasileiro (1%) (ABIHPEC, 2020).

Em 2019, a indústria de HPPC obteve alta de 1,5% entre janeiro e julho, quando comparado com o mesmo período do ano anterior (ABIHPEC, 2020). Além disso, de acordo com a *Euromonitor International*, o Brasil é o terceiro maior mercado consumidor do setor, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China, com 16,5% e 10,3% do consumo mundial, respectivamente (Euromonitor International, 2015).

Diante desses dados, percebe-se que os cosméticos estão cada vez mais presentes na vida dos brasileiros e a valorização da boa aparência e o aumento da expectativa de vida inspiram maiores cuidados e investimentos para a manutenção da jovialidade. Nesse sentido, os cuidados com a pele ganham destaque

no mercado, principalmente a área próxima aos olhos, uma vez que essa região é a mais fina, delicada e sensível do rosto.

A área dos olhos indica os primeiros sinais de envelhecimento da pele. Por ser mais fina, com o decorrer dos anos, é possível observar a aparição dos vasos sanguíneos através dessa região, o que lhe confere um aspecto inchado e escuro. Ademais, por não possuir proteção como outras regiões do corpo, a área dos olhos está sempre exposta e sofre bastante impacto, resultando no aparecimento de rugas, bolsas e olheiras (AMNUAIKIT, MANEENUAN & BOONME, 2011).

Assim esse trabalho se propôs na preparação de dois produtos cosméticos incorporando-se a cafeína: um creme neutro e filmes em matrizes alginato de sódio, ambos para serem utilizados na área dos olhos para redução de bolsas e escurecimento da pele.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

- **Extração da cafeína:** Foram utilizadas cápsulas de café da marca Tresspara a extração da cafeína. A extração foi realizada em um extrator assistido por micro-ondas (Modelo: configuração STARTS com terminal de controle 260, Milestone, Itália). Para tanto, pesou-se 0,1 grama de café, adicionou-se 10 mL de água mili-Q e a mistura foi inserida no extrator. Segundo Upadhyay, Ramalakshmi e Rao (2012), as condições ideais de extração da cafeína são temperatura a 50°C, potência a 800W e tempo de extração de 5 minutos. Após a extração assistida por micro-ondas, a cafeína contida no extrato foi separada por partição líquido-líquido utilizando-se clorofórmio como solvente na proporção 1:4. O solvente orgânico foi seco e a massa de cafeína obtida. O teor de cafeína em cada cápsula foi obtido através da **Equação 1**.

$$\text{Teor de cafeína} = \frac{\text{Massa obtida de cafeína}}{\text{Massa de extrato}} \cdot 100 \quad (1)$$

- **Espectroscopia no Infravermelho (IV):** Foi utilizado um equipamento da marca Bruker modelo Alph-T e o espectro foi obtido com a amostra da cafeína obtida no estado sólido, de acordo com DE MARIA & MOREIRA (2007).
- **Espectroscopia no Ultravioleta-visível (UV-vis):** Foi utilizado um equipamento Perkin Elmer modelo Lambda 25. As amostras foram analisadas, em solução de clorofórmio, através de sua absorção no comprimento de onda de 272 nm, como descrito por DE MARIA & MOREIRA (2007).
- **Preparação da formulação enriquecida com 3% de cafeína:** Para a preparação da formulação enriquecida com cafeína utilizou-se uma base de creme facial neutro (sem silicones, sem essências, sem petrolatos e sem parabenos) com alto teor de vitamina E, e adicionou-se a essa base 3% de cafeína.
- **Avaliação da Estabilidade Acelerada (EA) e da Estabilidade Estendida (EE) da formulação com 3% de cafeína:** O teste de EA foi realizado em triplicata e durante quinze dias, nos quais as amostras foram submetidas a diferentes temperaturas e avaliadas segundo os aspectos exigidos pela ANVISA (2004), cor e odor do produto, a cada três dias. Assim, as amostras foram mantidas em seis condições diferentes: na estufa à 45°C, no freezer à -5°C, na geladeira à 5°C, à 25°C com luz UV, à 25°C sem luz UV e em ciclos de 24 horas, em que se alternavam entre estufa e freezer. As amostras foram classificadas como normal (sem alteração), levemente modificada, modificada e intensamente modificada a cada 3 dias. A EE, também foi avaliada em triplicata e a metodologia de análise e as condições de temperatura foram as mesmas do teste de EA. Entretanto, foi realizado ao longo de 90 dias, com análises nos dias 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90.
- **Avaliação da Segurança Microbiológica:** As análises foram realizadas de acordo Lima et al. (2020), avaliando a presença de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* nos produtos desenvolvidos. Cada amostra avaliada foi transferida para 9 mL de meio Soja Caseína, a seguir a mistura foi incubada a 36 ± 1°C por um período de 24 a 48 horas. Em seguida, semeou-se em placas de Petri contendo Ágar Vogel Johnson para pesquisa de *Staphylococcus*, e Ágar Cetrimida para a pesquisa de *Pseudomonas*. Por fim, as placas foram incubadas a 36 ± 1°C por um período de 24 horas. Após o

período de incubação, observou-se o crescimento e as características das colônias. As análises foram feitas em triplicata.

- **Preparação dos filmes de alginato de sódio incorporados com cafeína:** Os filmes de alginato de sódio foram obtidos seguindo a técnica de casting de acordo com a metodologia de Norajit et al (2010) modificada. Pesou-se 20 gramas de alginato de sódio e 0,1 grama de cloreto de cálcio e dissolveu-se ambos em 1 L de água destilada a 80°C com agitação mecânica. Em seguida, foi adicionado 1,5 gramas de glicerol por grama de alginato de sódio e a cafeína com 5, 10 e 15% em massa em relação ao alginato de sódio, separadamente. A solução formadora de filme foi depositada em formas de silicone e secas em estufa a 40°C por 24 horas. Após a secagem, os filmes foram mergulhados em uma solução de cloreto de cálcio a 2% por 30 minutos e secos novamente a 40°C até que soltassem das formas facilmente.
- **Caracterização dos filmes:** Os filmes foram caracterizados quanto à espessura, aspecto visual, morfologia, conteúdo de umidade, solubilidade em água, grau de intumescimento (*swelling*) e opacidade. O controle da espessura dos filmes foi determinado utilizando-se um micrômetro digital (MITUTOYO, modelo MDC-25S, resolução 0,001mm, EUA) e um paquímetro digital (JOMARCA, REFNO205509, resolução de 0,01mm). A espessura final foi calculada pela média aritmética de dez medidas aleatórias sobre uma área fixa. A análise visual e tátil dos filmes foi realizada de forma subjetiva (Rodrigues, 2020). Os filmes foram avaliados considerando parâmetros como homogeneidade (ausência de partículas insolúveis e coloração uniforme), continuidade (ausência de rupturas ou fraturas após a secagem), flexibilidade, facilidade de desprendimento do suporte e facilidade de manuseio. A superfície dos filmes foi estudada através de Microscopia Ótica. Essas análises foram realizadas utilizando-se de um microscópio digital Opton (Modelo TIM – 2008T) acoplado a um computador e uma câmera. A massa total (M_i) de uma amostra de filme foi quantificada e na sequência levada em estufa mantida a 105°C durante 24 horas. Após este período, foi possível obter a massa seca final (M_{sf}). O conteúdo de umidade do filme (W) é expresso em função da massa seca inicial do filme através da **Equação 2** (Rodrigues, 2020).

$$W = \frac{M_i - M_f}{M_i} \cdot 100 \quad (2)$$

Na qual:

W – é a umidade final do filme (%);

M_i – é a massa inicial da amostra (g);

M_{sf} – é a massa seca final da amostra (g).

A solubilidade do filme (S) é expressa em função da massa seca inicial do filme através da **Equação 3** (Rodrigues, 2020). A massa seca inicial (M_{si}) de uma amostra de filme foi determinada por balança analítica. Em seguida, foi imersa em excesso de água destilada e o sistema mantido sob agitação branda a 25°C por 24 horas, utilizando-se um Shaker orbital. A massa seca final (M_{sf}) foi verificada submetendo-se esta amostra à secagem (105°C/ 24 horas).

$$S = \frac{(M_{si} - M_{sf})}{M_{si}} \cdot 100 \quad (3)$$

Na qual:

S – é a quantidade de matéria solúvel (%);

M_{si} – é a massa inicial da amostra (g);

M_{sf} – é a massa seca final da amostra (g).

O grau de intumescimento (GI) é calculado segundo a **Equação 4** (Rodrigues, 2020). A massa inicial total (M_i) de uma amostra de filme foi quantificada e o material foi imerso em água destilada durante diferentes períodos de tempo. A cada 10 minutos o filme era retirado da água, sua massa total (M_u) determinada e colocado em água novamente. Esse processo foi repetido até a estabilização da massa do filme. O excesso de umidade na superfície das amostras foi retirado, colocando o filme entre duas folhas de papel de filtro, antes de cada pesagem.

$$GI = \frac{(M_u - M_i)}{M_i} \quad (4)$$

Na qual:

GI – é o Grau de Intumescimento do filme;

M_u – é a massa da amostra retirada da solução (g);

M_i – é a massa inicial da amostra (g).

A opacidade foi determinada de acordo com Siripatrawan e Harte (2010) por meio de um espectrofotômetro medindo-se a absorvância do filme a 600 nm. Os filmes foram cortados em peças retangulares e colocados diretamente em uma célula de teste do espectrofotômetro. Uma célula de teste vazia foi usada como referência. A opacidade dos filmes foi calculada pela **Equação 5**, na qual os altos valores de T indicam menor transparência e maior grau de opacidade.

$$T = \frac{Abs_{600}}{x} \quad (5)$$

Na qual:

T - é a transparência;

Abs₆₀₀ - é o valor da absorvância em 600 nm;

x - é a espessura do filme (mm).

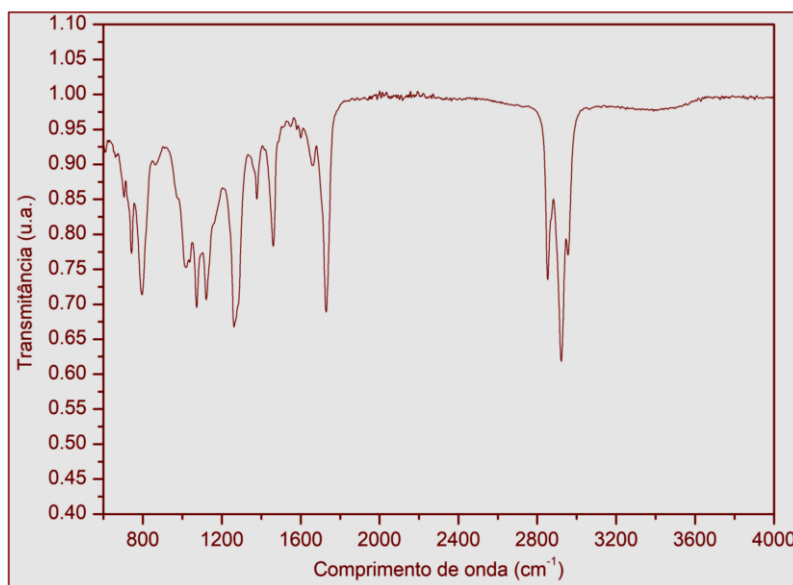
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Extração da cafeína: Ao realizar a extração, obteve-se uma massa de 0,0154 g de amostra. Desse modo, o teor de cafeína na amostra foi de 2,2%.

Caracterização da cafeína: A caracterização da cafeína extraída foi realizada por UV-vis e IV. Na espectroscopia no UV-vis, a amostra apresenta elevada absorção entre os comprimentos de onda de 271 e 275 nm. A absorção nessa região foi como descrito por DE MARIA & MOREIRA (2007) como sendo os comprimentos de ondas característicos da cafeína.

A partir da espectroscopia no IV (**Figura 2**) foi possível determinar as bandas características da cafeína como sugerido por DE MARIA & MOREIRA (2007) nas regiões espectrais de 1500-1800 e de 2800- 3000 cm^{-1} , característica de C=O e de C-N, respectivamente.

Figura 2. Espectro de infravermelho da cafeína.



Legenda: a) Cafeína extraída de cápsulas de café não usadas; b) Cafeína de cápsulas já utilizadas.

Fonte: Dos autores, 2020.

Testes de Estabilidade Acelerada (EA) e Estendida (EE): Com o objetivo de acelerar possíveis reações entre seus componentes e o surgimento de sinais que devem ser observados e analisados conforme as características específicas do produto foi empregado o teste de EA, o qual submeteu as amostras do creme a diferentes temperaturas. Assim, a amostra 1 foi disposta na geladeira, a 2 no freezer, a 3 na estufa, a 4 foi mantida à 25°C com luz UV e a 5 foi mantida à 25°C com luz UV. A amostra 6 foi submetida ao ciclo de 24 horas na estufa e 24 horas no freezer. Os resultados obtidos durante os quinze dias de análise estão indicados na **Figura 3 (A)**.

