

Karen Francine Heinen

**CARACTERIZAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO
EM SISTEMA AERADO E AGITADO PARA APLICAÇÃO NA
PRODUÇÃO DE BIODISSURFACTANTE**

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Química do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química.

Área de concentração: Processos Biotecnológicos

Orientador: Prof. Dr. Hugo Moreira Soares.

Coorientador: Prof. Dr. Willibaldo Schmidell Netto.

Florianópolis – SC
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Heinen, Karen Francine

Caracterização da transferência de oxigênio em sistema aerado e agitado para aplicação na produção de biossurfactante / Karen Francine Heinen ; orientador, Hugo Moreira Soares, coorientador, Willibaldo Schmidell Netto, 2018.

105 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. biossurfactante. 3. transferência de oxigênio. 4. geometria do reator. I. Soares, Hugo Moreira. II. Schmidell, Willibaldo. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

Karen Francine Heinen

**CARACTERIZAÇÃO DA TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO
EM SISTEMA AERADO E AGITADO PARA APLICAÇÃO NA
PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Florianópolis, 26 de fevereiro de 2018.

Profa. Cíntia Soares, Dr.
Coordenadora do Programa

Prof. Hugo Moreira Soares, PhD.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Willibaldo Schmidell Netto, PhD.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Banca Examinadora:

Prof. Agenor Furigo Junior, Dr.
Examinador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Márcio José Rossi, Dr.
Examinador
Universidade Federal de Santa Catarina

Aos meus pais, irmã e a todos que me acompanharam nesta fase, sempre me incentivaram a buscar o conhecimento e me deram forças para tornar essa jornada mais prazerosa, fazendo-a inesquecível.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me dado a vida, a fé e a esperança para alcançar meus objetivos.

Agradeço também minha família, principalmente meus pais Gerson e Shirley que, mesmo de longe, sempre me deram todo o apoio, suporte e incentivo que precisei, e sempre acreditaram na minha capacidade. Agradeço também a minha irmã Sabrina, que é meu exemplo de pessoa e profissional, e estava ao meu lado nos momentos difíceis, para me fazer seguir em frente.

Aos meus professores, formadores do meu conhecimento, que sempre deram o melhor para nos tornar profissionais capacitados, nos inspirando e incentivando. Meu orientador Professor Dr. Hugo Moreira Soraes, por disponibilizar todo o necessário para realizar meus experimentos em laboratório e ao meu coorientador Professor Dr. Willibaldo Schmidell Netto, que me ajudou nas dificuldades em desenvolver minha dissertação, me apoiando na decisão de mudança do tema quando foi necessário.

Agradeço também a todo o pessoal do LTBR que acompanharam meu trabalho e me ajudaram dando ideias e opiniões. E principalmente ao meu aluno de iniciação científica, Rodolfo, que trabalhou um ano ao meu lado, mesmo sem bolsa, ajudando durante os experimentos.

Agradeço as minhas amigas mais próximas que fiz no mestrado, Amanda, Giselle, Juliana e Natália que me acompanharam e apoiaram nos momentos de desânimo, para que eu tivesse forças para seguir em frente e conseguir concluir este trabalho.

Agradeço a todos os amigos de vida, de infância e da graduação, e minhas amigas do vôlei que me acompanharam nessa trajetória, alguns mesmo que de longe, e sempre me apoiaram. Em especial ao Lucas Motta, que me apoiou e acalmou nos momentos difíceis da execução deste trabalho e que me apoiou desde a decisão de iniciar o mestrado, até a não desistir no meio do caminho quando as coisas não estavam dando certo. Obrigada por me fazer enxergar que eu precisava passar por essas situações para aprender e evoluir ainda mais.

Por fim agradeço a todos os outros amigos da pós-graduação e colegas que me acompanharam de alguma forma e fizeram o meu dia-a-dia mais animado com as risadas e conversas de intervalos de aula e com os momentos de distração.

“Pensar pequeno e pensar grande dá o mesmo trabalho. Mas pensar grande te liberta dos detalhes insignificantes.”
(Jorge Paulo Leman)

RESUMO

Os biossurfactantes são compostos anfífilos produzidos por microrganismos e são capazes de diminuir as tensões superficiais e interfaciais. A surfactina, produzida por *Bacillus subtilis*, é um dos biossurfactantes que apresenta melhor atividade superficial. O fornecimento de oxigênio dissolvido suficiente é essencial para garantir a eficiência do processo de produção da surfactina. Por isso, é necessário avaliar a capacidade de transferência de oxigênio do sistema de agitação e aeração por meio do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$), para poder definir-se a melhor condição de agitação mecânica e aeração a ser aplicada no sistema produtivo. Além disso, a composição do meio de cultivo e o biossurfactante produzido interferem na transferência de oxigênio, assim como a geometria do reator utilizado no processo. Diante do que foi exposto, este estudo propõe a caracterização da transferência de oxigênio em meio de cultivo, que é utilizado para a produção da surfactina, para avaliar a influência dos seus compostos na transferência de oxigênio e quais deles tem maior impacto no $k_L a$. Além disso, avaliou-se a influência de diferentes concentrações de surfactante na transferência de oxigênio, bem como a influência da geometria do reator nos valores de $k_L a$. Os ensaios foram conduzidos em água destilada e em meio salino composto por 10 g.L⁻¹ de glicose e suplementado com extrato de levedura, em reator de 3 e 5L de volume útil e o surfactante utilizado foi o SDS (dodecil sulfato de sódio), devido ao seu baixo custo. Os resultados mostraram que a salinidade do meio de cultivo afeta positivamente a transferência de oxigênio e que o KH_2PO_4 é o composto que individualmente possui maior influência na transferência de oxigênio, sendo que sua ausência diminuiu bastante o valor de $k_L a$ do líquido. Observou-se ainda que baixas concentrações de SDS aumentam a transferência de oxigênio em água, mas ao se aumentar a concentração de surfactante os valores de $k_L a$ diminuem devido à resistência que o acúmulo de surfactante na superfície da bolha de ar causa na difusão do oxigênio no líquido. Por fim, a geometria do reator influenciou no $k_L a$, apresentando uma maior transferência de oxigênio no reator de maior volume.

PALAVRAS-CHAVE: biossurfactante, transferência de oxigênio, geometria do reator.

ABSTRACT

Biosurfactants are amphiphilic compounds produced by microorganisms that are able to reduce the surface and interfacial tensions. Surfactin, produced by *Bacillus subtilis*, is one of the biosurfactants that has the high superficial activity. The supply of sufficient dissolved oxygen is essential to ensure the efficiency of the surfactin production process. Therefore, it is necessary to evaluate the oxygen transfer capacity of the agitation and aeration system through the volumetric oxygen transfer coefficient ($k_{L}a$), in order to be able to define the best condition of mechanical agitation and aeration to be applied in the production system. In addition, the composition of the culture medium and the biosurfactant produced interfere on the oxygen transfer, as well as the geometry of the reactor used in the process. In view of what was mentioned above, this study proposes the characterization of oxygen transfer in culture medium, which is used for the production of surfactin, to evaluate the influence of its compounds on the oxygen transfer and which of them has the greatest impact on $k_{L}a$. In addition, the influence of different concentrations of surfactant on the oxygen transfer, as well as the influence of the reactor geometry on the $k_{L}a$ values were evaluated. The assays were conducted in distilled water and in saline medium composed of 10 g.L^{-1} glucose and supplemented with yeast extract in a 3 and 5 L volume reactor and the surfactant used was SDS (sodium dodecyl sulfate) due to its low cost. The results showed that the salinity of the culture medium positively affects oxygen transfer and that KH_2PO_4 is the compound that individually has the greatest influence on oxygen transfer, and its absence greatly decreases the $k_{L}a$ value. It was also observed that low concentrations of SDS increase the transfer of oxygen in water, but by increasing the concentration of surfactant the values of $k_{L}a$ decrease due to the resistance that the accumulation of surfactant in the surface of the air bubble causes in the diffusion of the oxygen in the liquid. Finally, the reactor geometry had an influence on $k_{L}a$, presenting a greater oxygen transfer in the higher volume reactor.

KEY-WORDS: biosurfactant, oxygen transfer, reactor geometry.

NOMENCLATURA E SIMBOLOGIA

VTO	Velocidade de transferência de oxigênio ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)
MEO	Microbial Enhanced Oil Recovery
R	
OD	Oxigênio dissolvido ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)
CMC	Concentração Micelar Crítica ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
EDTA	Ácido etileno diamino tetra-acético
SDS	Dodecil sulfato de sódio
$k_L a$	Coefficiente volumétrico de transferência de oxigênio (h^{-1})
k_p	Constante de atraso do eletrodo (h^{-1})
C_S	Concentração de oxigênio na saturação ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)
C_p	Concentração de oxigênio dada pelo eletrodo ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)
rpm	Rotações por minuto (sistema de agitação)
vvm	Volume de ar por volume de meio por minuto (vazão específica de aeração)
k_g	Coefficiente de transferência de massa da película gasosa ($\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$)
k_L	Coefficiente de transferência de massa da película líquida ($\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$)
p_g	Pressão parcial de O_2 no seio gasoso (atm)
p_i	Pressão parcial de O_2 na interface (atm)
p_l	Pressão parcial de O_2 em um gás que estaria em equilíbrio com a concentração de oxigênio C no líquido, segundo a lei de Henry (atm)
H	Constante de Henry ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{atm}^{-1}$)
C_i	Concentração de O_2 dissolvido em equilíbrio com p_i ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3}$)
C	Concentração de oxigênio no seio do líquido ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3}$)

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Tensão superficial, tensão interfacial e solubilidade em função da concentração de biossurfactante.	31
Figura 2.2 Interface gás-líquido com as películas estagnadas.....	36
Figura 4.1 Resposta do eletrodo (C_p/C_s) em função do tempo (t) para a determinação da constante de atraso do eletrodo (k_p).	49
Figura 4.2 Resposta do eletrodo (C_p/C_s) em função do tempo (t) para a determinação da constante de atraso do eletrodo (k_p).	50
Figura 4.3 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada em reator de 5L de volume útil.....	51
Figura 4.4 Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio para diferentes frequências de agitação e vazões de aeração em água destilada em reator de 5L de volume útil.	53
Figura 4.5 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo em reator de 5L de volume útil.....	54
Figura 4.6 Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio para diferentes frequências de agitação e vazões de aeração em meio de cultivo em reator de 5L de volume útil.	56
Figura 4.7 Comparativo dos valores de k_{La} em água destilada e em meio de cultivo em reator de 5L de volume útil.....	57
Figura 4.8 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo sem glicose.	58
Figura 4.9 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo sem extrato de levedura.	60
Figura 4.10 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 500 rpm de agitação em meio de cultivo sem Na_2HPO_4	61
Figura 4.11 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_{La}) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo sem KH_2PO_4	62
Figura 4.12 Comparativo dos valores de k_{La} em água destilada, meio de cultivo e meio de cultivo sem KH_2PO_4 , com vazão de aeração de 0,3 vvm.....	64

Figura 4.13 Comparativo dos valores de k_La em água destilada, meio de cultivo e meio de cultivo sem KH_2PO_4 , com vazão de aeração de 1,0 vvm.....	65
Figura 4.14 Comparativo dos valores de k_La em água destilada, meio de cultivo e meio de cultivo sem KH_2PO_4 , com vazão de aeração de 1,4 vvm.....	65
Figura 4.15 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo sem $NaNO_3$	67
Figura 4.16 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 500 rpm de agitação em meio de cultivo sem NH_4Cl	68
Figura 4.17 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada com $NaOH$	70
Figura 4.18 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada com $3,0\text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	72
Figura 4.19 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada com $6,25\text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	74
Figura 4.20 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 1,4 vvm de aeração e 500 rpm de agitação em água destilada com $12,5\text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	76
Figura 4.21 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada com $20,0\text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	78
Figura 4.22 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada com $25,0\text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	79
Figura 4.23 Comportamento do k_La com o aumento da concentração de surfactante em água destilada com vazão de aeração de 0,3 vvm.	81
Figura 4.24 Comportamento do k_La com o aumento da concentração de surfactante em água destilada com vazão de aeração de 1,0 vvm.	82
Figura 4.25 Comportamento do k_La com o aumento da concentração de surfactante em água destilada com vazão de aeração de 1,4 vvm.	82
Figura 4.26 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo com $3,0\text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	84