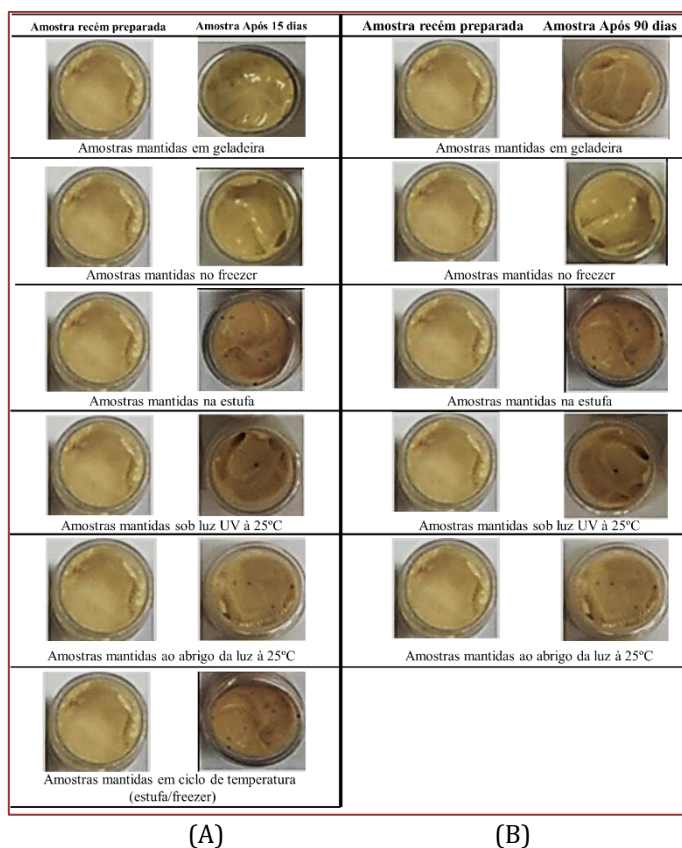
As amostras foram analisadas com a avaliação dos aspectos exigidos pela ANVISA a cada três dias. Ao final dos quinze dias de investigação, notou-se que a amostra submetida a variação diária de temperatura (amostra do ciclo) obteve uma leve modificação em sua cor, que se apresentou mais escura. As demais amostras foram classificadas como normais e sem alterações.

A EE foi avaliada com as mesmas condições do teste de EA, entretanto, foi realizado ao longo de 90 dias. Neste intervalo as mesmas características foram avaliadas, aspecto, cor e odor do produto, segundo os mesmos critérios apresentados anteriormente. A Figura 3 (B) indica os resultados encontrados.

Qualquer produto que contenha em sua formulação materiais de base oleosa e esses ficarem exposto ao ar ou em temperaturas extremas podem se degradar por oxidação (CORDEIRO et al., 2013). As amostras mantidas em estufa e em ciclo de temperatura tiveram significativo escurecimento, especialmente, a amostra mantida em ciclos de temperatura, como mostra a Figura 9. Esse estudo comprova que os extremos de temperatura facilitam a oxidação dos compostos presentes na amostra, como já era esperado.

Outro fator responsável pela reação de oxidação é a ação da luz UV (GALEMBECK; CSORDAS, 2009). As amostras estudadas expostas a radiação UV tiveram uma sutil atenuação da cor em relação ao início das análises, como demonstra a Figura 9. Assim, pode-se concluir que não houve degradação da amostra por oxidação causada pela luz UV.

Figura 3. Foto das amostras submetidas aos Testes de EA (A) e EE (B).



(A) (B)

Fonte: Dos autores, 2020.

Segurança microbiológica

Quando se tem produtos não-estéreis é preciso realizar testes para se detectar microrganismos patogênicos presentes nesses produtos a fim de mostrar se o produto satisfaz às exigências microbiológicas. O teste de segurança microbiológica foi realizado com as amostras recém preparadas e após 90 dias de preparo, avaliando a presença de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Após a realização do teste, constatou-se que não houve crescimento de microrganismos patogênicos nas amostras, sendo as amostras seguras do ponto de vista microbiológico no início e após 90 dias de preparo.

Espessura dos filmes de alginato incorporados com cafeína: A média aritmética e o desvio padrão foram calculadas para cada filme estudado e os resultados estão dispostos na **Tabela 1**.

Tabela 1. Espessura dos filmes preparados.

	Branco	5% de cafeína	10% de cafeína	15% de cafeína
Espessura (mm)	0,249	0,296	0,321	0,402
Desvio padrão	0,042	0,043	0,076	0,097

Fonte: Dos autores, 2020.

Após a realização desses ensaios, verificou-se que os filmes desenvolvidos apresentaram variações de espessura entre 0,17 a 0,62 mm. Os filmes apresentaram diferenças significativas na espessura, analisando que quanto maior a quantidade de cafeína aplicada na formulação, mais espesso se tornou o filme.

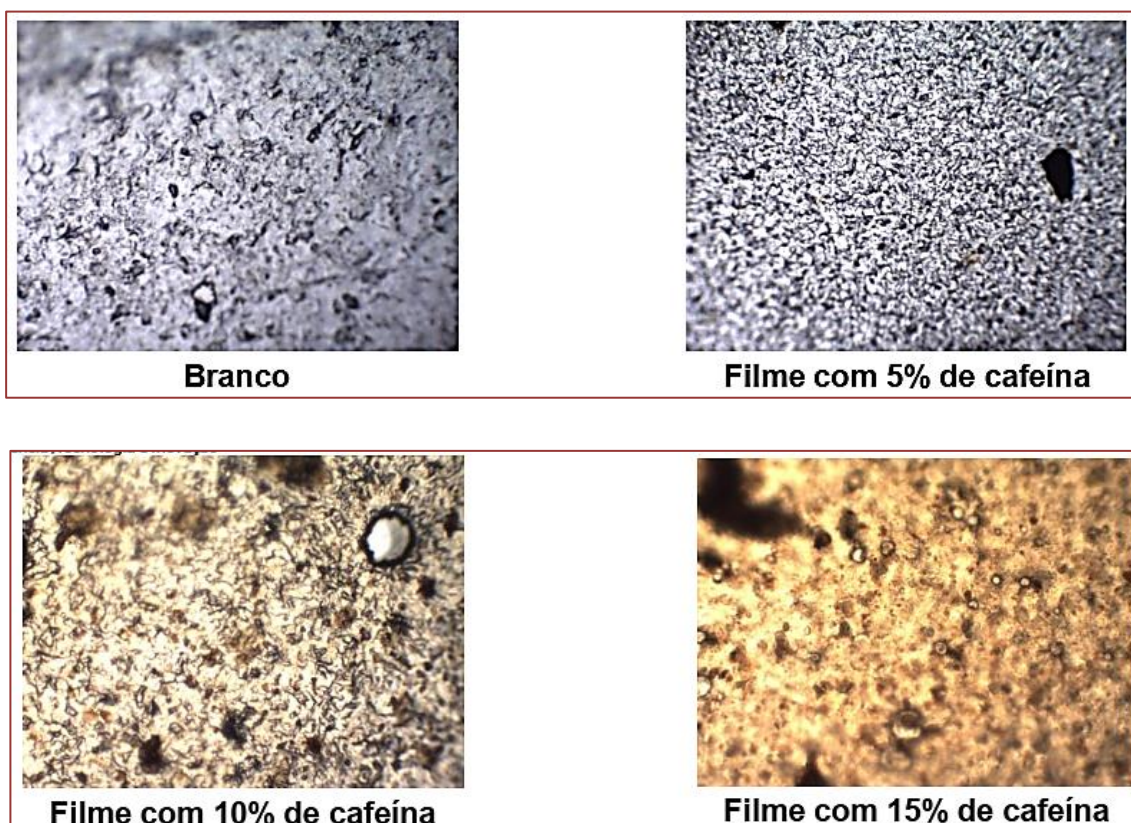
Aspecto visual

Para cada tipo de filme produzido foram realizadas análises visuais e tácteis, visando identificar filmes homogêneos, que apresentassem continuidade e possibilitassem o manuseio. Os filmes que não apresentaram tais características foram desconsiderados para análises posteriores. Verificou-se que os filmes apresentam brilho plástico e aspectos homogêneos quanto cor e textura. Todos os biofilmes apresentaram uma coloração que variou de branca opaca a amarela/marrom em virtude das características naturais do alginato de sódio e da cafeína, respectivamente. Notou-se também, boa flexibilidade dos filmes, facilitando o manuseio dos mesmos devido a presença de glicerol, como agente plastificante.

Análise da morfologia dos filmes : A caracterização dos filmes através da microscopia é de grande importância quando se deseja obter uma melhor compreensão do comportamento dos filmes. Assim, a **Figura 4** apresenta a micrografia dos filmes preparados.

É possível observa-se que os filmes de alginato na ausência (branco) e na presença de 5% de cafeína apresentam uma superfície homogênea. Entretanto, nos filmes com incorporação de cafeína em 10 e 15% é possível notar a formação de domínios localizados. É possível inclusive verificar que a coloração do filme é bastante diferente nas três concentrações estudadas, o aumento da concentração de cafeína deixou o filme mais amarelo/marrom. Assim, para a utilização desses filmes como filme funcional, sugere-se a utilização do filme de alginato com incorporação de cafeína em 5% por apresentar uniformidade na distribuição do composto ativo na matriz polimérica.

Figura 4. Micrografia dos filmes de alginato e alginato com incorporação de cafeína.



Fonte: Dos autores, 2020.

Conteúdo de umidade dos filmes (W): Por meio da **Equação 2**, o teor de umidade contido nos filmes foi calculado. Como a avaliação foi feita em triplicata, o resultado foi encontrado através da média aritmética. Os resultados e desvio padrão encontram-se na **Tabela 2**.

Tabela 2. Porcentagem de umidade nos filmes

	Branco	5% de cafeína	10% de cafeína	15% de cafeína
W (%)	14,079	13,978	13,264	13,189
Desvio padrão	0,312	0,488	0,169	0,736

Fonte: Dos autores, 2020.

Observou-se que não houve uma grande variação na umidade nas diferentes condições. As amostras do branco apresentaram uma maior porcentagem, devido ao fato de possuírem mais espaço em sua rede polimérica para a água ser absorvida. Nesse sentido, o padrão observado foi que com o aumento da concentração de cafeína, observa-se diminuição do conteúdo de umidade. Isso ocorre porque a cafeína ocupou os locais na rede polimérica que a água ocuparia, portanto, com o aumento da concentração de cafeína diminui-se a possibilidade de absorção de água pela matriz e com isso o seu teor de umidade.

Solubilidade em água dos filmes (S): Turhan et al. (2004), argumentam que a baixa solubilidade de filmes indica a existência de alta coesividade da matriz polimérica através das fortes ligações entre as cadeias. A **Tabela 3** apresenta as variações ocorridas nos valores de solubilidade dos filmes de alginato ao adicionar cafeína à solução filmogênica. Observa-se que o aumento da concentração de cafeína, a solubilidade dos filmes em água também aumenta. Isso pode ter acontecido provavelmente por uma reticulação compacta na superfície dos filmes (TURBIANI; KIECKBUSCH; GIMENES, 2011) contendo maior concentração do extrato, não permitindo a difusão de íons Ca^{2+} (cátion responsável pela formação da estrutura tipo *egg-box*) para o interior da matriz, o que resulta em maior solubilidade em água.

Tabela 3. Solubilidade de filmes em água

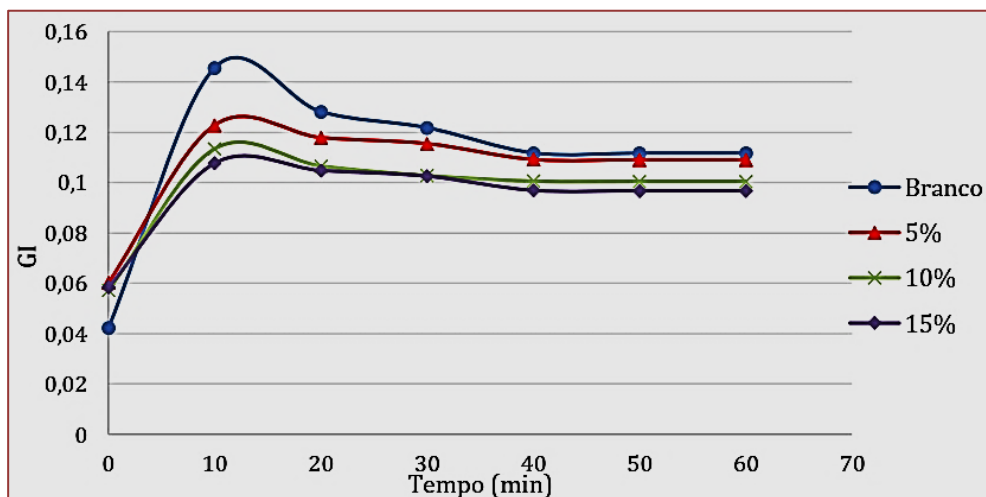
	Branco	5% de cafeína	10% de cafeína	15% de cafeína
S (%)	26,005	26,140	27,844	29,365
Desvio padrão	0,383	0,167	0,778	0,544

Fonte: Dos autores, 2020.

Grau de intumescimento dos filmes (Swelling): A partir dos experimentos realizados e a utilização da **Equação 4** foi possível calcular o grau de intumescimento das amostras. Como o teste foi realizado em triplicata, foi feita a média aritmética dos valores e esses foram utilizados para a construção do gráfico da **Figura 5**.

Observando o gráfico **Figura 5**, percebe-se que com 10 minutos na água os filmes intumesceram, absorveram a água e aumentaram suas massas. Porém a partir de 20 minutos eles começam a perder massa e a diminuir seu grau de intumescimento. Nota-se a formação de um máximo de absorção de água, o qual pode ser explicado pelo fato de que a água é rapidamente absorvida pelo filme e então promove uma relaxação de sua estrutura reticular. Assim, segundo Turbiani, Kieckbusch, Gimenes (2011), a diminuição do grau de intumescimento ocorre não só pela menor retenção de água pela estrutura reticular enfraquecida, mas também pela perda de massa lixiviada. A diminuição dos valores de GI para as diferentes condições das amostras (branco, 5% de cafeína, 10% de cafeína e 15% de cafeína), provavelmente, é devida ao aumento da concentração da cafeína, que ocupa cada vez mais espaço da rede polimérica onde as moléculas de água se fixariam.

Figura 5. Grau de intumescimento em função do tempo



Fonte: Dos autores, 2020.

Opacidade: A opacidade de um material revela sua capacidade de bloquear ou não a passagem da luz. A fim de se quantificar a transparência foram medidas as absorvâncias na região do visível (em 600 nm) dos filmes de alginato com e sem incorporação do extrato de cafeína e os resultados são apresentados na **Tabela 4**. Ao examinar a **Tabela 4** fica claro que a opacidade encontrada nas amostras de 5% foi maior que nas amostras de 10%, ao contrário do que se esperava. Provavelmente isso ocorre devido à maior homogeneidade do filme contendo 5% de cafeína, que se espalha melhor ao longo de todo o filme, diminuindo a sua transparência. De acordo com a **Equação 5**, os altos valores de T indicam menor transparência e maior grau de opacidade. Assim, as amostras de 15% de cafeína são as mais opacas, seguidas das de 5%, 10% e o branco, respectivamente.

Tabela 4. Média da absorvância, espessura e transparência dos filmes

	Branco	5% de cafeína	10% de cafeína	15% de cafeína
Média Abs 600	0,071	0,214	0,168	0,587
Espessura	0,249	0,296	0,321	0,402
Transparência	0,285	0,722	0,523	1,460

Fonte: Dos autores, 2020.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos é possível afirmar que a extração assistida por micro-ondas de cafeína do café é muito eficiente. A formulação hidratante com incorporação de 3% de cafeína apresentou alterações na coloração em algumas amostras, especialmente, na amostra mantida em ciclos de temperatura, o que era esperado. Contudo, as análises de estabilidade e segurança microbiológica mostraram que a formulação está de acordo com as especificações exigidas pela ANVISA. Já com base nos resultados da avaliação dos filmes de alginato com incorporação de cafeína, a incorporação de 5% de cafeína apresentou uma melhor uniformidade na distribuição da cafeína pela superfície. Porém, a adição de 15% de cafeína na matriz polimérica apresentou melhores resultados para ser utilizado como cosmético, por apresentar maior concentração de cafeína, maior solubilidade em água, uma maior espessura, indicando uma maior quantidade de soluto e, conseqüentemente, possuindo um teor de umidade e grau de intumescimento menor que as demais amostras.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem à CAPES, ao CNPq e à FAPEMIG.

REFERÊNCIAS

- [1]. AMNUAIKIT, T.; MANEENUAN, D. & BOONME, P. Evaluation of Caffeine Gels on Physicochemical Characteristics and In Vivo Efficacy in Reducing Puffy Eyes. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v.01, p.56-59, 2011.
- [2]. ANVISA, Séries Temáticas - Cosméticos, volume 1 Guia de Estabilidade de Produtos cosméticos, 2004. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cosmeticos.pdf>.
- [3]. Associação Brasileira Da indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC). Caderno de Tendências. Disponível em: <https://m.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/Anexos/CADERNO%20DE%20TENDENCIAS%202019-2020%20Sebrae%20Abihpec%20vs%20final.pdf>. Acesso em: 10 nov.2020.
- [4]. CAMPOS-VEGAA, R.; LOARCA-PIÑAA, G.; VERGARA-CASTAÑEDA, H. A.; OOMA, B. D. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*, v.45, p.24-36, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.012>
- [5]. CORDEIRO, M. S. F.; COSTA, J. K. B.; LIMA, C. G.; JUNIOR, J. D. C. C.; MELO, A. F. M. Desenvolvimento tecnológico e avaliação de estabilidade de gel dermatológico a partir do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe). *Revista Brasileira de Farmácia*, v.94, p.148-153, 2013.
- [6]. DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Cafeína: Revisão sobre Métodos de Análise, *Química Nova*, v. 30, n.1, p.99-105, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100021>
- [7]. EUROMONITOR INTERNATIONAL, 2015. Disponível em: <https://blog.euromonitor.com/confira-nossa-apresentacao-na-in-cosmetics-brasil-2015/>. Acesso em: 10 nov. 2020.
- [8]. GALEMBECK, F.; CSORDAS, Y. *Cosméticos: a química da beleza*. 2.ed. Rio de Janeiro: Ed., Larousse do Brasil, 2009.
- [9]. HERMAN, A.; HERMAN, A.P. Caffeine's Mechanisms of Action and Its Cosmetic Use. *Skin Pharmacological Physiology*, v.26, p.8-14, 2013. <https://doi.org/10.1159/000343174>
- [10]. LIMA, L. J. A.; COMINATO, L.; OLIVEIRA, H. M.; DOS SANTOS, W. O.; MALPASS, G. R. P.; OKURA, M. H.; MALPASS, A. C. G. Lip balm using cinnamon oleoresin and essential oil: microbiological safety assessment with accelerated and extended stability Research, Society and Development, v. 9, n. 9, p.1-19, 2020. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7544>
- [11]. MURTHY, P. S.; NAIDU, M. M. Sustainable management of coffee industry byproducts and value addition—A review. *Resources, Conservation and Recycling*, v.66, p.45-58, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005>
- [12]. NORAJIT, K., & RYU, G. H. (2011). Preparation and properties of antibacterial alginate films incorporating extruded white ginseng extract. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35, 387-393. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2010.00479.x>
- [13]. RODRIGUES, F.; MATIAS, R.; FERREIRA, AMARAL, M.; M. H.; OLIVEIRA M. B. P.P. In vitro and in vivo comparative study of cosmetic ingredients Coffee silverskin and hyaluronic acid. *Experimental Dermatology*, v.25, p.572-574, 2016.
- [14]. RODRIGUES, G. A.; DOS SANTOS, W. O.; MALPASS, G. R. P.; OKURA, M. O.; SANFELICE, R. C.; MALPASS, A. C. G. *Evaluation of the physicochemical and antibacterial properties of films based on biopolymers incorporating Zingiber officinale extract*. Research, Society and Development, v. 9, p.1-19, 2020. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6199>
- [15]. SIRIPATRAWAN, U. & HARTE, B. H. Physical properties and antioxidant activity of a Journal of the Science of Food and Agriculture n active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, v.24, p.770-775, 2010. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2010.04.003
- [16]. TURBIANI, F. R. B.; KIECKBUSCH, t. G.; GIMENES, m. L. Liberação de benzoato de cálcio de filmes de alginato de sódio reticulados com íons cálcio. *Polímeros*, vol.21, pp.175-181, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282011005000034>
- [17]. UPADHYAY, R.; RAMALAKSHMI, K.; RAO, L. J. M. Microwave-assisted extraction of chlorogenic acids from green coffee beans. *Food Chemistry*, v.130, p.184-188, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.057>
- [18]. XIMENES, L. J. F.; VIDAL, M. de F. Produtor de café no Brasil: mais agro e menos negócio. n.12. [S.I.]: Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste – ETENE. 2017.

Capítulo 12

Estudo e montagem de um sistema de treinamento operacional de processos químicos

*Anna Carollyne Silva de Lima
Sidinei Kleber da Silva*

Resumo: Na realização do estudo de um processo, diversas vezes é perceptível a não equivalência com a realidade de sua operação, sendo assim, sistemas de treinamento operacional tornam-se ferramentas de fundamental importância e de baixo custo para segurança e experiência do operador. Os STO's permitem a interação direta com a planta, assim, problemas causados por distúrbios nas variáveis podem ser solucionados sem causar riscos reais. As torres de resfriamento são equipamentos bastante empregados na reutilização da água como fluido refrigerante em processos, já que permitem troca térmica de calor com ar para que a água retorne fria às correntes do sistema. O sistema de resfriamento de água de processo de uma planta em escala de bancada foi escolhido como estudo de caso para realização do projeto e simulado com o auxílio dos simuladores *Aspen Plus*® e *Aspen Plus Dynamics*®. Para o monitoramento durante as atividades, foi criada uma interface no supervisor *Indusoft*® que permite ao operador um total controle na operação da planta e a geração de relatórios em tempo real. A troca dos dados obtidos, realizada através do servidor de comunicação OPC *Matrikon*®, apresentou desempenho satisfatório durante a operação na escrita e leitura das variáveis de treinamento.

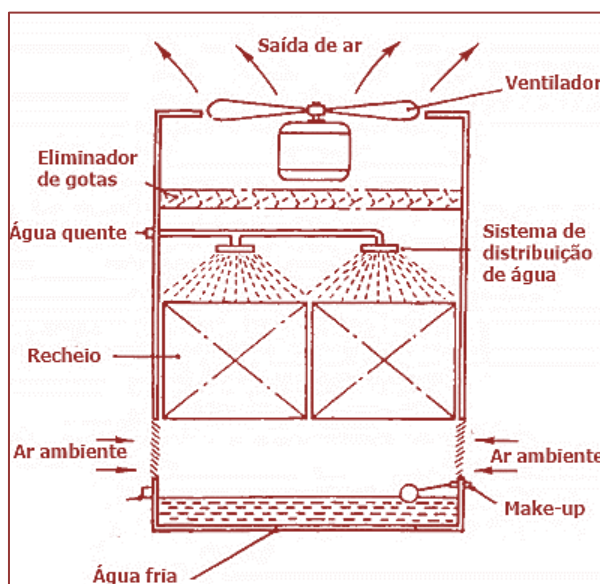
Palavras-chave: Torre de resfriamento, STO, Servidor OPC.

1. INTRODUÇÃO

Em indústrias, o controle de temperatura dos processos químicos muitas vezes é feita através da troca de calor por fluidos. Partindo de um consciente uso dos recursos naturais, as torres de resfriamento são equipamentos aliados à sustentabilidade uma vez que, ao utilizar água como fluido de resfriamento, o descarte na natureza é reduzido ao resfriar e reutilizar esta água no controle térmico e, assim, reduzir custos.

A função das torres de resfriamento é transmitir o calor removido do processo para a atmosfera. Desse modo, a água aquecida entra na parte superior da torre, escoar por um difusor através do recheio e, devido à remoção do ar quente do interior da torre por aspiração, chega à base resfriada. Este funcionamento é esquematizado na Figura 1.

Figura 1- Esquema de funcionamento da torre de resfriamento.



Fonte: Adaptado de HILL et al., 1990.

O estudo das torres se torna importante porque depende de outros equipamentos envolvidos no processo nos quais ocorre a circulação da água para troca de calor como, segundo FERREIRA (2012), condensadores de usinas de geração de potência, ou de instalações de refrigeração e trocadores de calor no geral. Assim, no que se diz respeito à experimentação e didática, uma planta de refrigeração de água abrange uma vasta área de conhecimento principalmente em transporte, transferência de energia e nas operações unitárias.

A maior parte dos acidentes industriais ocorrem devido a treinamento inadequado, tanto na manipulação de variáveis de processo quanto a respeito dos procedimentos de segurança para operações e manutenção da planta de processo (MENDONÇA, 2017), a utilização de um STO para uma planta torna-se fundamental tanto para o conhecimento do processo em questão como um todo, quanto para supervisão do funcionamento e a validação das variáveis envolvidas.