Figura 4.27 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada em reator de 3L de volume útil.....	89
Figura 4.28 Comparativo dos valores de $k_{L,a}$ em água destilada em reator de 3L e 5L de volume útil.	91
Figura 4.29 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo em reator de 3L de volume útil.....	92
Figura 4.30 Comparativo dos valores de $k_{L,a}$ em meio de cultivo em reator de 3L e 5L de volume útil.	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada em reator de 5L de volume útil.	52
Tabela 4.2 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo completo em reator de 5L de volume útil.	55
Tabela 4.3 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem glicose.....	58
Tabela 4.4 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem extrato de levedura.	59
Tabela 4.5 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem Na_2HPO_4	61
Tabela 4.6 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem KH_2PO_4	63
Tabela 4.7 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem NaNO_3	67
Tabela 4.8 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem NH_4Cl	69
Tabela 4.9 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com NaOH	70
Tabela 4.10 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	73
Tabela 4.11 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com $6,25 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	75
Tabela 4.12 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com $12,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	77
Tabela 4.13 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com $20,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	78
Tabela 4.14 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com $25,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.	80
Tabela 4.15 Valores de k_La para diferentes líquidos com frequência de agitação de 250 rpm e vazão de aeração de 0,3 vvm.....	85
Tabela 4.16 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de aeração e agitação em água destilada, meio de cultivo e meio sem KH_2PO_4 . ..	86
Tabela 4.17 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de aeração e agitação em água destilada com diferentes concentrações de SDS.	87
Tabela 4.18 Dimensões dos reatores de 3 e 5L de volume útil.	88

Tabela 4.19 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada em reator de 3L de volume útil. 90

Tabela 4.20 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo em reator de 3L de volume útil. 93

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
1.1	Objetivo Geral	26
1.2	Objetivos Específicos	26
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
2.1	Biossurfactantes.....	29
2.2	Surfactina.....	31
2.3	Dodecilsulfato de sódio (SDS)	33
2.4	Fatores que afetam a produção de biossurfactantes.....	34
2.5	Transferência de oxigênio	35
2.5.1	Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$)	35
2.5.2	Efeito de diferentes compostos na transferência de oxigênio	41
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
3.1	Meio de cultivo.....	43
3.2	Medida de salinidade e densidade	43
3.3	Determinação da constante de atraso do eletrodo (k_p).....	43
3.4	Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$).....	44
3.4.1	Determinação do $k_{L,a}$ em água destilada em reator de 5L de volume útil	44
3.4.2	Determinação do $k_{L,a}$ em meio de cultivo em reator de 5L de volume útil.....	45
3.4.3	Determinação do $k_{L,a}$ em meio de cultivo com variações em reator de 5L de volume útil	45
3.4.4	Determinação do $k_{L,a}$ em água destilada com surfactante em reator de 5L de volume útil	46
3.4.5	Determinação do $k_{L,a}$ em meio de cultivo com surfactante em reator de 5L de volume útil.....	46
3.4.6	Determinação do $k_{L,a}$ em reator de 3L de volume útil..	47
3.5	Tratamento dos dados.....	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1	Determinação da constante de atraso do eletrodo de oxigênio dissolvido (k_p)	49
4.2	Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$) em água destilada em reator de 5L de volume útil....	51

4.3	Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) em meio de cultivo em reator de 5L de volume útil..	53
4.4	Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) em meio de cultivo com variações em reator de 5L de volume útil	57
4.5	Salinidade e densidade.....	71
4.6	Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) em água destilada com surfactante SDS em reator de 5L de volume útil	71
4.6.1	Determinação do $k_L a$ em água destilada com 3,0 mg.L ⁻¹ de SDS	72
4.6.2	Determinação do $k_L a$ em água destilada com 6,25 mg.L ⁻¹ de SDS	74
4.6.3	Determinação do $k_L a$ em água destilada com 12,5 mg.L ⁻¹ de SDS	75
4.6.4	Determinação do $k_L a$ em água destilada com 20,0 mg.L ⁻¹ de SDS	77
4.6.5	Determinação do $k_L a$ em água destilada com 25,0 mg.L ⁻¹ de SDS	79
4.7	Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) em meio de cultivo com 3,0 mg.L ⁻¹ de surfactante SDS em reator de 5L de volume útil	83
4.8	Resumo dos principais resultados obtidos para o reator de 5L de volume útil	85
4.9	Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) em reator com 3L de volume útil	88
4.9.1	Determinação do $k_L a$ em água destilada em reator de 3L de volume útil	88
4.9.2	Determinação do $k_L a$ em meio de cultivo em reator de 3L de volume útil.....	91
5	CONCLUSÕES	95
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	97
7	REFERÊNCIAS.....	99

1 INTRODUÇÃO

Os surfactantes são compostos capazes de reduzir a tensão superficial e interfacial, sendo largamente utilizados em vários setores industriais, incluindo a indústria de produtos de limpeza, indústria de petróleo, indústria de cosméticos e produtos de higiene (NITSCHKE; PASTORE, 2002). Entretanto, esses compostos, que em sua maioria são sintetizados a partir de derivados de petróleo, não são biodegradáveis, podendo ainda ser tóxicos para o ambiente (BANAT, 1995).

Alguns microrganismos como bactérias, fungos e leveduras podem sintetizar compostos orgânicos que exibem atividade superficial, conhecidos como biossurfactantes, e esses podem ser encontrados na superfície das células microbianas ou excretados extracelularmente (MULLIGAN, 2005).

Os biossurfactantes, além de serem capazes de reduzir a tensão superficial, podem ser produzidos a partir de matérias primas baratas e renováveis, exibem baixa toxicidade, são biodegradáveis, e são efetivos mesmo sob condições extremas de temperatura, pH e salinidade (AMANI et al., 2010).

A surfactina, produzida pela cepa *Bacillus subtilis* ATCC 21332, é reconhecida como um dos biossurfactantes mais efetivos dentre os disponíveis, já que é capaz de reduzir a tensão superficial da água de 72 para 27,9 mN/m em concentrações menores que 0,005% (DESAI; BANAI, 1997; YEH; WEI; CHANG, 2006). Sendo assim, seu processo de produção é de elevado interesse.

Sabe-se que o fornecimento de oxigênio dissolvido suficiente, por meio da agitação mecânica e da aeração, é essencial para garantir a eficiência do processo de produção da surfactina (YEH; WEI; CHANG, 2006). A caracterização da transferência de oxigênio é de extrema importância para saber como o oxigênio está sendo fornecido às bactérias. Ela é bem representada pelo coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$).

A velocidade global de transferência de massa não é fácil de medir, porque diferentes fenômenos ocorrem simultaneamente; também a importância relativa desses fenômenos muda com a escala, o tipo de biorreator, etc. Portanto, a velocidade de transferência de oxigênio é influenciada por um elevado número de grandezas (propriedades físicas do gás e líquido, condições operacionais, geometria do biorreator) e

também pela presença de biomassa, ou seja, o consumo de oxigênio pela células (GARCIA-OCHOA, F.; GOMEZ, E., 2008).

Foram realizadas também pesquisas acadêmicas sobre o impacto de vestígios de surfactantes na hidrodinâmica de bolhas (tamanho, forma, velocidade de elevação, coeficiente de arrasto) e na transferência de massa gás-líquido (JAMNONGWONG et al., 2010).

Para aplicação em processo produtivo de surfactina por *Bacillus subtilis* ATCC 21332, viu-se então a necessidade de caracterizar melhor a transferência de oxigênio no sistema, visto que em estudos anteriores realizados em nosso grupo de pesquisa no Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos (LTBR) tínhamos como base o $k_{L}a$ em água.

Sendo assim, o presente estudo avalia a transferência de oxigênio no meio de cultivo referente ao processo de produção da surfactina, avaliando quais compostos influenciam no $k_{L}a$ e o quanto eles influenciam, se comparado com a água. Além disso foi feita uma avaliação do efeito do surfactante SDS sobre o $k_{L}a$, sendo testadas diferentes concentrações do produto, para entender melhor o comportamento da transferência de oxigênio no processo produtivo em presença de um produto semelhante ao desejado. Destaca-se que não foi utilizada a surfactina neste estudo devido ao alto custo da mesma. Foi feita ainda uma comparação dos valores de $k_{L}a$ em reatores de diferentes tamanhos e configurações, para avaliar a influência da geometria do reator na transferência de oxigênio.

1.1 Objetivo Geral

Caracterizar a transferência de oxigênio em sistema aerado e agitado para aplicação em processo de produção de biossurfactantes, avaliando diferentes condições de meio de cultivo, presença de surfactante e diferentes geometrias de reatores.

1.2 Objetivos Específicos

- a) Determinar o efeito da aeração e agitação no coeficiente de transferência de oxigênio ($k_{L}a$) em água destilada e meio de cultivo;
- b) Determinar quais compostos presentes no meio de cultivo afetam os valores de $k_{L}a$;
- c) Estudar como a concentração do surfactante afeta o $k_{L}a$;

- d) Avaliar o efeito da geometria do reator no $k_L a$, comparando dois tamanhos de reatores.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biossurfactantes

Os surfactantes constituem uma classe importante de compostos químicos amplamente utilizados em diversos setores industriais. Eles podem ser definidos como compostos orgânicos constituídos por moléculas anfifílicas contendo uma porção hidrofóbica, geralmente composta por hidrocarbonetos, e uma porção hidrofílica, composta por grupamentos carboxílicos ou aminoácidos (DESAI; BANAT, 1997). Os surfactantes podem ser sintéticos, obtidos a partir de sínteses químicas, ou podem ser sintetizados por organismos vivos, como plantas (saponinas) ou microrganismos (lipopeptídeos) (BOGNOLO, 1999; MAIER, 2003).

Os compostos de origem microbiana que possuem propriedades surfactantes, isto é, que diminuem as tensões superficiais e interfaciais e exibem alta capacidade emulsificante (capacidade de mistura de dois líquidos imiscíveis, formando uma emulsão estável) são denominados biossurfactantes e consistem de produtos metabólicos de bactérias e fungos (CRASTO, 2005). A maioria dos biossurfactantes microbianos relatados na literatura é de origem bacteriana. As bactérias produtoras mais reportadas são dos gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus* e *Arthrobacter* (FONTES; AMARAL; COELHO, 2008).

Os biossurfactantes constituem uma das principais classes de surfactantes naturais e são classificados por sua composição química e pela origem microbiana. Eles podem ser divididos em dois grandes grupos: biossurfactantes de alta massa molecular, conhecidos como bioemulsificantes (biossurfactantes poliméricos e particulados) os quais produzem emulsões em meio aquoso e não são normalmente excretados; e biossurfactantes de baixa massa molecular (lipopeptídeos e glicolipídios), os quais são excretados para o meio ambiente, a fim de reduzir a tensão superficial do meio (RON; ROSENBERG, 2001). Dentre a classe dos lipopeptídeos, a surfactina é o representante mais conhecido, e dentre os glicolipídeos encontram-se os rhamnolipídeos.

Biossurfactantes geralmente têm as vantagens sobre os demais por apresentarem alta biodegradabilidade, biocompatibilidade e baixa toxicidade se comparados a surfactantes quimicamente sintetizados. Além disso, eles podem potencialmente ser sintetizados a partir de substratos de baixo custo e sendo geralmente eficazes quando

submetidos a valores extremos de pH, temperatura e salinidade (DAVIS; LYNCH; VARLEY, 1999), apresentando ainda valores de CMC menores que os surfactantes químicos (GUDIÑA et al., 2012; DE OLIVEIRA et al., 2013).

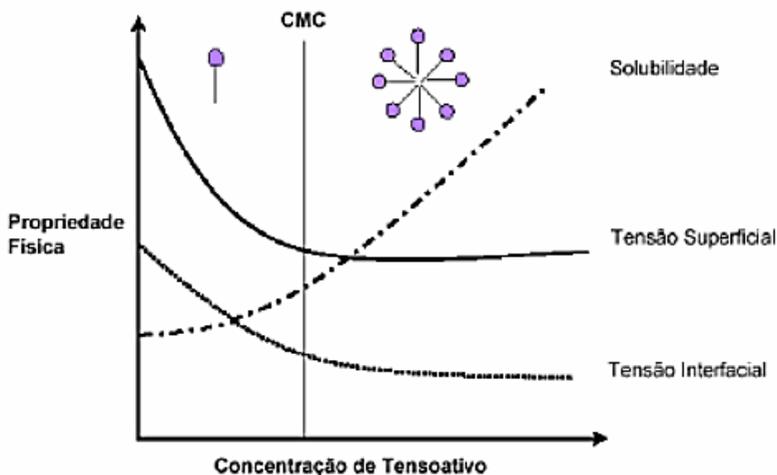
No entanto, biossurfactantes não estão amplamente disponíveis devido aos altos custos relacionados a sua produção, que resultam principalmente de baixas produtividades e despesas elevadas de recuperação (DAVIS; LYNCH; VARLEY, 1999). Além disso, há dificuldade em se obter produtos puros e o aumento da produção tem como consequência a formação de grande volume de espuma, impedindo a manutenção do processo (KOSARIC, 1992).

Devido às propriedades e funções fisiológicas dos biossurfactantes o potencial campo de aplicação dos mesmos se torna bastante abrangente, podendo ser empregados na indústria de processamento de alimentos (BARROS et al., 2007; MAKKAR; CAMEOTRA; BANAT, 2011), nas indústrias de detergentes, farmacêutica e de cosméticos (WANG et al., 2008; HÖRMANN et al., 2010), na área ambiental, removendo metais pesados e substituindo agroquímicos (LIMA JUNIOR, 2012) e na MEOR (*Microbial Enhanced Oil Recovery*) (YOUSSEF et al., 2013).

Um dos índices mais utilizados para a avaliação da atividade surfactante é a concentração micelar crítica (CMC). A CMC é a solubilidade de um surfactante na fase aquosa, mas também pode ser definida como a concentração de surfactante mínima necessária para se obter os menores valores de tensão superficial ou interfacial (LIN, 1996). Em concentrações acima da CMC, moléculas anfipáticas se associam prontamente para formar estruturas supramoleculares como micelas, bicamadas e vesículas, não havendo mais então uma redução da tensão interfacial (LIN, 1996; DESAI; BANAT, 1997). A Figura 2.1 mostra a relação entre a concentração do biossurfactante e as suas propriedades físicas.

Quanto menor o valor da CMC mais eficiente é considerado o biossurfactante (PACWA-PLOCINICZAK et al., 2011), especialmente do ponto de vista econômico para aplicação industrial, já que seria menor a concentração necessária para reduzir a tensão superficial ao máximo (PERNA, 2010).

Figura 2.1 Tensão superficial, tensão interfacial e solubilidade em função da concentração de biossurfactante.



Fonte: MULLIGAN et al., 2001.

Dentre a gama de biossurfactantes os lipopeptídeos estão entre os mais eficientes (ZAJIC; SEFFENS, 1984). A surfactina produzida por *Bacillus subtilis* é o lipopeptídeo mais estudado (PEREIRA et al., 2013) e também considerado o mais efetivo (SCHALLER et al., 2004), pois além de ser obtido por processos menos agressivos sob o ponto de vista ambiental, tem alta eficiência e grande aplicação (BARROS et al., 2007). Por esses motivos, a surfactina tem sido amplamente caracterizada em termos da sua biossíntese e suas propriedades de superfície.

2.2 Surfactina

A surfactina (massa molar $1036,34 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) pode ser produzida por várias espécies de *Bacillus*, sendo mais produzida por cepas de *Bacillus subtilis* (COSTA, 2005).

Kowall et al. (1998) relataram que a atividade biológica da surfactina depende tanto da composição de aminoácidos e da sequência do peptídeo, como da natureza da sua parte lipídica. As proporções das

isoformas produzidas dependem da linhagem e das condições ambientais e nutricionais em que o biossurfactante foi produzido (LIU; YANG; MU, 2008).

Quando é comparada a outros biossurfactantes e a alguns surfactantes sintéticos, a surfactina possui maior capacidade de reduzir a tensão superficial e interfacial e apresenta menores valores de concentração micelar crítica (CMC), sendo por isso considerada um biossurfactante de elevada eficiência (BARROS et al., 2007).

A surfactina, principal representante da família dos lipopeptídeos, é conhecida por apresentar excepcional atividade superficial. A surfactina apresenta uma CMC em água de 25 mg.L^{-1} , capaz de reduzir a tensão superficial da água ($20 \text{ }^\circ\text{C}$) de 72 mN.m^{-1} para 27 mN.m^{-1} , além de reduzir a tensão interfacial do sistema água/hexadecano de 43 mN.m^{-1} para valores menores que 1 mN.m^{-1} (COOPER et al., 1981; BARROS et al., 2007; PERNA, 2010). Os valores relatados para a CMC da surfactina encontram-se em torno de 10 mg.L^{-1} (DE OLIVEIRA et al., 2013), $12,4 \text{ mg.L}^{-1}$ (HUANG et al., 2015) e 20 mg.L^{-1} (GUDIÑA et al., 2012; LIU et al. 2015).

As propriedades surfactantes da surfactina apresentam dependência em relação aos valores do pH. Isso ocorre devido ao fato da surfactina precipitar em meio ácido sem ter sua estrutura alterada. Essa característica constitui em uma vantagem adicional, pois mesmo quando submetida a condições mais extremas de pH, a molécula de surfactina conserva sua estrutura química original (COOPER et al., 1981).

Ela apresenta três funções principais, sendo elas: aumentar a área superficial de substratos hidrofóbicos insolúveis em água, aumentar a biodisponibilidade de substratos hidrofóbicos pelo aumento de sua solubilidade aparente e influenciar a adesão de microrganismos a superfícies (FÁBIO et al., 2007).

A surfactina é um dos biossurfactantes mais estudados e tem sido amplamente caracterizada em termos de sua biossíntese e propriedades de superfície (DAVIS; LYNCH; VARLEY, 1999). Em virtude de suas características químicas, tecnológicas e funcionais, a surfactina apresenta-se como um composto atrativo para diversas aplicações, tanto na área ambiental, como médico-farmacêutica (BARROS et al., 2007; PERNA, 2010).

Apesar de a surfactina aparecer como um biossurfactante adequado para diversas aplicações, os altos custos de produção e recuperação e baixos rendimentos têm limitado o seu emprego em aplicações

comerciais (SHALIGRAM; SINGHAL, 2010; CHEN; JUANG; WEI, 2015). Estima-se que a quantidade e o tipo de matéria-prima podem contribuir em 10-30 % dos custos totais de produção na maioria dos processos biotecnológicos (MUKHERJEE; DAS; SEN, 2006). No entanto, a recuperação, concentração e purificação dos biossurfactantes representam a maior parte dos custos totais da produção (SHALIGRAM; SINGHAL, 2010). Os processos de *downstream* podem representar cerca de 60 % dos custos totais de produção do produto, isso porque os produtos de fermentação, incluindo os biossurfactantes, são secretados como uma solução diluída (DESAI; DESAI, 1993; SAHARAN; SAHU; SHARMA, 2011).

A surfactina com 98% de pureza é um produto de alto valor agregado, sendo comercializada pela Sigma Chemical Company por algo como R\$ 6.355,00 a cada 50 mg (R\$ 127.100,00.g⁻¹) (SIGMA-ALDRICH, 2017). Segundo Makkar, Cameotra e Banat (2011) em comparação ao custo de surfactantes químicos, que ficam em torno de 1 dólar.lb⁻¹ (R\$ 0,007.g⁻¹), os preços dos biossurfactantes são mais elevados, porém quando se leva em consideração os danos ambientais que os surfactantes químicos podem causar, o custo acaba sendo muito maior do que um dólar. Desai e Banat (1997) relataram que o custo de produção dos biossurfactantes é de aproximadamente três a dez vezes maior do que os surfactantes químicos. Assim, métodos de produção mais eficientes e mais baratos precisam ser desenvolvidos (MOYA et al., 2015).

2.3 Dodecilsulfato de sódio (SDS)

O SDS (dodecilsulfato de sódio), de fórmula química NaC₁₂H₂₅SO₄ e massa molar 288,372 g.mol⁻¹, é um composto orgânico aniônico com propriedades surfactantes. Ele é um surfactante sintético, produzido pela sulfatação de ácido sulfúrico com dodecanol (álcool láurico, C₁₂H₂₅OH) seguido pela neutralização com carbonato de sódio ou hidróxido de sódio. Dada a sua estrutura, essa molécula possui propriedades anfífilas. No seu estado nativo é um sólido de cor branca com densidade muito próxima da água. O SDS possui uma melhor solubilidade em água quando a sua granulometria é maior (FCIENCIAS, 2013). Sua CMC em água é de 2,16 a 2,45 g.L⁻¹, capaz de reduzir a tensão superficial da água de 72 mN.m⁻¹ para 37 mN.m⁻¹ (MORAES; RESENDE, 2004; BARCELLOS et al., 2004), ou seja, apresenta uma

ação semelhante à da surfactina em relação à redução da tensão superficial.

O SDS é um dos surfactantes aniônicos mais utilizados no mundo, principalmente na produção de produtos de higiene pessoal e de limpeza doméstica. É também usado na indústria farmacêutica, na produção de plásticos e tintas, e em estudos bioquímicos e ecotoxicológicos (DYER et al., 1997). Segundo Romanelli et al. (2004), o SDS está listado entre os surfactantes aniônicos mais utilizados no Brasil.

2.4 Fatores que afetam a produção de biossurfactantes

A produção de surfactina por *Bacillus subtilis* geralmente é conduzida em biorreator descontínuo, podendo ser realizada também em batelada alimentada. O controle e a otimização das condições operacionais como temperatura, pH, agitação e aeração são fundamentais para o sucesso da ampliação de escala de produção de biossurfactantes, capazes de torná-los economicamente competitivos em relação aos surfactantes químicos (FONTES; AMARAL; COELHO, 2008).

A temperatura e o pH ideais são fatores já bem definidos para o processo. A temperatura ótima do *Bacillus subtilis* é de 35 °C (HOLT et al., 1994), sendo assim o processo deve ser conduzido numa faixa de temperatura próxima a essa temperatura, para que o processo seja mais eficiente.

Sabe-se também que o pH ótimo para muitas espécies de bactérias é a neutralidade. Por isso, busca-se conduzir o processo com pH 7,0, sendo feita adição de ácido e/ou base quando necessário.

Aeração e agitação são dois fatores importantes que afetam a produção de biossurfactante, pois seu objetivo geral é o fornecimento de oxigênio para a manutenção de uma dada atividade respiratória de um certo conjunto de células e facilitam a transferência de oxigênio da fase gasosa para a fase aquosa (SCHMIDELL et al., 2001). Adamczak e Bednarsk (2000) avaliaram a influência da aeração na síntese de biossurfactante por *C. antarctica*. A maior produção de biossurfactante (45,5 g.L⁻¹) foi alcançada quando a levedura foi cultivada em meio com uma vazão de aeração de 1 vvm (volume de ar por volume de meio por min).

Ainda assim, muitos estudos vêm sendo feitos para se avaliar a transferência de oxigênio para poder definir as melhores condições de agitação e aeração para conduzir o processo produtivo da surfactina.

2.5 Transferência de oxigênio

A aeração é um fator importante na produção da surfactina, pois, segundo Schmidell et al. (2001) para um processo aeróbio ser altamente eficiente há necessidade da existência de oxigênio dissolvido no meio. No entanto, esse elemento é pouco solúvel em água, sendo que a concentração de oxigênio dissolvido na saturação é apenas da ordem de $7 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, (a 1 atm e a $35 \text{ }^\circ\text{C}$). Sendo assim, existe a necessidade de uma aeração contínua durante todo o processo fermentativo.

A aeração do sistema pode ser feita de duas formas, por aeração superficial ou em profundidade, ou seja, pelo borbulhamento de ar no meio. No entanto, a eficiência da transferência de oxigênio no meio aumenta quando o processo além de aerado em profundidade é agitado. Os reatores agitados e aerados são os mais frequentes na indústria, responsáveis por cerca de 93% das aplicações (SCHMIDELL et al., 2001).

Em um sistema agitado e aerado, tem-se como objetivo a transferência de oxigênio da fase gasosa para a fase líquida, a fim de se obter uma eficiente dissolução do oxigênio no meio líquido, para que esse chegue às células e possa então ser consumido de forma plena (SCHMIDELL, 2001). Sendo assim, quando se deseja operar um biorreator em aerobiose, faz-se necessário a compreensão e o correto dimensionamento da transferência de oxigênio do sistema.

2.5.1 Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La)

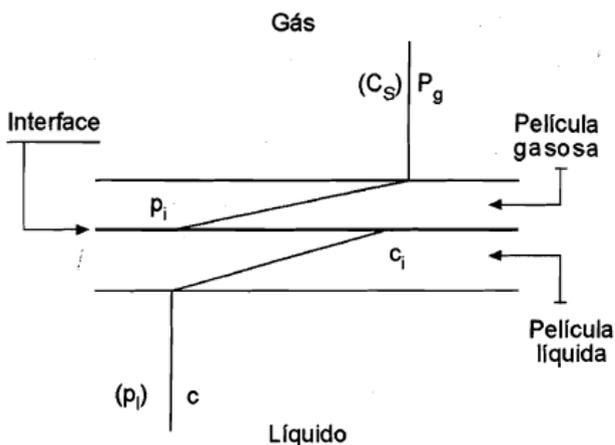
Uma forma conveniente de avaliar a capacidade de transferência de oxigênio de um biorreator em cultivos aeróbios é a medida do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) (BADINO; ALMEIDA; CRUZ, 2004). A transferência de oxigênio depende tanto do k_La quanto da pressão de gás e da concentração de saturação de oxigênio (C_s). O k_La mede essencialmente a capacidade de fornecimento de oxigênio para as células e é um dos critérios mais utilizados no projeto e na ampliação de escala de fermentadores convencionais

agitados e aerados (BADINO; ALMEIDA; CRUZ, 2004; BANDYOPADHYAY; HUMPHREY; TAGUCHI, 2009).