Embora muitos processos industriais possam ser simulados por softwares, a aplicação de um STO para uma planta de resfriamento em escala de bancada torna a análise do processo mais realístico. Desse modo, além da partida e desligamento da planta utilizada, mudanças bruscas nos valores das variáveis podem ser estudadas em tempo real, tanto por modificação do operador quanto por alterações que dependem das condições externas, por exemplo, com a temperatura.

Um supervisor SCADA (Sistemas de Supervisão e Aquisição de Dados) *InduSoft®*, através de comunicação OPC (OLE [Object Linking and Embedding] for Process Control) *Matrikon®*, recebe os dados que podem ser simulados em *Aspen Plus®* e *Aspen Plus Dynamics®* e permite, desse modo, ao operador em treinamento a atuação e geração de relatórios das atividades executadas.

2. METODOLOGIA

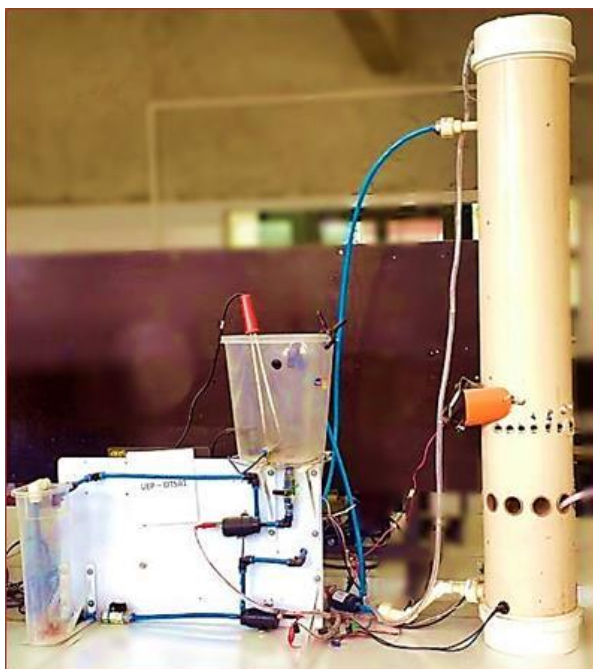
Neste tópico serão descritas as metodologias utilizadas nas simulações em regime estacionário e transiente, assim como a comunicação do servidor *Matrikon*® com os clientes *Indusoft*® e pacote *Aspen*®. Os resultados obtidos serão apresentados no tópico seguinte.

2.1. PLANTA DE RESFRIAMENTO DE ÁGUA EM ESCALA DE BANCADA

A planta a ser utilizada neste projeto é um kit educacional (Figura 2) proposto como patente N° BR2020160234706, localizada no Laboratório de experimentação Didático- Industrial (LEDI).

A torre de resfriamento da planta é do tipo evaporativa por contato direto e de aspiração mecânica, seu recheio consiste em duas camadas de diferentes materiais: uma de três pratos de plástico perfurados e outra de duas camadas de barras de alumínio vazadas. Juntas, todas as camadas resultam numa altura de, aproximadamente, 5 cm. Existem aberturas laterais com bitola de $\frac{3}{4}$ pol, que permitem a entrada o ar ambiente, direcionam e evitam que a água escoe para fora da torre.

Figura 2 – Planta de resfriamento de água em escala de bancada.

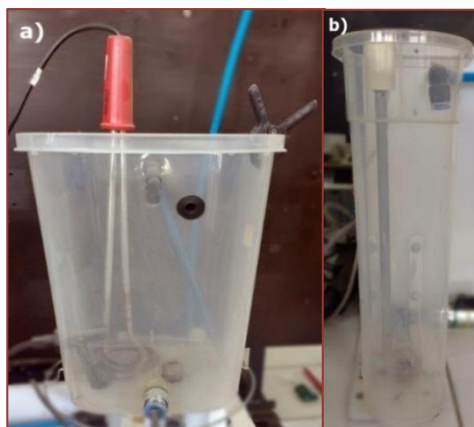


Fonte: pela autora (2018).

Dos componentes do kit, o Tanque 1, na Figura 3a, trata-se de um sistema de aquecimento no qual há a presença de ebulidor elétrico do tipo mergulhão com 1kW de potência, responsável pelo aquecimento da água nesse tanque. A gestão da temperatura do ebulidor é determinada por sensores de temperatura e nível controlados por Arduino® a fim de que esta seja igual ou inferior a 28°C, emitindo sinal quando este limite for atingido.

O Tanque 2, na Figura 3b, trata-se de um sistema de armazenamento, onde retém-se a água aquecida no Tanque 1, que é transportada através da tubulação pela ação da bomba 1, seguinte ao tanque anterior, para alimentação da torre de resfriamento pela ação da bomba 2. O nível obedece um sensor do tipo capacitivo.

Figura 3 – Tanques utilizados no processo de resfriamento no kit educacional: a) Tanque 1; b) Tanque 2.



Fonte: pela autora (2018).

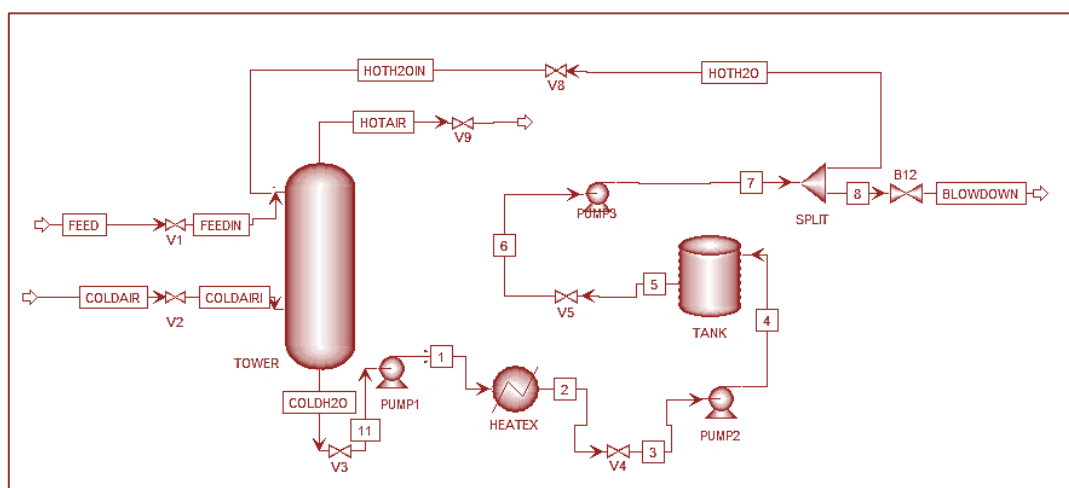
2.2. SIMULAÇÕES EM REGIME ESTACIONÁRIO

O processo de resfriamento de água da planta em escala de banca foi simulado em regime estacionário no *Aspen Plus®*, como mostrado na Figura 4. Para maior semelhança com a planta real, o sistema conta com a presença de um trocador de calor (HEATEX), que irá atuar aquecendo a corrente de água fria 'COLDH2O', um tanque de armazenamento (TANK) e uma torre (TOWER) do tipo RADFRAC sem condensador e reboiler, sendo esta última uma aproximação à torre de resfriamento como citado em Queiroz (2012).

Os dados de *design* e operação foram baseados no trabalho de Mendonça (2017), onde a corrente líquida de água quente pura, que foi utilizada no processo retorna para ser resfriada, entra no topo torre possui uma alimentação de 0,5 l/s, a uma temperatura de 28°C. Já a corrente gasosa de ar frio, considerando uma composição molar de 0,21 de oxigênio e 0,79 de nitrogênio é alimentada no estágio 5 com uma temperatura de 17°C a 150l/min, já que a trata-se de um processo induzido por aspiração mecânica através de um ventilador.

Para assegurar o fechamento do balanço de massa, utilizou-se uma corrente 'BLOWDOWN', na qual uma fração de 20% da corrente '7' que entra no SPLIT foram especificadas como sendo as perdas de água. O gradiente de pressão dos equipamentos foi 0,1 atm, enquanto o sistema está a 1 atm. O modelo UNIQ-RK foi selecionado para a previsão das propriedades físicas na simulação deste projeto.

Figura 4 - Fluxograma do sistema da planta de resfriamento.



Fonte: pela autora com o auxílio do *Aspen Plus®*.

2.3. SIMULAÇÕES EM REGIME TRANSIENTE E IMPLEMENTAÇÃO DO SISTEMA DE CONTROLE

Para se fazer a transferência para o modo dinâmico, utilizou-se a ferramenta *Pressure Check* do *Aspen Plus*® para verificar se todas as condições dos processos estavam adequadas. Por fim, a simulação foi exportada para o *Aspen Dynamics*® através do modo *Pressure Driven*.

O controle do nível do vaso da torre e do tanque, assim como a da temperatura do trocador HEATEX de forma garantir a não inundação e a temperatura máxima permitida no trocador da planta, implementou-se os controladores conforme apresentado na Figura 10 e fez-se as sintonias destes no *Aspen Dynamics*®, para então dar início à simulação do processo. A seguir está de forma mais detalhada a estrutura de controle utilizada:

- 1) O nível do da coluna RADFRAC (TOWER) é controlado manipulando-se o fluxo de produto da base da coluna;
- 2) O nível do tanque é controlado através da manipulação do fluxo da corrente '5';
- 3) O controle de temperatura é feito através da manipulação da carga térmica do trocador HEATEX;

A avaliação do controle ao aplicar distúrbios, baseou-se na variação da temperatura de alimentação da corrente de ar frio.

2.4. SISTEMA SUPERVISÓRIO

O software supervisor empregado neste projeto é de linguagem simples, com objetos e símbolos pré-definidos, além disso, permite que imagens sejam adicionadas como símbolos.

Para a interface de comunicação homem-máquina, criou-se um grupo de telas no qual fixou-se na parte superior da aplicação um cabeçalho para o projeto, e na lateral, botões de opção que acessam as telas inicial com opção de visualização do processo como *flowsheet* ou esquema, de leitura das temperaturas, de gráficos de tendência e botão de saída.

A tela inicial mostra apenas o esquema que discrimina os componentes do processo. Ao selecionar o botão "Temperaturas", é aberta uma tela com displays responsáveis pela leitura e escrita dos valores obtidos pelas correntes cujos valores serão manipulados e lidos. Em "Tendência" uma tela com gráfico da leitura dos valores de temperatura de cada corrente será aberta.

Para o estudo do comportamento da planta, para a conexão dos valores das correntes de processo da torre de resfriamento com os obtidos na simulação são criadas Tags, nas quais:

Figura 5 – Tags do projeto no software supervisor.

	Nome	Vetor	Tipo	Descrição	Escopo
	Filtro de Texto	Filtro de...	(Todo)	Filtro de Texto	(Todos)
1	COLDAIR	0	Real	Corrente de Ar Frio	Servidor
2	COLDH2O	0	Real	Corrente de Água Fria	Servidor
3	HOTH2O	0	Real	Corrente de Água Quente	Servidor
4	HOTAIR	0	Real	Corrente de Ar Quente	Servidor

Fonte: pela autora/ Wonderware InduSoft Web Studio Educational® (2018).

2.5. CONFIGURAÇÃO DA COMUNICAÇÃO OPC

A principal função de um servidor é o compartilhamento do recurso de comunicação à um determinado equipamento ao qual está associado, de forma a controlar o processamento de requisições de informação de softwares clientes.

A tecnologia OPC faz parte do .NET Framework, da Microsoft, e baseia-se na especificação COM (Component Object Model), que determina a infraestrutura das aplicações compartilhadas sob sistemas operacionais da Microsoft, abstraindo as funcionalidades dos sistemas de software e expondo-as de forma interativa, através de propriedades, métodos e eventos dos objetos da aplicação, segundo Faria (2017).

Uma das principais aplicações do protocolo OPC é na comunicação entre um sistema supervisor e um CLP (Controlador Lógico Programável). O funcionamento do OPC é baseado na tradicional arquitetura cliente-servidor onde um ou mais servidores fornecem dados para uma ou mais aplicações cliente. Tratando-se do STO para a planta em questão, os softwares do pacote *Aspen®* utilizados tratam-se de clientes, onde irão fornecer os dados da simulação necessárias para o outro cliente, *Indusoft®* solicitados ao servidor *Matrikon®* para que assim a comunicação entre esses seja feita efetivamente.

Figura 6 – Esquema de comunicação cliente-servidor.



Fonte: pela autora (2018)

O *Matrikon®* é um servidor bastante utilizado e de fácil aplicação. A aplicação 'MatrikonOPC Server for simulation' permite a criação das Tags que vão ser comunicadas entre seus clientes. Assim, no caso das correntes de ar e água da torre na planta simulada, em 'Alias Configuration' insere-se um novo grupo no qual serão escritas as Tags desejadas, como mostra a Figura 8 abaixo.