O valor de $k_L a$ pode ser manipulado pela vazão de aeração e frequência de agitação (YEH; WEI; CHANG, 2006). Aumentando-se a frequência de agitação, se estaria rompendo e dispersando mais as bolhas de ar e reduzindo a espessura do filme líquido. Por outro lado, o aumento da vazão de aeração provoca um maior acúmulo de bolhas de ar no seio líquido e, dessa forma, aumenta-se a área interfacial de transferência de massa (SCHMIDELL, 2001).

Segundo Schmidell (2001), dentre as várias teorias que permitem o equacionamento da transferência de oxigênio, a de maior utilidade é aquela que considera a existência de duas películas estagnadas. A Figura 2.2 ilustra a interface líquido-gás com as mencionadas películas.

Figura 2.2 Interface gás-líquido com as películas estagnadas.



Fonte: SCHMIDELL et al., 2001.

Admitindo que o sistema esteja em estado estacionário, em termos da transferência de oxigênio, assim como a existência de um perfil linear da concentração de oxigênio no interior das películas, pode-se escrever:

$$n_{O_2} = \frac{\text{gradiente}}{\text{resistência}}$$

Onde: n_{O_2} = fluxo de oxigênio por unidade de área interfacial ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$)

resistência = inverso do coeficiente de transferência

ou seja:

$$\begin{aligned} n_{O_2} &= k_g H(p_g - p_i) = k_L H(p_i - p_l) = k_g(C_s - C_i) = \\ &= k_L(C_i - C) \end{aligned} \quad (2.1)$$

Onde: k_g = coeficiente de transferência de massa da película gasosa ($\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$)

k_L = coeficiente de transferência de massa da película líquida ($\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$)

p_g = pressão parcial de O_2 no seio gasoso (atm)

p_i = pressão parcial de O_2 na interface (atm)

p_l = pressão parcial de O_2 em um gás que estaria em equilíbrio com a concentração de oxigênio C no líquido (atm)

H = constante de Henry ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{atm}^{-1}$)

C_s = concentração de O_2 dissolvido no líquido em equilíbrio com p_g ($\text{g O}_2 \cdot \text{m}^{-3}$)

C_i = concentração de O_2 dissolvido em equilíbrio com p_i ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3}$)

C = concentração de oxigênio no seio do líquido ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3}$)

Na Equação 2.1, introduziram-se como gradientes as diferenças entre as pressões parciais de O_2 ou essas traduzidas em concentrações através da lei de Henry. Como não há condições de se conhecer os valores relativos à interface gás-líquido, podendo-se determinar os valores das concentrações no seio do gás e do líquido, prefere-se trabalhar com um coeficiente global de transferência de oxigênio (o qual corresponderia à soma das resistências das duas películas). Ou, ainda, sendo que a resistência devido ao filme gasoso pode ser desprezada, tendo em vista a resistência do filme líquido, pode-se considerar $p_g = p_i$ e, como decorrência, $C_i = C_s$.

Assim, a Eq. 2.1 pode ser escrita por:

$$n_{O_2} = k_L H(p_g - p_l) = k_L(C_s - C) \quad (2.2)$$

Tendo em vista que esse fluxo de oxigênio está definido por unidade de área interfacial de troca de massa, área essa de difícil

quantificação quando se tem um enorme número de bolhas suspensas em um líquido, pode-se definir:

$$a = \frac{\text{área interfacial de transferência de massa (m}^2\text{)}}{\text{volume total de líquido (m}^3\text{)}}$$

Assim, pode-se escrever:

$$n_{O_2} = k_L a (C_s - C) \quad (2.3)$$

Onde: $n_{O_2} a$ = velocidade de transferência de oxigênio ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$)
 $k_L a$ = coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (h^{-1})

Então, caso não se esteja em estado estacionário em termos de fluxo de O_2 , mas esteja ocorrendo uma variação da concentração de oxigênio dissolvido (C) no tempo (t), pode-se escrever que $n_{O_2} a = \frac{dC}{dt}$ ($\text{gO}_2 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{h}^{-1}$), ou seja, a capacidade de transferência de oxigênio de dado sistema de agitação e aeração, pode ser descrita pela Equação 2.4 a seguir.

$$\frac{dC}{dt} = k_L a (C_s - C) \quad (2.4)$$

Onde: C = Concentração de oxigênio no seio do líquido ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)
 C_s = Concentração de oxigênio na saturação ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)
 $k_L a$ = coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (h^{-1})
 t = tempo (h)

A máxima capacidade de transferência de oxigênio de um dado sistema de agitação e aeração é dada pelo produto $k_L a C_s$, ou seja, quando não existe O_2 no meio. Essa equação, apesar de simples, permite uma exata compreensão de todas as formas que se dispõe para o controle da concentração de oxigênio dissolvido em um certo meio.

Integrando-se a Equação 2.4 e considerando-se as condições iniciais de $t=0$ e $C=0$ é possível obter a equação abaixo para a determinação do coeficiente de transferência de oxigênio.

$$\frac{C}{C_s} = 1 - e^{-k_L a t} \quad (2.5)$$

Onde: C = Concentração de oxigênio no seio do líquido ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)
 C_s = Concentração de oxigênio na saturação ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)
 $k_L a$ = coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (h^{-1})
t = tempo (h)

A determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio, durante um processo fermentativo, pode ser realizada através de diferentes metodologias. A metodologia mais antiga dentre elas, descrita por Cooper et al. (1944), é o chamado método do sulfito, que consiste em transferir oxigênio para solução de sulfito de sódio na presença de um sal de cobre como catalisador.

No entanto, um dos métodos mais utilizados é o emprego de uma sonda para a determinação da concentração de O_2 dissolvido, conhecido como método dinâmico (HUMPHREY, A.E.; TAGUCHI, H., 1966), o qual utiliza apenas o sinal de resposta de um eletrodo imerso no meio submetido a aeração. Esse método consiste em inicialmente inserir um gás inerte no líquido a fim de eliminar todo o O_2 dissolvido, até que a sonda indique o valor zero. A seguir inicia-se a aeração e agitação do meio nas condições definidas em que queremos determinar o valor de $k_L a$, passando-se a registrar o sinal da sonda. O sinal partirá do valor zero até atingir 100% (saturação).

Entretanto, a sonda pode não ser capaz de fazer um perfeito acompanhamento do aumento da concentração de O_2 no líquido. Isso ocorre em virtude de um atraso no sinal, pois o oxigênio dissolvido no seio do líquido precisa se difundir através da membrana do eletrodo, além de muitas vezes existir um filme líquido estagnado ao redor do eletrodo através do qual o oxigênio precisa se difundir (SCHMIDELL, 2001).

Com o objetivo de corrigir esse atraso, Aiba, Humphrey e Millis (1973) propuseram que o sinal da sonda (C_p) varia com o tempo de acordo com a Equação 2.6:

$$\frac{dC_p}{dt} = k_p(C - C_p) \quad (2.6)$$

Onde: C = Concentração de oxigênio no seio do líquido ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)
 C_p = sinal do eletrodo ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)

k_p = constante de atraso do eletrodo (h^{-1})
t = tempo (h)

Para levar em consideração o atraso no sinal da sonda, conforme Schmidell (2001), introduz-se na Equação 2.6 o valor de C em função do tempo obtido a partir da equação 2.5, e integrando-se a equação resultante, obtém-se:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{k_L a}{k_p - k_L a} * e^{-k_p t} - \frac{k_p}{k_p - k_L a} * e^{-k_L a t} \quad (2.7)$$

Sendo assim, a partir da Equação 2.9 é possível obter o valor do $k_L a$ corrigido pelo atraso da sonda.

A constante de atraso (k_p) pode então ser determinada a partir da Equação 2.6, considerando agora que $C = C_s$ (saturação), a qual pode ser rearranjada da seguinte forma:

$$\frac{dC_p}{(C_s - C_p)} = k_p \cdot dt \quad (2.8)$$

Onde: C_s = Concentração real de oxigênio na saturação ($mg.L^{-1}$)
 C_p = sinal do eletrodo ($mg.L^{-1}$)
 k_p = Constante de atraso do eletrodo (h^{-1})

Integrando a Equação 2.8 resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 - e^{-k_p t} \quad (2.9)$$

Quando uma sonda apresenta um k_p da ordem de $400 h^{-1}$, pode-se estimar com uma razoável precisão valores de $k_L a$ menores que $200 h^{-1}$. Para valores de $k_L a$ acima de $200 h^{-1}$, é necessário que se efetue correções utilizando a constante de atraso k_p já que os erros se tornam muito elevados (SCHMIDELL, 2001).

Uma alternativa aos eletrodos imersos no líquido é a realização do balanço gasoso, onde são feitas medidas nos gases afluente e efluente do reator, necessitando-se monitorar as vazões de entrada e saída de gases no reator e o teor de CO_2 e O_2 nesses gases, sendo recomendado empregarem-se baixas vazões específicas de aeração, pois no início do processo fermentativo o consumo de O_2 é muito baixo, então a

composição dos gases de entrada e saída são muito próximas, dificultando a realização do balanço gasoso.

Sendo assim, o método dinâmico aplica-se melhor no processo descontínuo, ou para processos com baixa concentração celular (SCHMIDELL et al., 2001).

Yeh, Wei e Chang (2006) investigaram a influência da vazão de aeração e da frequência de agitação no processo de produção de surfactina. Eles concluíram que o aumento da frequência de agitação contribui para o aumento tanto da transferência de oxigênio quanto da produção de surfactina, sendo que o melhor rendimento foi obtido na frequência de agitação de 300 rpm, com 1,5 vvm de vazão de aeração. Apesar disso, levando-se em consideração somente o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio, a melhor condição de agitação e aeração foi de 350 rpm e 1,5 vvm, obtendo-se um $k_{L,a}$ de 50,04 h⁻¹.

2.5.2 Efeito de diferentes compostos na transferência de oxigênio

Sabe-se que é sempre possível dissolver quantidades significativas das fontes de carbono, nitrogênio, fósforo e demais nutrientes necessários ao crescimento dos microrganismos no meio. No entanto, como mencionado anteriormente, essa situação é bastante distinta para o oxigênio, que é muito pouco solúvel em água, cuja concentração na saturação é apenas da ordem de 7 mgO₂.L⁻¹, (1 atm e a 35 °C) (SCHMIDELL, 2001).

Além disso, sabe-se que como o meio possui esses nutrientes dissolvidos e não apenas água, a dissolução do oxigênio pode sofrer alteração, tanto positiva quanto negativa. No processo produtivo de surfactantes, a presença de agentes tensoativos modifica o coeficiente de transferência de massa no líquido, bem como a área de contato gás-líquido, devido a alterações de condições hidrodinâmicas e as propriedades físicoquímicas do sistema (FAHIM et al., 2013).

Fahim et al. (2013) utilizaram um biorreator inverso de leito fluidizado trifásico para discutir a influência do $k_{L,a}$ na produção de biosurfactante por *Bacillus subtilis*. Os resultados mostraram que houve uma diminuição do $k_{L,a}$ durante o processo fermentativo. Essa diminuição está relacionada à redução da tensão superficial devido à produção de biosurfactante.

Na verdade, os surfactantes provocam uma diminuição do tamanho médio da bolha e, conseqüentemente, aumentam a área interfacial, o que

contribui positivamente para a transferência de oxigênio. No entanto, eles também podem ter um efeito negativo sobre o $k_{L,a}$ devido à sua imobilização sobre a superfície da bolha, o que dificulta a transferência de massa (FAHIM et al., 2013).

A presença de agentes tensoativos em reatores agitados e aerados pode perturbar a circulação interna e provocar uma diminuição da velocidade de subida do ar através do meio. Moléculas de surfactante adsorvidas na superfície da bolha também desempenham um papel de barreira, pois o oxigênio se liga aos fosfolípidios do surfactante, fazendo com que a solubilidade do O_2 detectada pela sonda seja menor do que a real, resultado da limitação de transferência de oxigênio (ZUO et al., 2005).