Figura 7 – Tags criadas no Matrikon® para comunicação com os clientes.

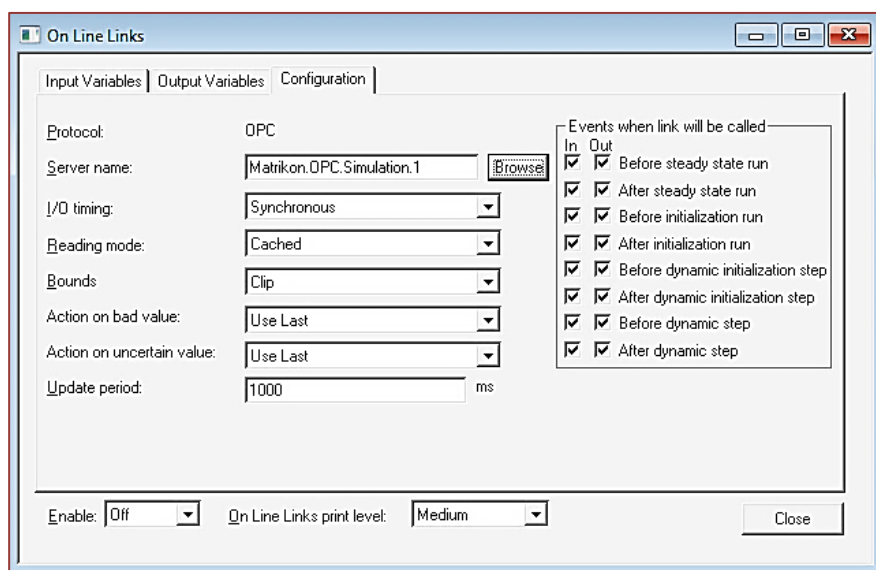
Name	Item Path	Data Type	R/W	Update Rate
coldair		(Default)	R/W	
coldwater		(Default)	R/W	
hotair		(Default)	R/W	
hotwater		(Default)	R/W	

Fonte: pela autora (2018)

Com as Tags criadas no servidor, na simulação aberta em Aspen Dynamics®, o link de dados com o servidor necessita ser configurado, assim como a criação das Tags a serem lidas e escritas. A configuração segue a seguinte ordem:

- 1) Seleciona-se, na barra de ferramentas, a opção em 'Tools' que contém 'On Line Links';
- 2) A seguinte aba da Figura 9 será aberta. Deve-se selecionar todas as opções em 'Events when link will be called';
- 3) Em 'Server name' o botão de opção 'Browse' ao lado apresentará todos os possíveis servidores que possam ser conectados. Para o servidor *Matrikon®* utilizado no projeto, selecionou-se a opção mostrada na Figura 9;
- 4) Na aba 'Output Variables' serão selecionadas as variáveis que deseja-se comunicar no servidor como saída de dados, nesse caso, as correntes que correspondem às Tags adicionadas no software supervisorio como apenas serem lidas;
- 5) Na aba 'Input Variables' serão selecionadas as variáveis que deseja-se comunicar no servidor como entrada de dados, nesse caso, as correntes que correspondem às Tags adicionadas no software supervisorio como lida e escrita;

Figura 8 – Aba de opções ‘On Line Links’.

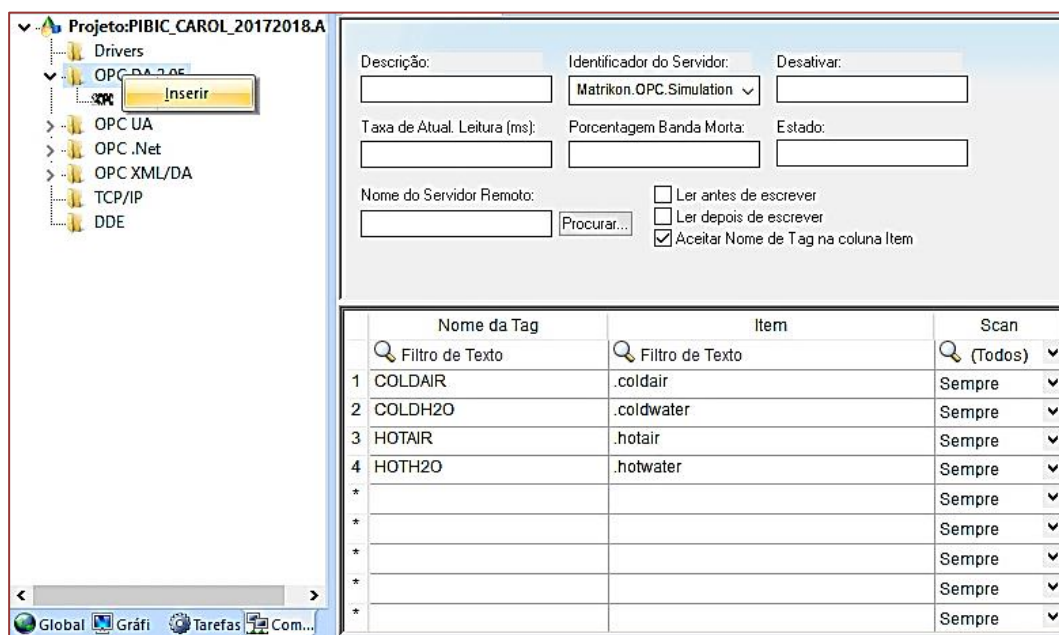


Fonte: pela autora (2018)

- 6) Seleccionadas as Tags de Input e Output, em sua respectiva aba no botão ‘Browse for Tag’ deve-se associar à sua respectiva Tag disponível no servidor OPC;
- 7) Roda-se a simulação em Dinâmico;

Por fim, o segundo cliente do servidor é o *Indusoft®*. Em ‘Explorador de Projeto’, a aba ‘Comunicação’ na parte inferior direciona à uma janela onde estão as possíveis comunicações a serem feitas. Seleccionando com o botão direito em ‘OPC DA 2.05’ e ‘Inserir’ direcionará a seguinte página mostrada na Figura 10.

Figura 9 – Configuração das Tags com o servidor do *Indusoft®*.



Fonte: pela autora (2018)

Em ‘Identificador do Servidor’ procura-se o mesmo servidor *Matrikon®* escolhido na configuração do *Aspen Dynamics®*. As Tags criadas para as caixas de texto são selecionadas em ‘Nome da Tag’ e em ‘Item’, seleciona-se à correspondente Tag do servidor.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. SIMULAÇÃO NO PACOTE *Aspen®*

Das condições aplicadas no *Aspen Plus®*, tratando das correntes de interesse como sendo as mesmas das Tags da Figura 6, os valores obtidos referentes a fluxo, pressão e temperatura são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados da simulação em estado estacionário.

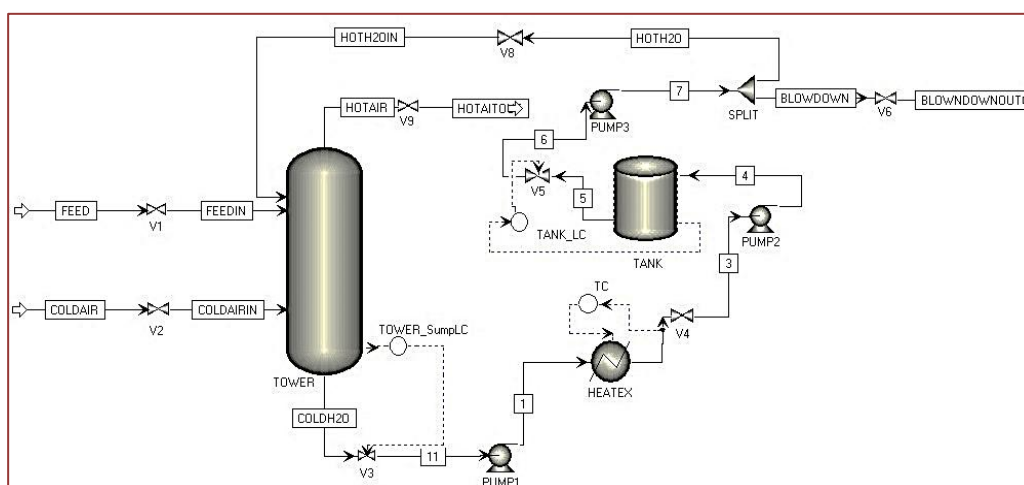
Variável	Unidade	COLDAIR	COLDH2O	HOTH2O	HOTAIR
Fluxo volumétrico	l/min	157,14	2,48205	1,98826	176,578
Temperatura	C	16,9877	26,6759	28,0231	28,0376
Pressão	bar	1,06391	1,06391	1,11458	1,01325

Fonte: Elaborada pela autora.

O afastamento em relação aos resultados pode ser justificada pela estimativa de valores, como os fluxos volumétricos de entrada. Para as aproximações feitas, consideram-se os resultados obtidos. Além disso, a eficiência determinada por Mendonça 2017 é baixa, influenciando nos dados coletos pelo mesmo.

Para o estado transiente no *Aspen Dynamics®* nada na simulação foi alterado e ambos os sistemas apresentaram as mesmas especificações e resultados. Sendo assim, para se obter o modelo dinâmico, foram introduzidos os controladores no vaso da torre, no tanque e no trocador de calor, como mostrado na Figura 10.

Figura 10 - Estrutura de controle para o sistema de destilação extrativa.



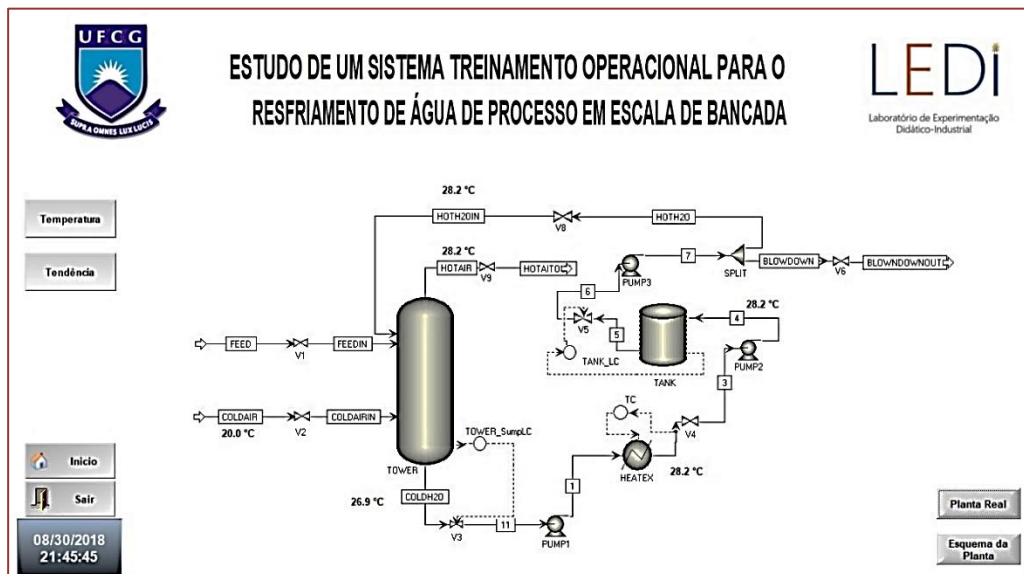
Fonte: Elaborada pela autora com o auxílio do *Aspen Plus Dynamics®*.

3.2. INTERFACE SUPERVISÓRIA

Com a determinação das Tags válidas para a manipulação e estudo da torre de resfriamento, foram adicionadas caixas de texto próximas às correntes nas quais serão feitas as leituras. As temperaturas da água quente e a de ar frio que entra na coluna podem ser escritas pelo usuário. Como na planta real o tanque de aquecimento HEATEX possui um controlador de temperatura, limitou-se a escrita a

temperatura de água quente à 28°C. A tela inicial possui o *flowsheet* do processo da planta em escala de bancada simulada em regime transiente com controladores mostrada na Figura 11.

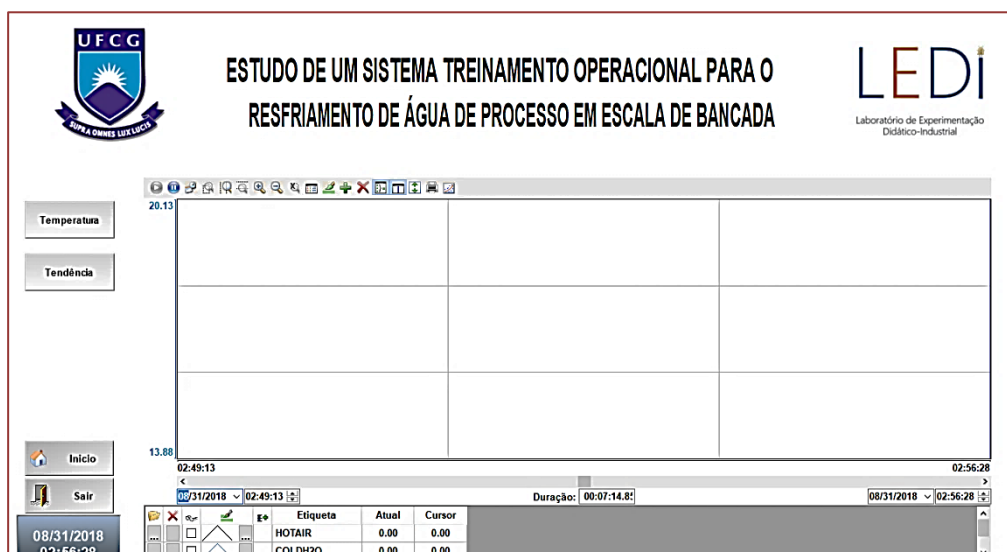
Figura 11 – Tela inicial da aplicação supervisória com visualização de *flowsheet*.



Fonte: pela autora/ Wonderware InduSoft Web Studio Educational® (2018).

A tela ‘Tendências’ foi desenvolvida com um gráfico automático na qual permite ao usuário adicionar quais e quantas Tags deseja monitorar, alterar a cor e estilo da linha de tendência, zoom e possui um cursor que permite a navegação e manipulação do tempo. A Figura 12 abaixo mostra a tela gráfica projetada.

Figura 12 – Tela de leitura escrita das temperaturas da aplicação supervisória para as correntes a serem manipuladas.

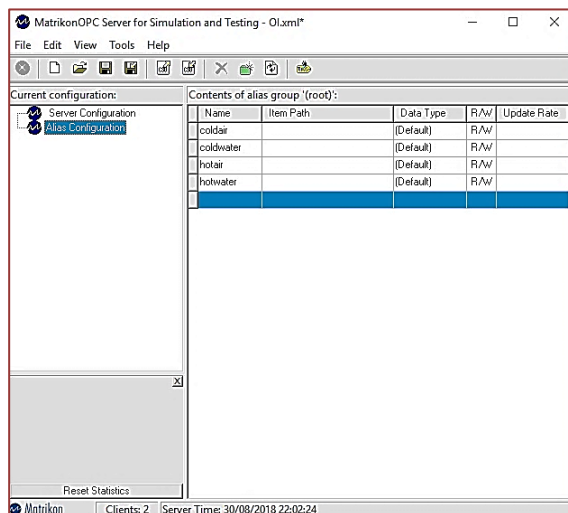


Fonte: pela autora/ Wonderware InduSoft Web Studio Educational® (2018).

3.3. COMUNICAÇÃO DOS CLIENTES COM SERVIDOR OPC

A comunicação dos softwares clientes Indusoft® e Aspen Dynamics® com o servidor Matrikon®, após a configuração descrita anteriormente terá como resultado o total de dois clientes conectados ao servidor, como mostrado na parte inferior da Figura 13.

Figura 13 – Clientes conectados ao servidor Matrikon®.

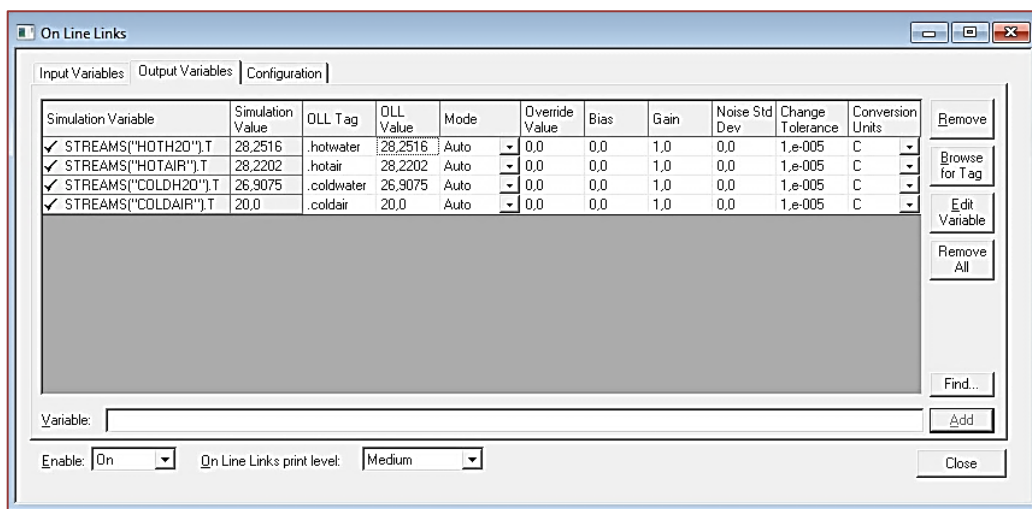


Fonte: pela autora (2018)

Os valores das Tags conectadas com o servidor no *Aspen Dynamics*®, após a execução do modo dinâmico estarão disponíveis para atender o outro cliente ou ao próprio servidor. Assim, da Figura 14 abaixo é possível observar que os valores obtidos pela simulação em 'Simulation Value' estão sendo enviados de forma efetiva, já que em 'OLL Value' têm-se os mesmos resultados, sendo modificados reciprocamente caso haja distúrbio nos valores de simulação.

A avaliação da aquisição de troca de dados entre os vlientes pelo *Matrikon*® foi feita através da execução da interface supervisória. Ao entrar com o valores de temperaturas da corrente de ar frio na torre a 17°C e 20°C, respectivamente, observou-se que houve mudança no valor das demais avaliadas em questão recalculadas pelo simulador para fechar o balanço de massa, sendo também estabilizadas pelos controladores, sintonizados para que o setpoint da água quente seja 28°C com limite de 30°C.

Figura 14 – Clientes conectados ao servidor Matrikon®.



Fonte: pela autora (2018)

Os resultados obtidos para as temperaturas da corrente de ar frio, na execução dinâmica foram os da Tabela 2.

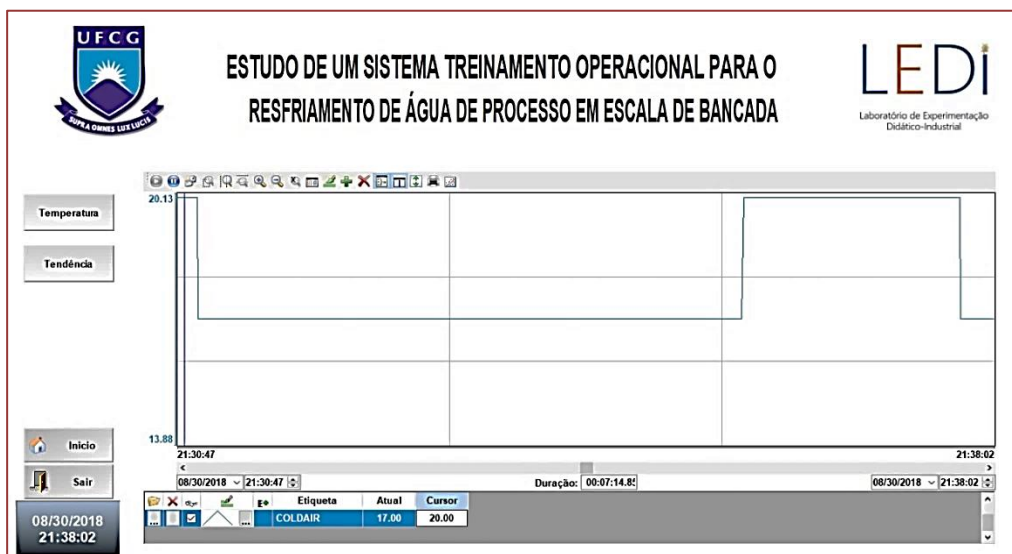
Tabela 2 – Resultados da simulação em estado estacionário.

Temperatura da corrente de ar frio (COLDAIR) °C	Temperatura da corrente de água quente (HOTH2O) °C
17	28,0238
20	28,2512

Fonte: Elaborada pela autora.

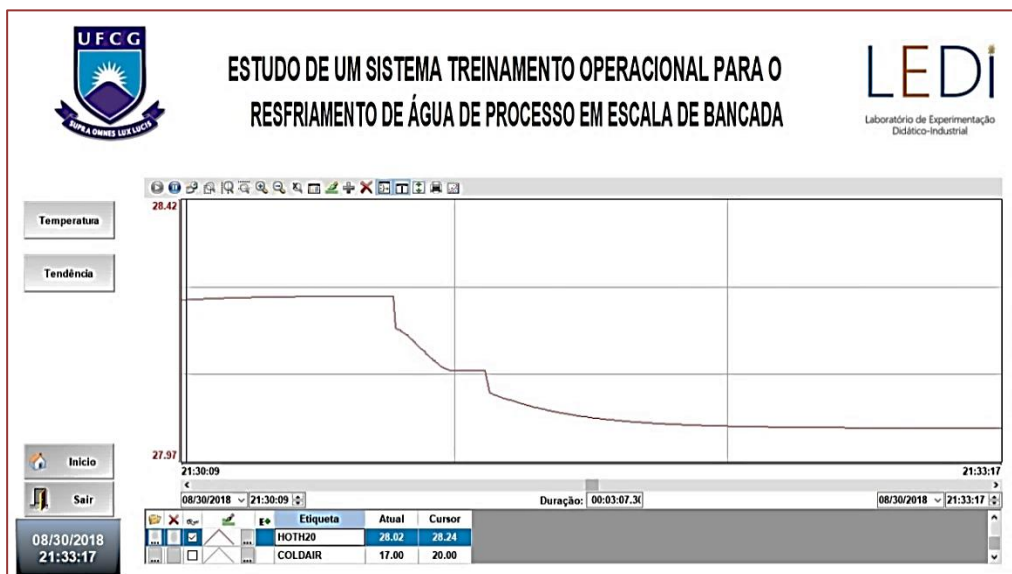
Em execução simultânea, observa-se que a modificação da temperatura de ar frio é registrada instantaneamente no gráfico em ‘Tendências’, assim como a mudança de temperatura de corrente de água quente sofre variações e é controlada para seu setpoint. Na Figura 15, têm-se o comportamento gráfico de COLDAIR e na Figura 16, de HOTH2O.

Figura 15 – Comportamento da corrente de ar frio.



Fonte: pela autora/ Wonderware InduSoft Web Studio Educational® (2018).

Figura 16 – Comportamento da corrente de água quente.



Fonte: pela autora/ Wonderware InduSoft Web Studio Educational® (2018).

4. CONCLUSÃO

Este trabalho apresentou uma metodologia para comunicação de um software de simulação de processos e um supervisor de forma a obter um sistema de treinamento operacional válido para um processo de resfriamento de água de uma planta em escala de bancada, e validação da simulação em regimes estacionário e transiente.

Para o processo em questão, a estrutura de controle conseguiu manter a temperatura determinada para o trocador de calor próximo do valor desejável, com variação da temperatura de ar frio que entra na torre para resfriar a água do processo.

A aquisição de dados obtidos pela simulação na interface do supervisor não apresentou problemas. Porém, a modificação por meio do usuário da temperatura de água que deixa a torre não é possível, uma vez que não é uma variável de entrada e compromete o balanço de massa. A troca de dados ocorreu de forma harmônica.

No entanto, para se verificar da efetividade total é aconselhável se analisar outros aspectos não pertinentes neste trabalho como, por exemplo, a eficiência da planta nas condições consideradas de simulação.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil, pelo suporte financeiro para a realização deste projeto que foi desenvolvido através do programa PIBIC/CNPq-UFCG.