Em um estudo de Rosso et al. (2006) uma redução de 30-70% dos valores de transferência de oxigênio foi observada nas soluções com surfactantes se comparada com água destilada. De acordo com eles, ao se acumular na interface, os surfactantes diminuem a tensão superficial, reduzem a renovação interfacial de O_2 e a difusão de oxigênio no líquido.

Em um trabalho de revisão de Garcia-Ochoa e Gomez (2008), eles reafirmam que a adição de surfactantes ou antiespumantes, substâncias comumente adicionadas ao meio de cultura, provoca uma alta diminuição na transferência de oxigênio, em comparação com aquelas de água pura, baseado em trabalhos anteriores (KAWASE et al., 1992, GARCIA-OCHOA, F.; GOMEZ, E., 2005). Esse efeito pode ser devido às moléculas de surfactantes que afetam os parâmetros hidrodinâmicos: o tamanho médio da bolha pode aumentar devido à coalescência das bolhas que, por sua vez, afetará o suporte de gás, portanto, a área de transferência de massa (ARJUNWADKAR et al., 1998).

Jamnongwong et al. (2010) avaliaram o efeito da transferência de oxigênio em água destilada contendo glicose, sal (NaCl) e surfactante (SDS). Observou-se uma maior influência da glicose somente quando a concentração dos compostos era elevada, causando redução no valor de $k_{L,a}$. Já o sal e o surfactante afetaram negativamente a transferência de oxigênio quando presentes já em concentrações não tão altas. Em todos os casos, quanto maior a concentração dos compostos em água, menor a transferência de oxigênio no sistema.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Durante os ensaios de determinação de transferência de oxigênio todas as medidas de OD foram feitas utilizando a sonda de oxigênio da HACH, modelo LDO101-30.

3.1 Meio de cultivo

O meio de cultivo utilizado no presente trabalho foi baseado no meio proposto por Cooper et al. (1981) suplementado com extrato de levedura, sendo um dos mais utilizados para a produção de surfactina por *Bacillus subtilis* (COOPER et al., 1981; DAVIS; LYNCH; VARLEY, 1999, 2001; YEH; WEI; CHANG, 2006).

O meio de cultivo apresentou a seguinte composição final (em g.L⁻¹): glicose 10,0; NaNO₃ 4,25; NH₄Cl 2,675; MgSO₄.7H₂O 0,1968; CaCl₂.2H₂O 0,0010; FeSO₄ 6,08.10⁻⁴; EDTA 0,0012; KH₂PO₄ 4,08; Na₂HPO₄ 5,68; extrato de levedura 1,0.

3.2 Medida de salinidade e densidade

A medida da salinidade, em porcentagem, foi realizada por meio de um refratômetro previamente calibrado, utilizando duas gotas de solução sobre a superfície do equipamento e observando através da lente os valores obtidos, sendo do lado direito apresentado o valor da densidade e do lado esquerdo da salinidade. A medição foi feita para a água destilada e para o meio de cultivo descrito no item 3.1, visto que a salinidade também afeta a transferência de oxigênio por alterar a tensão superficial do líquido. Além disso, a densidade foi medida para o meio em algumas situações de variações que são descritas no item 3.4.3. O mesmo equipamento mostra a densidade do meio em g.L⁻¹.

3.3 Determinação da constante de atraso do eletrodo (k_p)

A determinação da constante de atraso foi realizada através de um ensaio degrau. Inicialmente, submeteu-se o eletrodo de O₂ (HACH), previamente calibrado, a uma atmosfera inerte contendo apenas argônio até que o valor registrado pela sonda indicasse uma concentração de oxigênio de 0%.

Em seguida, o eletrodo foi subitamente colocado em uma atmosfera saturada com ar atmosférico ($C = C_s$), e registrou-se o aumento da concentração de oxigênio até a saturação, com um intervalo de amostragem de 5 segundos.

Assim, a partir da Equação 2.9 plotou-se os valores de $\frac{C_p}{C_s}$ em função do tempo (t), obtidos no ensaio degrau, e por meio de um ajuste no software *Statistica Six Sigma 8.0* foi possível determinar o valor de k_p .

Essa medição foi feita em duplicata, para obter-se uma média mais precisa do valor de k_p .

3.4 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$)

As determinações do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$) foram realizadas em um biorreator de 7 L (MF114, New Brunswick Scientific Co) com volume útil de 5L, e o método empregado foi o método dinâmico.

As medidas foram feitas em água destilada; meio de cultivo descrito no item 3.1; com variações no meio de cultivo; em água destilada com presença de surfactante e um teste em meio de cultivo com presença de surfactante.

Além disso foram feitas determinações em um biorreator de 4,5 L (MF114, New Brunswick Scientific Co) com volume útil de 3L, em água destilada e meio de cultivo, para comparação com o biorreator maior. Todas as vazões de aeração testadas foram feitas em profundidade. As turbinas do reator são do tipo Rushton e o dispersor usado foi do tipo simples “*air lift*”.

As dimensões dos dois reatores foram medidas com uma trena métrica.

3.4.1 Determinação do $k_{L,a}$ em água destilada em reator de 5L de volume útil

Inicialmente borbulhou-se argônio no volume de água destilada contida no reator para eliminar todo o O_2 dissolvido até a sonda de oxigênio (HACH), previamente calibrada, indicar o valor zero. A seguir, ajustou-se a agitação e a aeração do meio, nas condições em que se

desejava determinar o k_La , registrando-se o aumento da concentração de oxigênio dissolvido no líquido até atingir a saturação, ou seja, até que o sinal registrado fosse 100%.

Os dados foram registrados manualmente em um intervalo de amostragem de 5 segundos. As condições de agitação testadas foram de 250, 300, 400 e 500 rpm. Já as vazões de aeração utilizadas foram de 0,3 vvm, 1,0 vvm e 1,4 vvm, sendo esse último o limite máximo de capacidade de aeração da bomba de ar utilizada.

Assim, utilizando o software *Statistica Six Sigma 8.0*, ajustou-se a Equação 2.7 aos dados experimentais ($C_p = f(t)$), e então foi possível determinar os valores de k_La para cada condição de agitação e aeração empregada.

3.4.2 Determinação do k_La em meio de cultivo em reator de 5L de volume útil

O mesmo procedimento feito para a determinação do k_La em água destilada foi utilizado para a determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio no meio de cultivo. O meio de cultivo, descrito no item 3.1, foi ajustado para pH 7,0, com solução de NaOH 3M. O ajuste foi feito, pois no processo produtivo da surfactina o pH de 7,0 é o ideal para o crescimento do *Bacillus subtilis*.

As condições de agitação e aeração testadas também foram as mesmas utilizadas para as determinações em água destilada e o mesmo valor de k_p foi utilizado para fazer o ajuste das equações.

3.4.3 Determinação do k_La em meio de cultivo com variações em reator de 5L de volume útil

O mesmo procedimento feito para a determinação do k_La em água destilada foi utilizado nesta etapa. As variações feitas no meio de cultivo foram a retirada de alguns compostos que se encontram em maior concentração no meio. As retiradas foram feitas individualmente, avaliando separadamente a influência de cada composto na transferência de oxigênio. Os seguintes compostos foram testados: glicose, extrato de levedura, Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NH_4Cl e $NaNO_3$. Além disso, testou-se água destilada com presença de NaOH, para podermos afirmar se o NaOH utilizado para o ajuste de pH influencia ou não na transferência de oxigênio no meio.

Inicialmente, determinou-se o k_{La} do meio de cultivo sem um dos compostos, nas condições de aeração de 1,0 vvm e agitação de 250 e 500 rpm. Então, comparou-se com os resultados obtidos em água destilada e no meio de cultivo completo. Quando observada uma diferença significativa entre os valores, foi realizada a determinação do k_{La} nas restantes condições de agitação e aeração.

O mesmo valor de k_p foi utilizado para fazer o ajuste das equações.

3.4.4 Determinação do k_{La} em água destilada com surfactante em reator de 5L de volume útil

O surfactante aniônico SDS, com 95% de pureza, foi utilizado para a determinação dos valores de k_{La} . Foram testadas 5 concentrações de surfactante (em mg.L^{-1}): 3; 6,25; 12,5; 20 e 25. A definição dessas concentrações foi baseada no comportamento do surfactante quando submetido à agitação e aeração, sendo que em concentrações maiores houve saída de espuma do reator. Além disso, tomou-se como base dados de concentração de surfactina obtidos em processos produtivos semelhantes ao desejados para aplicação.

O procedimento feito para a determinação do k_{La} nessas condições foi o mesmo realizado para a água destilada. Também foram testadas as mesmas condições de agitação e aeração, assim como o mesmo valor de k_p para o ajuste das equações.

3.4.5 Determinação do k_{La} em meio de cultivo com surfactante em reator de 5L de volume útil

Em meio de cultivo foi realizado apenas um teste, com a menor concentração do surfactante SDS estudada em água destilada (3 mg.L^{-1}). Foi utilizado o mesmo meio de cultivo descrito no item 3.1, com ajuste de pH para 7,0, com NaOH.

O procedimento feito para a determinação do k_{La} nessas condições foi o mesmo realizado para a água destilada. Também foram testadas as mesmas condições de agitação e aeração, assim como o mesmo valor de k_p para o ajuste das equações.

3.4.6 Determinação do k_La em reator de 3L de volume útil

Em um reator de 3L de volume útil, foram medidos o k_La em água destilada e em meio de cultivo com pH ajustado para 7,0.

Em ambos testes, o procedimento para determinação de k_La foi o mesmo utilizado nos testes anteriores em água destilada e meio. Foram aplicadas as mesmas condições de agitação e aeração, variando de 250 a 500 rpm e 0,3 a 1,4 vvm.

Os resultados obtidos foram comparados com os dados do reator de 5L de volume útil, para avaliar-se o efeito da geometria do reator na transferência de oxigênio.

3.5 Tratamento dos dados

Os dados experimentais de concentração de oxigênio dissolvido *versus* tempo, obtidos para as determinações da constante de atraso (k_p) e do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La), foram ajustados pelo software *Statistica Six Sigma 8.0*.

Os resultados obtidos estão apresentados na forma de tabelas e foram tratados no *software Microsoft Office Excel 2010* sendo representados nos gráficos, podendo-se comparar o comportamento da transferência de oxigênio em diferentes condições, avaliando a influência de diferentes fatores no k_La .

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação da constante de atraso do eletrodo de oxigênio dissolvido (k_p)

Conforme dados obtidos segundo a metodologia descrita no item 3.3, nas Figuras 4.1 e 4.2 estão representados os dados de C_p/C_s em função do tempo. A constante de atraso do eletrodo de oxigênio foi determinada a partir do ajuste dos dados experimentais à Equação 2.9, utilizando o *software Statistica*. Foram realizadas duas repetições deste teste para a determinação da constante de atraso, utilizando o valor médio para a correção da equação para determinação do $k_L a$.

A equação média de ajuste obtida para os dados experimentais é dada por:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 - e^{-238,7315t} \quad (4.1)$$

Onde: C_s = Concentração de oxigênio na saturação (mg.L^{-1})

C_p = concentração de O_2 lida pelo eletrodo (mg.L^{-1})

k_p = Constante de atraso do eletrodo (h^{-1})

Figura 4.1 Resposta do eletrodo (C_p/C_s) em função do tempo (t) para a determinação da constante de atraso do eletrodo (k_p).