REFERÊNCIAS

- [1]. BENNET, C. O.; MYERS, J. E. Momentum, heat, and Mass Transfer. Nova York, v.2, 1974.
- [2]. BEYER, P. O.; Climatização, Ventilação, Aquecimento, Refrigeração e Ar Condicionado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.
- [3]. BORGES, A. A.; MINUZZO, G. S.; PERINI, R.; SOUZA, W. B.; MINI-TORRE DE RESFRIAMENTO COM ÊNFASE A UM TROCADOR DE CALOR DO TIPO SERPENTINA. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. Porto Alegre, 2009.
- [4]. FARIA, D. S.; SILVA, J. A. Características e Aplicações do OPC UA. BLOG EXSTO: A Indústria na Escola, 2017.
- [5]. FERREIRA, A; K; Torre De Resfriamento Didática. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná. Medianeira, 2012.
- [6]. HILL, G. B.; PRING, E. J.; OSBORN, P.D.; Cooling Towers, Principles and Practice, v.3, 1990.
- [7]. MENDONÇA, A. C.; Construção de um Sistema de Treinamento Operacional para o Processo de Produção de Metanol. PIBIC. Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, 2017.
- [8]. MENDONÇA, A. C.; SILVA, S. K.; H. BISPO. ESTUDO E MONTAGEM DE UM SISTEMA DE TREINAMENTO OPERACIONAL DE PROCESSOS QUÍMICOS, XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química – COBEQ 2016, Fortaleza –CE, Brasil, 2016.
- [9]. QUEIROZ, J.A.; RODRIGUES, V.M.S.; MATOS, H.A.; MARTINS, F.G. Modeling of existing cooling towers in ASPEN PLUS using an equilibrium stage method. Energy Conversion and Management, 2012.
- [10]. RODA, L. M. C.; MAIOLI, M. F.; Metodologias para caracterização do desempenho de uma torre de resfriamento de água e suas aplicações. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2010.
- [11]. SCIENZA, L. C.; Operações Unitárias III, Umidificação e Desumidificação, 2008.
- [12]. SILVA, J. C.; SILVA, A. C. G. C.; Refrigeração e Climatização para Técnicos e Engenheiros. Rio de Janeiro, 2007.
- [13]. TAUSEEF, S. M.; ABBASI, S. A. Development of a new chemical process industry accident database to assist in past accident analysis. Journal of Loss Prevention in the Process Industries, v. 24, n. 4, p. 426-431, 2011.
- [14]. YANG, S. H.; YANG, L.; HE, C. H. Improve Safety of Industrial Processes Using Dynamic Operator Training Simulators. Process Safety and Environmental Protection, v. 79, n. 6, p. 329-338, 2001.

Autores

ADALBERTO FREIRE DO NASCIMENTO JUNIOR

Universidade de Pernambuco – UPE Escola Politecnica De Pernambuco Departamento De Engenharia Mecânica Laboratório De Combustíveis E Energia – Policom

ADRIANA DERVANOSKI

Possui graduação em Engenharia Química (2006), mestrado em Engenharia Química (2009) e Doutorado em Engenharia Química (2012), ambos pela Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. Em 2013 realizou Pós-Doutorado na Oregon State University - US, na linha de pesquisa de Fenômenos de Transporte em Sistemas Multifásicos. Atualmente é professora Adjunta C da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS).

AMANDA DUARTE GONDIM

Professora de Química do Petróleo pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte desde 2014 e Vice coordenadora da Central Analítica do NUPPRAR na UFRN (NUPPRA-UFRN). Possui graduação, mestrado e doutorado na química. Atualmente, coordenadora da Rede Brasileira de Bioquerosene e Hidrocarbonetos Renováveis (RBQAV) e do Programa de Recursos Humanos da ANP (PRH-ANP - 37.1). Desenvolve projetos de pesquisa em valorização de resíduos de petróleo, produção de biodiesel e hidrocarbonetos renováveis, principalmente bioquerosene e diesel verde, através de processos catalíticos a partir de diversas fontes de biomassa e co-processamento.

ANA CLAUDIA GRANATO MALPASS

Graduação em Química pela UFSCar, Mestrado e Doutorado em Química pela USP e Pós Doutorado em Engenharia Química pela UFSCar. Atualmente é professora Associada da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

ANA LÚCIA FIGUEIREDO PORTO

Possui graduação em Licenciatura Em Química pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (1980), mestrado em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco (1994), doutorado em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Campinas (1998) com bolsa de Doutorado Sanduiche pelo Cnpq pela Universidade Técnica de Lisboa (1996). Atualmente é pesquisador colaborador da Universidade Católica de Pernambuco, Universidade Estadual de Campinas, Universidade Federal do Amazonas, e Universidade Federal de Pernambuco. Orienta nos Programas de Pós-graduação Doutorado em Biotecnologia-RENORBIO e Biociência Animal -UFRPE, Biologia Aplicada à Saúde e Ciência Biológicas-UFPE. Professora Titular da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

ANTONIO SOUZA DE ARAUJO

Bacharel em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (1986); mestre em química pela Universidade Federal da Paraíba (1988) e doutor em ciências (Química Inorgânica) pelo Instituto de Química da Universidade de São Paulo (1992). Realizou Pós-Doutoramento em Kent State University, 1999 (Ohio, Estados Unidos). Professor Titular do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte desde 2010. Tem experiência na área de Química, com ênfase em Físico Química Inorgânica, atuando principalmente nos seguintes temas: síntese hidrotérmica de zeólitas, materiais nanoestruturados, materiais híbridos micro-mesoporosos, catálise ácida, petróleo e petroquímica.

BEATRIZ CAROLINE DA COSTA

Graduada em Engenharia Química pela UNIFAE, cursa mestrado em Ciência e Engenharia de materiais pela UNIFAL. Possui experiência na indústria alimentícia tendo atuado nas áreas de controle de qualidade e desenvolvimento de produtos. Atualmente, atua como professora nas

disciplinas de Química, Física e Matemática, no ensino médio nas escolas estaduais do Estado de São Paulo.

BRENNA VIEIRA JACON

Graduada em Bacharelado em Ciência e Tecnologia e também em Engenharia Química pela UNIFAL, realizou trabalhos relacionados a pesquisa científica nas áreas de estatística e tratamento de resíduos têxteis. Possui experiência em indústria de laticínios, tendo atuado na área de desenvolvimento de produtos. Atualmente trabalha em uma indústria cerâmica atuando no controle de qualidade de matéria prima e produtos semi-acabados.

CAMILA GISELE DAMASCENO PEIXOTO MORAIS

Possui graduação em Tecnologia em Controle Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, graduação em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte, mestrado e doutorado em Ciência e Engenharia do Petróleo pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Atualmente é professora do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Pará. Tem experiência na área de química com ênfase em cromatografia gasosa, combustíveis e biocombustíveis, além de atuar na implementação e auditorias de sistemas de gestão de qualidade baseados nas ABNT NBR ISO/IEC 9001, 17020 e 17025.

CAROLINA DE ALBUQUERQUE LIMA DUARTE

Professora adjunta na Universidade de Pernambuco Campus Arcoverde das disciplinas de Farmacologia e Bioquímica. Atua principalmente nos seguintes temas: produção, purificação e aplicação de proteases microbianas, produção de peptídeos e avaliação de suas atividades biológicas. Possui graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco (2005), graduação em Farmacêutico-Bioquímico pela Universidade Federal de Pernambuco (2007), mestrado em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco (2008) e doutorado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco (2012).

CLEUZIR DA LUZ

Possui graduação em Matemática Licenciatura pela UNOCHAPECÓ - Universidade Comunitária Regional de Chapecó (1999) e Mestrado em Matemática e Computação Científica (2005) e Doutorado em Engenharia Química (2014), ambos pela Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. Em 2013 realizou Doutorado Sanduíche na Oregon State University - E.U.A. Professor efetivo da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC).

DANIEL FERNANDO GARCIA

Possui Graduação em Gestão da Produção Industrial pela Faculdade de Tecnologia, FATEC/Jau (2011). Graduação em Licenciatura em Matemática pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Unesp/Bauru (2018). Mestrado em Engenharia Elétrica (Sistemas de Energia) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Unesp/Bauru (2021). Membro do Grupo de Pesquisa Análise, Computação e Estudos Econômicos de Sistemas de Energia.

DANIELI BRANDLER

Possui graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS).

EDILAINE MARTINS SOLER

Possui Graduação em Bacharelado em Matemática pela Universidade de São Paulo, USP (2005). Graduação em Licenciatura em Matemática pela Universidade de São Paulo, USP (2007). Mestrado em Ciências da Computação e Matemática Computacional pela Universidade de São Paulo, USP

(2008). Doutorado em Engenharia Elétrica pela Universidade de São Paulo, USP (2011). Atualmente é Professora Assistente Doutora na Universidade Estadual Paulista, UNESP/Bauru e docente permanente do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Produção e do Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica desta universidade.

ELAINE CRISTINA PARIS

Possui bacharelado em Química (1998), mestrado em Química (2000) e doutorado em Química (2005) pela Universidade Federal de São Carlos. Experiência nas áreas de pesquisa e difusão com ênfase em materiais cerâmicos, atuando no desenvolvimento de novos materiais. Atualmente, é pesquisadora da Embrapa Instrumentação, trabalhando em projetos de pesquisa em nanotecnologia e credenciada ao PPGQ/UFSCar, orientando alunos de pós-graduação. Tem experiência na área de síntese e processamento de materiais nanoestruturados, com ênfase em nanopartículas e nanocompósitos de base cerâmica e polimérica voltados a aplicações nas áreas de fotocatalise heterogênea, fotoluminescência, adsorção de poluentes emergentes, liberação prolongada de ativos e fertilizantes minerais.

FAGNER JOSÉ DA COSTA OLIVEIRA

Engenheiro de Biotecnologia e Bioprocessos pela Universidade Federal de Campina Grande-PB

GABRIEL ANDRÉ TOCHETTO

Possui graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), mestrando em Engenharia Química na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

GEAN DELISE LEAL PASQUALI

Possui graduação em Química pela Universidade de Passo Fundo (1999), mestrado em Engenharia de Alimentos pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (2004) e doutorado em Engenharia Química na área de concentração de Desenvolvimento de Processos Químicos e Biotecnológicos pela Universidade Federal Santa Catarina (2008). Professora Associada II e pesquisadora da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS).

GEOFFROY ROGER POINTER MALPASS

Graduação e Mestrado em Química pela University of Wales (Grá-Bretanha). Doutorado e Pós Doutorado em Química pela USP. Atualmente é professor Associado da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

GIOVANA FERNANDES TEIXEIRA

Engenheira Química formada pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Esse trabalho foi feito durante seu Trabalho de Conclusão de Curso de graduação.

HENRIQUE STRAIOTO

Possui graduação em Engenharia Civil pela Universidade Paranaense (2016); Especialização em Engenharia de Segurança do Trabalho pela Organização Educacional de Cruzeiro do Oeste (2019); Mestrado em Engenharia Ambiental, na área de Saneamento Ambiental, pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (2019); Atualmente está matriculado no curso de Doutorado em Engenharia Química, da Universidade Estadual de Maringá, onde é bolsista CNPq e trabalha na área de gestão, controle e preservação ambiental. Tem experiência nas áreas de construção civil e no tratamento de efluentes industriais.

HUGO NEVES BRANDÃO

Possui graduação em Farmácia pela Universidade Federal da Bahia(2003), mestrado em Química pela Universidade Federal da Bahia(2006) e doutorado em Química Orgânica (Química de Produtos Naturais) pela Universidade Federal da Bahia(2010). Atualmente é professor Pleno da Universidade Estadual de Feira de Santana no curso de Graduação em Farmácia, Vice Coordenador do programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais - UEFS, membro do Colegiado do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas – UEFS. Tem experiência na área de Química, com ênfase em Química Orgânica, Química de Produtos Naturais, Fitoterapia, Fitoquímica e Cromatografia, atuando principalmente com os seguintes temas: CLAE, Podofilotoxina, Eriope, Hyptis, Polygala.

ISABELA GARCIA PARRAS

Possui Graduação em Licenciatura em Matemática pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Unesp/Bauru (2017). Mestrado em Engenharia Elétrica (Sistemas de Energia) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Unesp/Bauru (2020). Membro do Grupo de Pesquisa Análise, Computação e Estudos Econômicos de Sistemas de Energia.

ISABELE ALBUQUERQUE ALCOFORADO FERREIRA

Possui graduação em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Universidade Católica de Pernambuco (1998). Mestrado em Biologia Animal pela Universidade Federal de Pernambuco (2003). Doutoranda pelo programa em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), com previsão de defesa para o ano de 2022. Atualmente é professora da Universidade Salgado de Oliveira (UNIVERSO). Pesquisadora do LIKA (Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami), da Universidade Federal de Pernambuco.

JAYANE KARINE PEREIRA DE ARAÚJO

Graduada em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos pela Universidade Federal de Campina Grande e em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Norte do Paraná. . Mestranda em Ciências Florestais pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte

JOANNY LAYS BANDEIRA CRUZ DA SILVA

Engenheira de Biotecnologia e Bioprocessos pela Universidade Federal de Campina Grande-PB

JOÃO OTÁVIO DONIZETTE MALAFATTI

Possui graduação em Bacharelado de Química pela Universidade de São Paulo (2013) com ênfase em Biotecnologia, Tecnologia e Agroindústria. Mestrado (2016) e doutorado (2020) pelo Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos. Atualmente, está realizando pós-doutorado na Embrapa Instrumentação no Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA). Atua nas linhas de pesquisa de desenvolvimento de nanomateriais cerâmicos e filmes nanocompósitos para aplicações em sistemas de liberação controlada de ativos (fertilizantes e fármacos), remediação ambiental (adsorção e fotocatalise de poluentes) e controle biológico.

JOCEANE PIGATTO

Possui graduação em Tecnologia em Alimentos - Senai - Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial. MBA em Engenharia de Produção - UCEFF Faculdades. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela UDESC.

JOSÉ ANTÓNIO COUTO TEIXEIRA

Possui graduação em Engenharia Química pela Universidade do Porto (1980) e doutorado em Engenharia Química pela Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (1988). Atualmente é Professor Catedrático no Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, Braga/Portugal. Tem experiência na área de Engenharia Química, com ênfase em Engenharia Química e Biotecnologia, atuando principalmente nos seguintes temas: reatores biológicos, sistemas multifásicos, tecnologia alimentar, processos de separação biológicos.

LAIZA GABRIELA SANCHES PERES

Cursou mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais (UFSCar) com ênfase em Desenvolvimento Tecnológico em Polímeros (2020). Graduação em Engenharia de Materiais pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (2018). Desenvolveu Trabalho de Conclusão de Curso sobre Compósitos Poliméricos com Fibras Vegetais (2017/2018). Estagiária na empresa Embrapa desenvolvendo projeto de liberação de fertilizantes através de filmes biodegradáveis (2017). Trabalhou como bolsista no projeto de Iniciação Científica com síntese de nanopartículas e nanofilmes de prata (2016/2017). Trabalhou como aluna voluntária no projeto de Iniciação Científica com PHB e nanotubo de carbono (2015).

LENILDE MÉRGIA RIBEIRO LIMA

Doutora em Química Inorgânica (UFPB). Mestre em Engenharia Química (UFCG). Graduada em Engenharia de Materiais (UFPB) e Licenciatura em Química (UEPB). Professora Associada II da Unidade Acadêmica de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande-PB

LETÍCIA DOS REIS DARCIE

Mestre em Engenharia Química, formada pela Universidade Federal de Alfenas. Graduada em Bacharelado em Ciência e Tecnologia e graduada em Engenharia Química, pela Universidade Federal de Alfenas. Trabalhou na dissertação de mestrado com o tema: “Estudo da utilização de biomassas lignocelulósicas como adsorventes para a remoção de Rodamina B”. Possui experiência na área de pesquisa sobre etanol de segunda geração utilizando bagaço de cana e também sobre microorganismos resistentes à atrazina.

LETÍCIA FERREIRA LACERDA SCHILDT

Bacharel em Química Tecnológica com ênfase em Materiais pelo Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo (2015). Atuação na Indústria na área de Produção Química (2016-2019) e Planejamento e Controle de Produção (2020) na DMC equipamentos. Mestrado em Química Tecnológica (2018-2020) pela Universidade Federal de São Carlos em parceria com a DMC Equipamentos. Atualmente, é estudante de doutorado na Universidade Federal de São Carlos. Experiência na área de biomateriais, especialmente materiais poliméricos, cerâmicos e compósitos para enxertia óssea, bem como em tecnologias de processamento como impressão 3D.

LÍGIA MARIA RIBEIRO LIMA

Doutora em Engenharia de Processos (UFCG). Mestre em Engenharia Química (UFPB). Graduada em Engenharia Química (UFPB). Professora Doutor D do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

LUIZ HENRIQUE CAPPARELLI MATTOSO

Graduado em Engenharia de Materiais, com mestrado e doutorado (1993) em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de São Carlos. Tem especialização na França, e EUA e pós-doutorado em Nanotecnologia no Departamento de Agricultura dos Estados Unidos pelo programa Labex (Laboratório da Embrapa no Exterior). É pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa

Agropecuária desde 1994 e já orientou 70 alunos de doutorado e mestrado e teve mais de 30 pós-doutorandos sob sua supervisão. Tem atuado nos seguintes temas: nanotecnologia, polímeros condutores, biopolímeros, bionanocompósitos, sensores, biomateriais, nanofibras, nanocelulose, borracha natural e desenvolvimento de materiais poliméricos de fonte renovável.

MARCELO FERNANDES VIEIRA

Possui graduação em Engenharia Química pela Fundação Universidade Federal do Rio Grande (1995), mestrado em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá (1999), doutorado sandwich em Engenharia Química pela Universidade Federal de São Carlos (2003) e Conselho Superior de Investigación Científica de Madri, Espanha. Pós-doutorado no CSIC- Madrid, dentro do Instituto de Catálise e Petroquímica. Atualmente é professor Adjunto da Universidade Estadual de Maringá com dedicação exclusiva. Tem experiência na áreas de Processos Separação, síntese enzimática e imobilização de enzimas.

MARIA CAROLINA DE ALBUQUERQUE WANDERLEY

Possui graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade de Pernambuco (2008), mestrado em Biotecnologia Industrial pela Universidade Federal de Pernambuco (2012), doutorado em Desenvolvim. e Inovação Tecnol. em Medicamentos pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (2016) com período sanduíche no Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Portugal. Atualmente é pós-doc da UFRPE com bolsa FACEPE. Tem experiência no aproveitamento de matéria-prima residual para uso terapêutico, nanopartículas, hidrólise de proteínas para produção de peptídeos, desenvolvimento de processos biotecnológicos para obtenção de moléculas bioativas visando a promoção a saúde e agregação de valor aos subprodutos industriais.

MARIA DE LOS ANGELES PEREZ FERNANDEZ PALHA

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE Centro de Tecnologia e Geociência Departamento de Engenharia Química

MARINA REBECA SILVA MONTEIRO

Mestre em Engenharia Química – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) Graduada em Química (Licenciatura Plena) – Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) Pesquisador/ Colaborador Laboratório de Combustíveis e Energia – POLICOM

MICHELINE FERREIRA DE LIMA

Mestre em Engenharia Química – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) Graduada em Engenharia Química – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) Pesquisador/ Colaborador Laboratório de Combustíveis e Energia – POLICOM

MIRELLA MONTEIRO SILVA

Biomédica, graduada pela Universidade Federal de Pernambuco (2015), mestre em Biologia Aplicada à Saúde, PPGBAS-UFPE (2018) e doutoranda em Ciências Biológicas, PPGCB-UFPE. Desenvolve projeto reutilizando resíduos sólidos como fonte potencial de biomoléculas para fornecer um produto novo e aplicável em diferentes segmentos industriais, contribuindo com a consolidação e o fortalecimento da área de Biotecnologia em Pernambuco. Sob orientação da Dra. Ana Lúcia Figueiredo Porto, no laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, LIKA-UFPE.

MÔNICA HITOMI OKURA

Engenharia de Alimentos formada pela Universidade Federal de Viçosa, Mestrado e Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Atualmente é professora Associada da Universidade Federal do Triângulo Mineiro.

PATRICIA TEIXEIRA DAMASCENO LOBO

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Feira de Santana (2008), Especialista em Biologia Celular(2009), Mestre em Recursos Genéticos Vegetais (2013) e Doutora em Biotecnologia (2019). Atualmente é Bióloga da Universidade Estadual de Feira de Santana.

PAULA VALÉRIA VIOTTI

Possui graduação em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá (2014) e mestrado em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá (2017), atuando na linha de pesquisa Gestão, Controle e Preservação Ambiental, com ênfase em tratamento de água. Atualmente é doutoranda em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá, atuando em pesquisa na área de síntese e modificação de adsorventes alternativos para remoção de contaminantes emergentes. Realizou parte da pesquisa de doutorado na Universidade de Coimbra no ano de 2020, atuando na área de biotecnologia enzimática na produção de papel Tissue.

RAFAELA CRISTINA SANFELICE

Química formada pela Universidade de São Paul. Mestrado e Doutorado em Engenharia e Ciência de materiais pelo Instituto de Física de São Carlos. Pós Doutorado na Universidade Tecnológica de Clausthal - Alemanha. Atualmente é professora da Universidade Federal de Alfenas, Campus de Poços de Caldas -MG.

REGINEIDE DE OLIVEIRA LIMA

Possui graduação em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (2009), mestrado em Ciências e Engenharia do Petróleo pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (2012), doutorado em Ciências e Engenharia do Petróleo pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (2016). Atualmente, exerce a função de pesquisadora especialista em catálise no Instituto Senai de Inovação em Biomassa- Três Lagoas/MS. Atuou como pesquisadora pela FUNPEC/UFRN no projeto de Gestão da Rede Brasileira de Bioquerosene e Hidrocarbonetos Renováveis para Aviação. Atuando em temas de pirólise, craqueamento e catálise. A catálise aplicada em processos termoquímicos para obtenção de combustíveis renováveis e aproveitamento de resíduos da indústria de petróleo.

ROSANGELA BERGAMASCO

Graduação em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá (1984), mestrado em Ciências de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina (1989), doutorado sanduiche em Engenharia Química - Université de Montpellier II (Scien. et Tech Du Languedoc) (1996) e doutorado em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Campinas (1996). Pós-doc em Engenharia Química - Université Laval - Québec- Canadá(2002). Atualmente é professor associado da Universidade Estadual de Maringá. Tem experiência na área de Engenharia Sanitária e Química, com ênfase em Técnicas alternativas para o Tratamento de Águas. Avaliadora do sistema Nacional de Avaliação da Educação Superior - SINAES - Avaliador de Curso de Graduação e Avaliador Institucional

SANDRA APARECIDA DE ASSIS

Graduada em Farmácia Bioquímica pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1998), fez mestrado em Biotecnologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (2000) e doutorado em Biotecnologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (2004). Atualmente é Professora Plena da Universidade Estadual de Feira de Santana e

coordenadora do Laboratório de Enzimologia e Tecnologia das Fermentações. Membro da Sociedade Brasileira de Química (SBQ). Membro Fundadora do Simpósio de Biotecnologia (SiBiotec) do PPGBiotec-UEFS. Desenvolve pesquisas nas áreas de Enzimologia Aplicada e Química de Macromoléculas. Sua linha principal de pesquisa é Obtenção de produtos de interesse industrial a partir de plantas ou micro-organismos.

SERGIO PERES

Universidade de Pernambuco – UPE Escola Politecnica de Pernambuco Departamento de Engenharia Mecânica Laboratório de Combustíveis e Energia – POLICOM

SIDINEI KLEBER DA SILVA

Professor do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Desenvolve Pesquisas para inovação na indústria, análise econômica de processos e desenvolvimentos na área de propriedade industrial.

TANIA REGINA GIRALDI

Possui graduação em Química pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – Unesp (2000), Mestrado em Química pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – Unesp (2003) e Doutorado em Química pela Universidade Federal de São Carlos – UFSCar (2007). Realizou Pós-Doutorado na Embrapa – Instrumentação Agropecuária (2008-2010). Em 2010 tornou-se professora da Universidade Federal de Alfenas, campus Poços de Caldas e, desde 2014, atua no PPGCEM da mesma Universidade. Atua na obtenção de nanomateriais cerâmicos na forma de nanopartículas e filmes finos, utilizando rotas químicas para a síntese das mesmas. Estes nanomateriais são aplicados na área de fotocatalise ou em processos de adsorção.

THALITA DAIANE NEVES MARTINS

Engenheira de Biotecnologia e Bioprocessos pela Universidade Federal de Campina Grande-PB

THAMARA MACHADO DE OLIVEIRA RUELLAS

Graduação pela Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) em Bacharelado Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia. Graduação em andamento pela Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) em Engenharia Química. Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). Doutorado em Química em andamento pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Atuação como Estudante de Doutorado no Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) da Embrapa Instrumentação (São Carlos, SP).

VALTER JOSÉ FERNANDES JÚNIOR

Doutor em Química Analítica pela Universidade de São Paulo, Pós-Doutorado em Química Ambiental pelo INPE, Professor Titular do Instituto de Química da UFRN, Pró-Reitor de Pesquisa da UFRN de 05/2011 a 08/2016, Coordenador do Laboratório de Combustíveis e Lubrificantes da UFRN - executor do Programa de Pesquisa e Qualidade de Combustíveis da Agência Nacional do Petróleo no estado do RN, pesquisador do CNPq desde 1993, Consultor Científico da FINEP, FAPESP, do NSF-National Science Foundation e CNPq, dentre outros. Coordenador da Rede Norte/Nordeste de Laboratórios de Combustíveis, professor permanente dos Programas de Pós Graduação em Química e Ciências e Engenharia de Materiais da UFRN, com 33 orientações de mestrado e doutorado concluídas.

WARDLEISON MARTINS MOREIRA

Graduado, mestre e doutor em engenharia química pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), participou do Programa de Educação Tutorial - Engenharia Química (PET - EQ) e de projetos de

AUTORES

pesquisa relacionados às áreas de Processos de Separação e Sistemas Particulados (UEM), Processos de Separação com Membranas (University of Southern California - USC), Tissue Engineering (Texas Tech University - TTU) e desenvolvimento de biomateriais (UEM e Universidade de Coimbra).

www.poisson.com.br
contato@poisson.com.br



@editorapoisson



<https://www.facebook.com/editorapoisson>