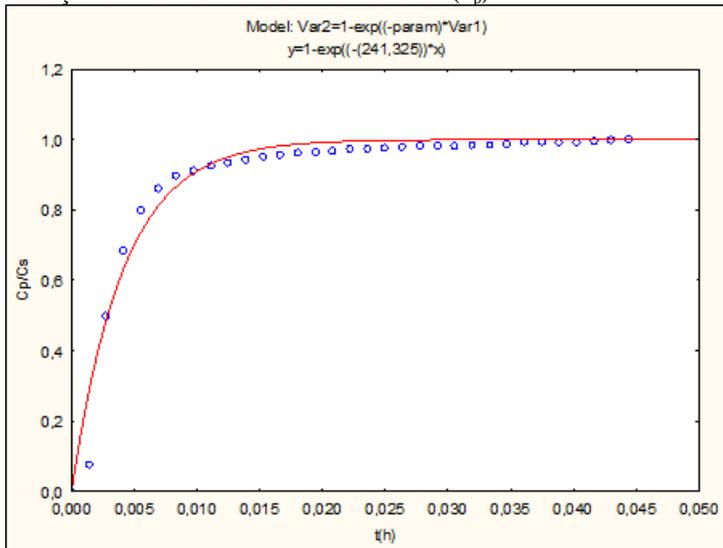
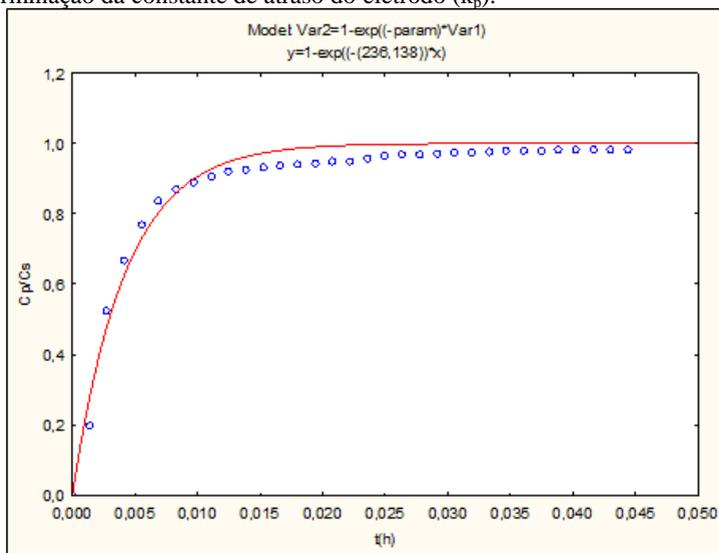


Figura 4.2 Resposta do eletrodo (C_p/C_s) em função do tempo (t) para a determinação da constante de atraso do eletrodo (k_p).



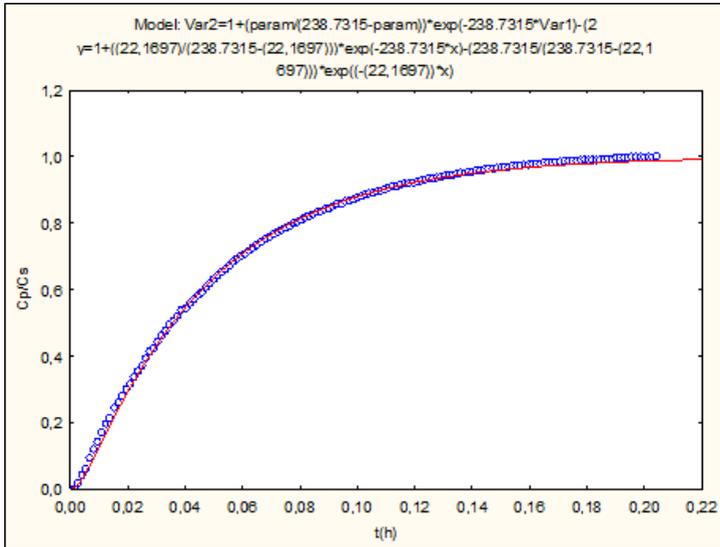
Dessa forma, a partir dos gráficos, verifica-se que a constante de atraso média da sonda utilizada é igual a $k_p = 238 \text{ h}^{-1}$.

A partir dos gráficos 4.1 e 4.2 é possível ainda observar que a sonda permitiu a obtenção de 90% da resposta em 36 segundos, no teste degrau. Segundo Schmidell (2001), uma sonda razoavelmente rápida permite a obtenção de 90% da resposta em apenas 20 segundos, o que sugere que há a necessidade de efetuar correções dos valores de k_{LA} utilizando a Equação 2.9, a fim de estimá-los com maior precisão. Além disso, sabe-se que se o valor de k_p for muito maior do que o k_{LA} pode-se estimar com uma razoável precisão o seu valor, sem necessidade de efetuar a correção da Equação 2.5 com o valor da constante de atraso. Caso os valores de k_{LA} sejam próximos do k_p , deve-se utilizar a correção (Equação 2.7).

4.2 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) em água destilada em reator de 5L de volume útil

Os valores de $k_L a$ foram obtidos plotando-se os dados de C_p/C_s em função do tempo, ajustando-os à Equação 2.7 com o auxílio do *software Statistica*. Na Figura 4.3 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_L a$ na condição de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação.

Figura 4.3 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada em reator de 5L de volume útil.



Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{22,1697}{238,7315 - 22,1697} * e^{-238,7315t} - \frac{238,7315}{238,7315 - 22,1697} * e^{-22,1697t} \quad (4.2)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_L a$ de 22 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para os demais casos descritos na metodologia, sendo que os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.1.

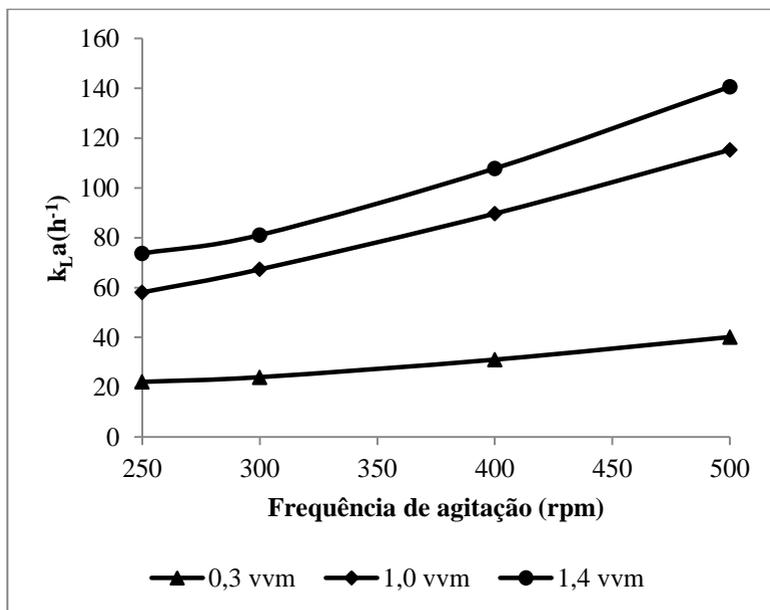
Tabela 4.1 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada em reator de 5L de volume útil.

Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_L a$ (h^{-1})
250	0,3	22
250	1,0	58
250	1,4	74
300	0,3	24
300	1,0	67
300	1,4	81
400	0,3	31
400	1,0	90
400	1,4	108
500	0,3	40
500	1,0	115
500	1,4	141

A Figura 4.4 apresenta a dependência do $k_L a$ com a frequência de agitação, utilizando aeração submersa nas vazões de 0,3, 1,0 e 1,4 vvm.

A partir da Tabela 4.1 e da Figura 4.4 é possível observar que os valores de $k_L a$ aumentam com o aumento da vazão de aeração, visto que há maior fornecimento de oxigênio ao meio, através do borbulhamento de ar, o mesmo ocorreu com o aumento da frequência de agitação. Isso ocorre, pois, ao aumentar a agitação, reduz-se a espessura do filme líquido, ou seja, diminui-se a resistência ao transporte de oxigênio na película líquida. Além disso, há um maior rompimento e dispersão das bolhas de ar, o que contribui para o aumento da área interfacial de transferência de massa e, conseqüentemente, da transferência de oxigênio.

Figura 4.4 Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio para diferentes frequências de agitação e vazões de aeração em água destilada em reator de 5L de volume útil.



Em estudo feito por Ösbek e Gayik (2001) onde foi avaliada a transferência de oxigênio em biorreator na ausência de microrganismos em água destilada, foram obtidos resultados semelhantes. O coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio aumentou significativamente quando a frequência de agitação aumentou de 100 para 400 rpm, ao se utilizar uma vazão de aeração de 0,3 vvm.

4.3 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) em meio de cultivo em reator de 5L de volume útil.

O meio de cultivo utilizado é o descrito no item 3.1. Os valores de k_La foram obtidos plotando-se os dados de C_p/C_s em função do tempo,

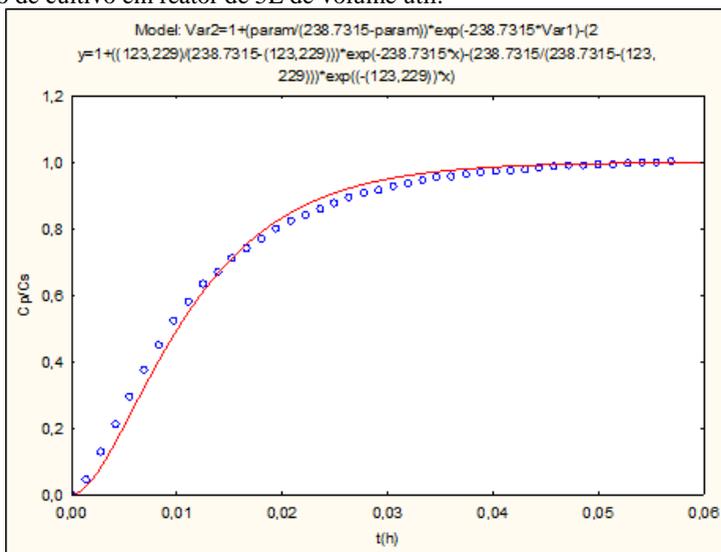
ajustando-os à Equação 2.7 com o auxílio do *software Statistica*, utilizando o mesmo valor médio de k_p obtido no item 4.1 para a correção da equação. Na Figura 4.5 estão representados os dados experimentais para a determinação do k_La na condição de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação.

Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{123,229}{238,7315 - 123,229} * e^{-238,7315t} - \frac{238,7315}{238,7315 - 123,229} * e^{-123,229t} \quad (4.3)$$

Da equação acima obtém-se o valor de k_La de 123 h^{-1} .

Figura 4.5 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo em reator de 5L de volume útil.



O mesmo procedimento foi realizado para os demais casos, sendo que os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.2.

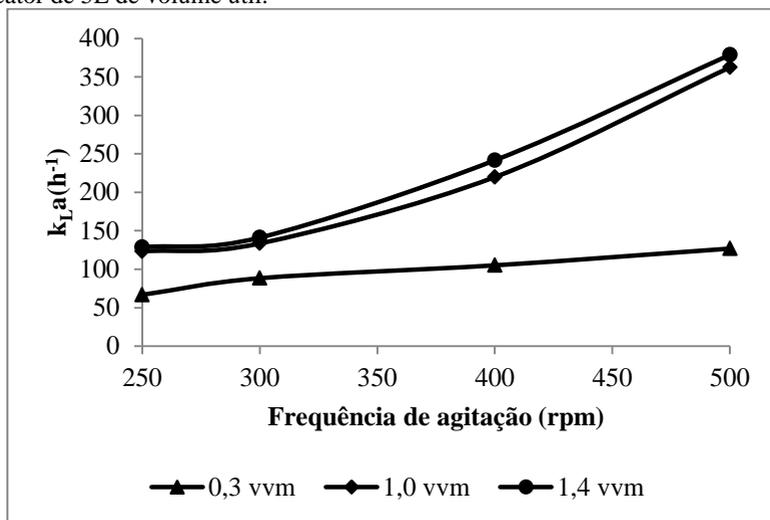
Tabela 4.2 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo completo em reator de 5L de volume útil.

Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_L a$ (h^{-1})
250	0,3	67
250	1,0	123
250	1,4	129
300	0,3	88
300	1,0	134
300	1,4	141
400	0,3	105
400	1,0	220
400	1,4	242
500	0,3	127
500	1,0	362
500	1,4	379

Conforme se pode observar na Tabela 4.2, que apresenta o mesmo tipo de comportamento apresentado na Tabela 4.1, e na Figura 4.6 os valores de $k_L a$ aumentam com o aumento da vazão de aeração, devido ao maior fornecimento de oxigênio ao meio, através do borbulhamento de ar, assim como também há o aumento do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio com o aumento da frequência de agitação, sendo que quanto maior a agitação, maior a sua influência no $k_L a$ em meio de cultivo.

A fim de se ter uma melhor comparação dos dados de $k_L a$ em água e em meio de cultura, os valores obtidos estão novamente colocados na Figura 4.7. Analisando este gráfico podemos ver que a transferência de oxigênio no meio de cultivo é maior do que em água destilada, atingindo valores até 3 vezes mais elevados.

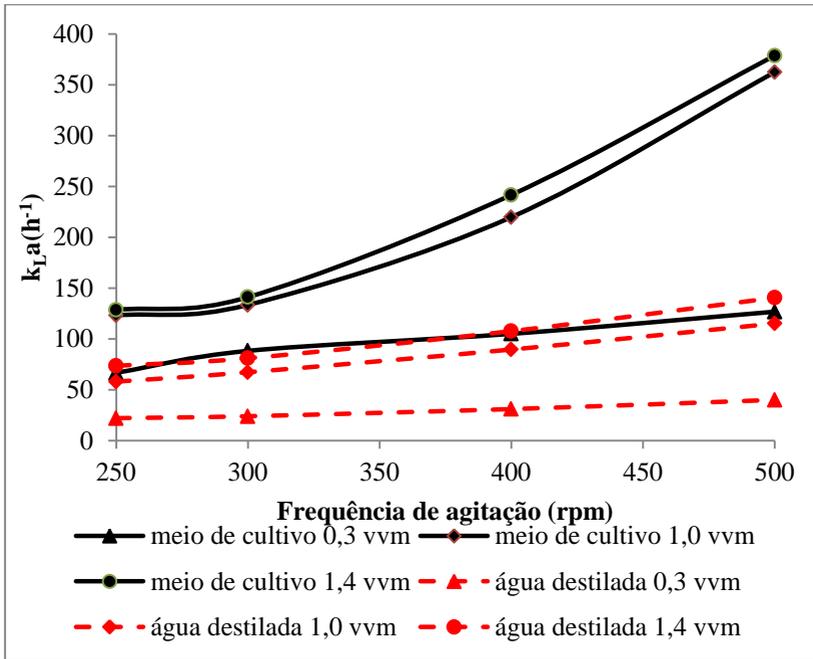
Figura 4.6 Coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio para diferentes frequências de agitação e vazões de aeração em meio de cultivo em reator de 5L de volume útil.



Sabe-se que o meio de cultivo possui vários compostos, como descrito no item 3.1 e estes compostos influenciam tanto na salinidade do meio, quanto em outras propriedades físicas e hidrodinâmicas, afetando a transferência de oxigênio no meio. Em um estudo Jamnongwong et al. (2010) observaram que a presença de sais, glicose e surfactante afetam a transferência de oxigênio em água. No entanto, neste estudo eles obtêm um efeito negativo na difusão de oxigênio em água devido a presença destes compostos. Já em nosso meio de cultivo, com vários sais e nutrientes, observamos um resultado positivo, tendo um aumento nos valores de k_{La} .

Sendo assim, viu-se a necessidade de avaliar separadamente a influência dos compostos presentes no meio de cultivo na transferência de oxigênio.

Figura 4.7 Comparativo dos valores de k_La em água destilada e em meio de cultivo em reator de 5L de volume útil.



4.4 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) em meio de cultivo com variações em reator de 5L de volume útil

Os valores de k_La foram obtidos graficando-se os dados de C_p/C_s em função do tempo, ajustando-os à Equação 2.7 com o auxílio do *software Statistica*. O mesmo valor médio da constante de atraso obtido no item 4.1 foi utilizado para a correção da equação.

Iniciou-se o teste com variações do meio de cultivo realizando a retirada da glicose do meio, para avaliar se a presença dela influencia na transferência de oxigênio.

Na Figura 4.8 estão representados os dados experimentais para a determinação do k_La na condição de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação.

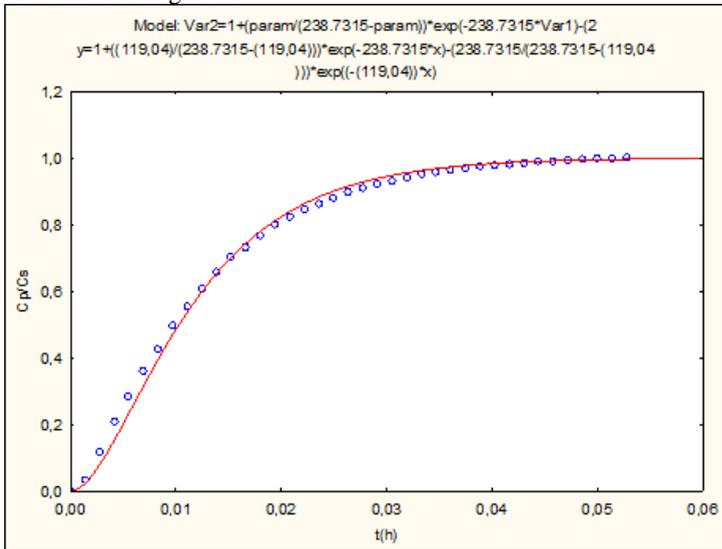
Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{119,04}{238,7315 - 119,04} * e^{-238,7315t} - \frac{238,7315}{238,7315 - 119,04} * e^{-119,04t} \quad (4.4)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_L a$ de 119 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para o caso da condição de 1,0 vvm e 500 rpm.

Figura 4.8 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo sem glicose.



Os resultados obtidos nos dois testes encontram-se na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem glicose.

Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_L a$ (h^{-1})
250	1,0	119
500	1,0	370

Ao comparar os valores da Tabela 4.3 com os valores da Tabela 4.2, pode-se observar que não há uma diferença substancial nos valores de k_La encontrados. A pequena variação encontrada é referente a erros do procedimento, visto que o tempo era cronometrado pela mesma pessoa que coletava o valor da porcentagem de oxigênio no meio. Sendo assim, não houve necessidade de continuar os experimentos para as outras condições de agitação e aeração, pois já foi possível observar que a ausência de glicose no meio não alterou o k_La , o que quer dizer que sua presença, na concentração de 10 g.L^{-1} , não influencia na difusão do oxigênio.

Isso foi comprovado também por Jamnongwong et al. (2010) em seu trabalho, onde só foi possível observar uma diferença substancial na transferência de oxigênio a partir de 20 g.L^{-1} de glicose em água, sendo que uma alteração maior na transferência de oxigênio só foi observada na concentração de 50 g.L^{-1} . Ao aumentar a concentração de glicose houve uma redução na transferência de oxigênio.

Em seguida, foi realizado o teste com apenas a retirada do extrato de levedura do meio, para avaliar se a presença dele influencia na transferência de oxigênio.

Na Figura 4.9 estão representados os dados experimentais para a determinação do k_La na condição de $1,0 \text{ vvm}$ de aeração e 250 rpm de agitação.

Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{123,531}{238,7315 - 123,531} * e^{-238,7315t} - \frac{238,7315}{238,7315 - 123,531} * e^{-123,531t} \quad (4.5)$$

Da equação acima obtém-se o valor de k_La de 124 h^{-1} .

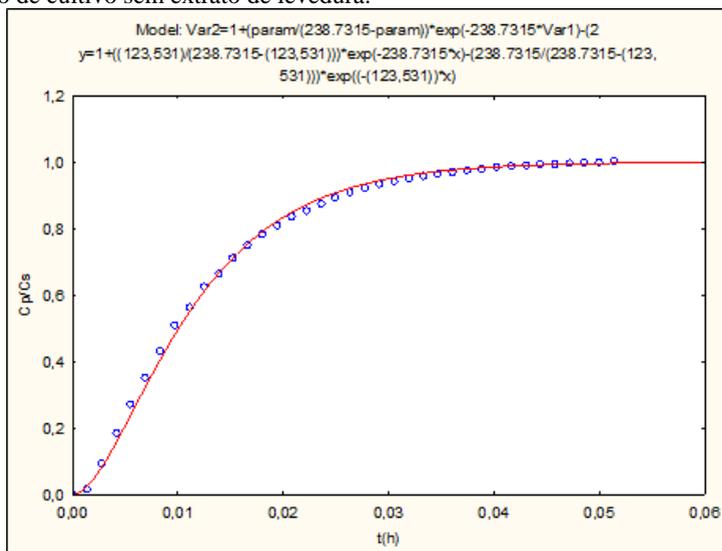
O mesmo procedimento foi realizado para o caso na condição de $1,0 \text{ vvm}$ e 500 rpm .

Os resultados obtidos nos dois testes encontram-se na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 Valores de k_La obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem extrato de levedura.

Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	k_La (h^{-1})
250	1,0	124
500	1,0	370

Figura 4.9 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo sem extrato de levedura.

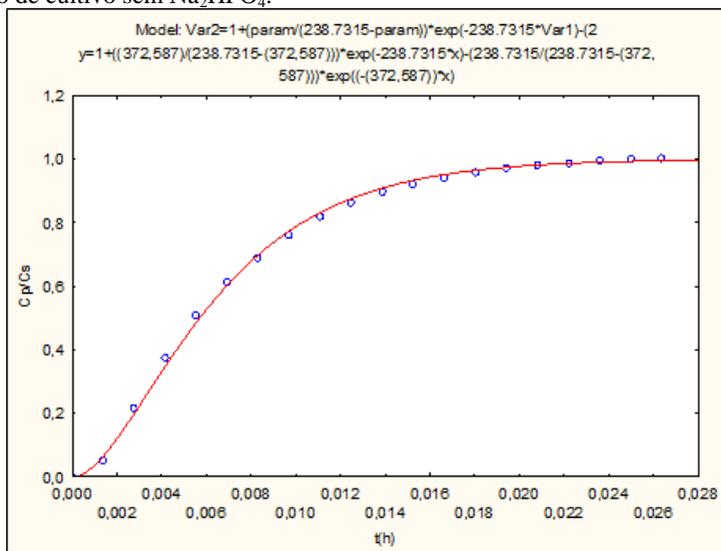


Ao comparar os valores da Tabela 4.4 com os valores da Tabela 4.2, pode-se observar que não há uma diferença substancial nos valores de $k_L a$ encontrados. Sendo assim, não houve necessidade de continuar os experimentos para as outras condições de agitação e aeração, pois, assim como observado para a condição sem glicose, já foi possível observar que a ausência do extrato de levedura no meio não alterou o $k_L a$, o que quer dizer que sua presença, na concentração de 1 g.L^{-1} , não influencia na difusão do oxigênio.

Sendo assim, partiu-se para a realização do teste com apenas a retirada do Na_2HPO_4 do meio, para avaliar se a presença dele influencia na transferência de oxigênio.

Na Figura 4.10 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_L a$ na condição de 1,0 vvm de aeração e 500 rpm de agitação.

Figura 4.10 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 500 rpm de agitação em meio de cultivo sem Na_2HPO_4 .



Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{372,567}{238,7315 - 372,567} * e^{-238,7315t} - \frac{238,7315}{238,7315 - 372,567} * e^{-372,567t} \quad (4.6)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_L a$ de 373 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para o caso na condição de 1,0 vvm e 250 rpm.

Os resultados obtidos nos dois testes encontram-se na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem Na_2HPO_4 .

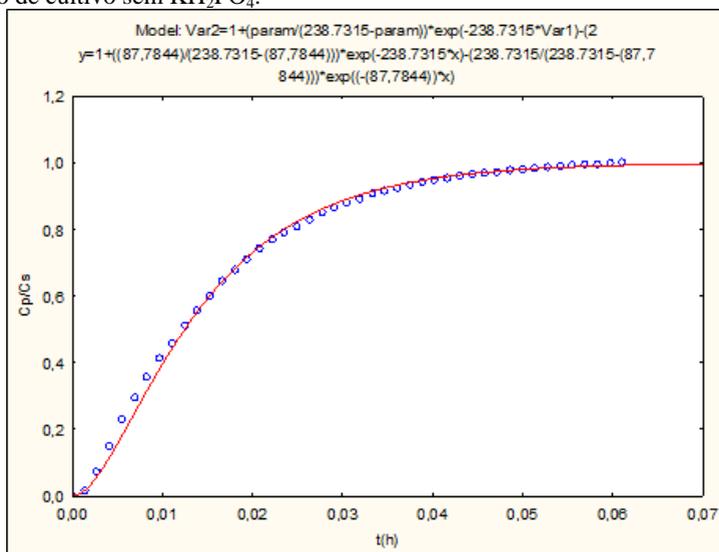
Frequência de agitação (rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_L a$ (h^{-1})
250	1,0	119
500	1,0	373

Ao comparar os valores da Tabela 4.5 com os valores da Tabela 4.2, pode-se observar que não há uma diferença substancial nos valores de k_La encontrados. Sendo assim, não houve necessidade de continuar os experimentos para as outras condições de agitação e aeração, pois, assim como observado para as condições sem glicose e sem extrato de levedura, já foi possível observar que a ausência do Na_2HPO_4 no meio, não alterou a transferência de oxigênio, o que quer dizer que sua presença, na concentração de $5,68 \text{ g.L}^{-1}$, não influencia na difusão do oxigênio.

Sendo assim, partiu-se para a realização do teste com apenas a retirada do KH_2PO_4 do meio, para avaliar se a presença dele influencia na transferência de oxigênio.

Na Figura 4.11 estão representados os dados experimentais para a determinação do k_La na condição de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação.

Figura 4.11 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo sem KH_2PO_4 .



Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{87,7844}{238,7315 - 87,7844} * e^{-238,7315t} - \frac{238,7315}{238,7315 - 87,7844} * e^{-87,7844t} \quad (4.7)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_L a$ de 88 h^{-1} .

Comparando-se o valor de $k_L a$ obtido nessa condição, com o valor obtido para o meio de cultivo completo, que é de 123 h^{-1} , pode-se observar que houve uma variação substancial no valor do coeficiente de transferência de oxigênio. Esse teste foi inicialmente feito ajustando-se o pH do meio para 7,0 com HCl. Verificou-se também o $k_L a$ com meio sem ajuste de pH e com uma pequena adição de NaOH para confirmar que o efeito visto no $k_L a$ era referente ao KH_2PO_4 e não aos compostos utilizados para ajuste de pH.

Sendo assim, devido à diferença apresentada entre os valores de $k_L a$ obtidos, optou-se por realizar o procedimento para todas as outras condições de agitação e aeração estudadas para o meio de cultivo completo no item 4.3. Os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem KH_2PO_4 .

Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_L a$ (h^{-1})
250	0,3	61
250	1,0	88
250	1,4	119
300	0,3	81
300	1,0	123
300	1,4	136
400	0,3	99
400	1,0	174
400	1,4	199
500	0,3	115
500	1,0	255
500	1,4	311

Ao comparar os valores da Tabela 4.6 com os valores da Tabela 4.2, pode-se observar que há uma diferença substancial nos valores de $k_L a$ encontrados, sendo os valores obtidos com a retirada do KH_2PO_4 menores do que do meio com sua presença. Foi feita também a comparação dos valores da Tabela 4.6 com os valores da Tabela 4.1, referente aos valores de $k_L a$ obtidos em água destilada, podendo-se observar que mesmo na ausência do KH_2PO_4 os valores de $k_L a$ obtidos foram maiores do que em água destilada, o que reitera a conclusão de que a salinidade do meio influencia positivamente no coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio.

Nas Figuras 4.12, 4.13 e 4.14 a seguir são apresentados os gráficos que mostram a variação do $k_L a$ com a agitação para as 3 diferentes condições de aeração estudadas, respectivamente 0,3 vvm, 1,0 vvm e 1,4 vvm, comparando a transferência de oxigênio para a água destilada, meio de cultivo completo e meio de cultivo sem o KH_2PO_4 , na qual podemos avaliar qual o efeito que a ausência do composto KH_2PO_4 provoca na transferência de oxigênio no meio.

Figura 4.12 Comparativo dos valores de $k_L a$ em água destilada, meio de cultivo e meio de cultivo sem KH_2PO_4 , com vazão de aeração de 0,3 vvm.

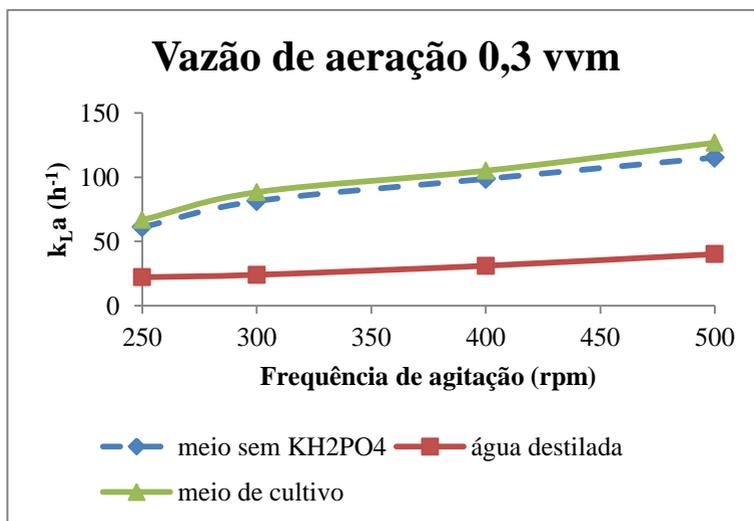


Figura 4.13 Comparativo dos valores de $k_L a$ em água destilada, meio de cultivo e meio de cultivo sem KH_2PO_4 , com vazão de aeração de 1,0 vvm.

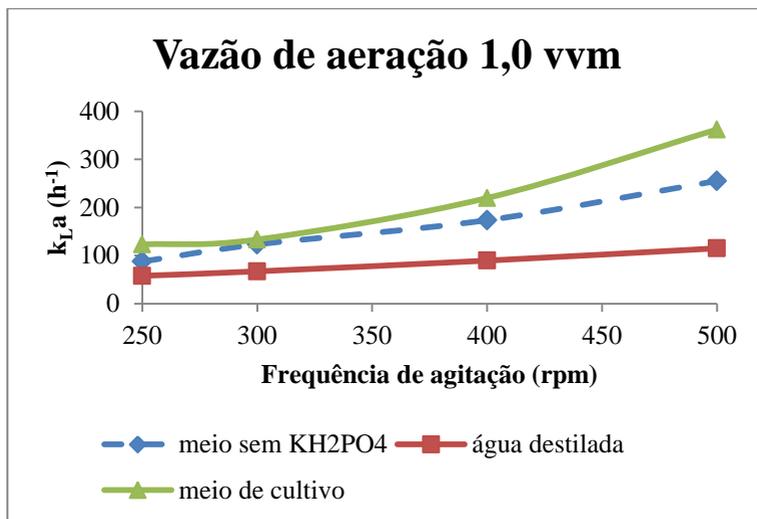
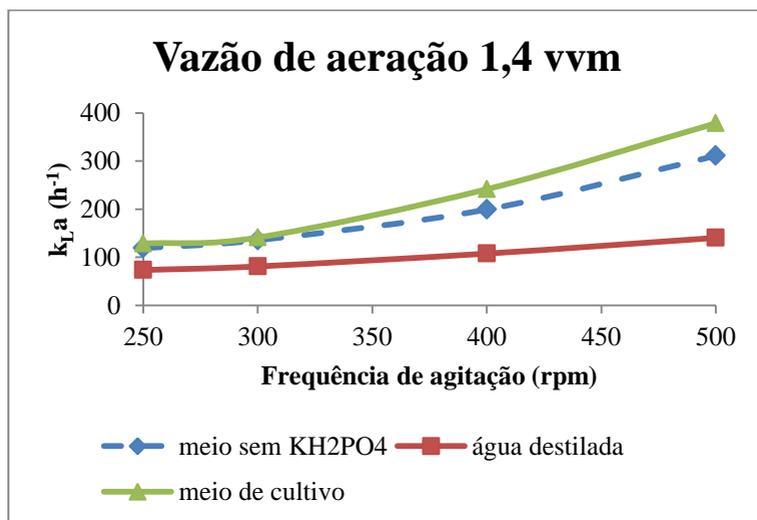


Figura 4.14 Comparativo dos valores de $k_L a$ em água destilada, meio de cultivo e meio de cultivo sem KH_2PO_4 , com vazão de aeração de 1,4 vvm.



É possível observar que a ausência do KH_2PO_4 no meio alterou o $k_{\text{L}}a$, apresentando uma transferência de oxigênio inferior a do meio de cultivo completo, mas superior a da água destilada. O que quer dizer que sua presença, na concentração de $4,08 \text{ g.L}^{-1}$, influencia na transferência de oxigênio, fazendo com que o $k_{\text{L}}a$ aumente. Essa variação de $k_{\text{L}}a$ devido a sua ausência possui importância quanto a aplicação em processo produtivo, onde ocorre consumo dos compostos presentes no meio de cultivo durante a produção de surfactante. Sendo assim, pode ocorrer variação do valor de $k_{\text{L}}a$ durante o processo, interferindo no processo produtivo como um todo.

Viu-se, no entanto, que o valor obtido do meio com sua ausência não atinge o valor do meio de cultivo completo, concluindo-se que este composto não é a única influência para o aumento do $k_{\text{L}}a$, mas deve ocorrer a influência de outros compostos.

Com a conclusão baseada nos gráficos, de que não somente o KH_2PO_4 influencia na transferência de oxigênio do meio, viu-se a necessidade de continuar os experimentos, testando a influência de outros compostos presentes no meio de cultivo.

Sendo assim, partiu-se para a realização do teste com apenas a retirada do NaNO_3 do meio, para avaliar se a presença dele influencia na transferência de oxigênio.

Na Figura 4.15 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_{\text{L}}a$ na condição de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação.

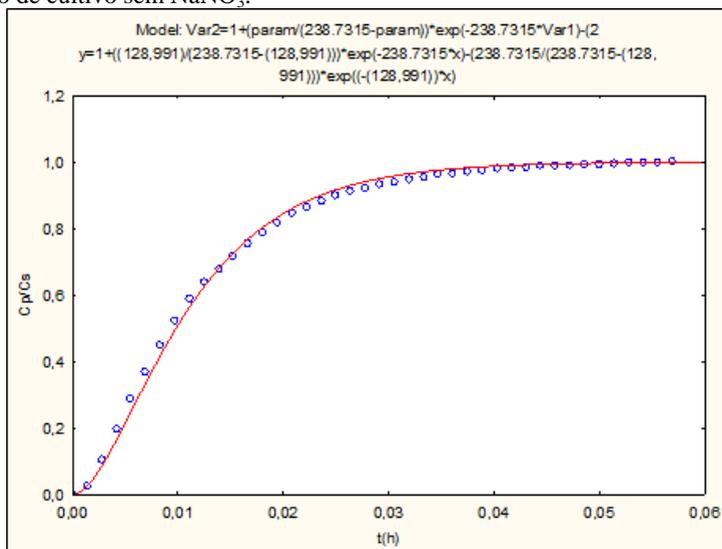
Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{128,991}{238,7315 - 128,991} * e^{-238,7315t} - \frac{238,7315}{238,7315 - 128,991} * e^{-128,991t} \quad (4.8)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_{\text{L}}a$ de 129 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para o caso na condição de 1,0 vvm e 500 rpm.

Figura 4.15 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo sem NaNO_3 .



Os resultados obtidos nos dois testes encontram-se na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 Valores de $k_{L,a}$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem NaNO_3 .

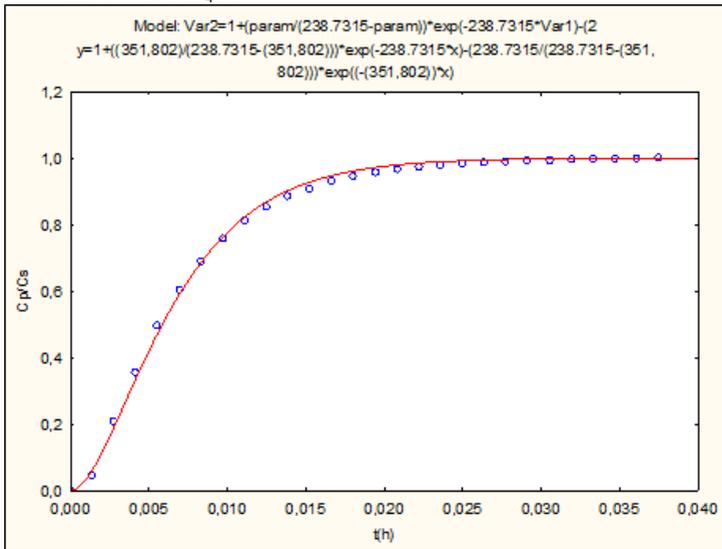
Frequência de agitação (rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_{L,a}$ (h^{-1})
250	1,0	129
500	1,0	360

Ao comparar os valores da Tabela 4.7 com os valores da Tabela 4.2, pode-se observar que não há uma diferença substancial nos valores de $k_{L,a}$ encontrados. Sendo assim, não houve necessidade de continuar os experimentos para as outras condições de agitação e aeração, pois, assim como observado para as condições anteriores, exceto para o KH_2PO_4 , já foi possível observar que a ausência do NaNO_3 no meio não alterou a transferência de oxigênio, o que quer dizer que sua presença, na concentração de $4,25 \text{ g.L}^{-1}$, não influencia na difusão do oxigênio.

Sendo assim, partiu-se para a realização do teste com a retirada do NH_4Cl do meio, para avaliar se a presença dele influencia na transferência de oxigênio.

Na Figura 4.16 estão representados os dados experimentais para a determinação do k_La na condição de 1,0 vvm de aeração e 500 rpm de agitação.

Figura 4.16 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 500 rpm de agitação em meio de cultivo sem NH_4Cl .



Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{351,802}{238,7315 - 351,802} * e^{-238,7315t} - \frac{238,7315}{238,7315 - 351,802} * e^{-351,802t} \quad (4.9)$$

Da equação acima obtém-se o valor de k_La de 352 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para o caso na condição de 1,0 vvm e 250 rpm.

Os resultados obtidos nos dois testes encontram-se na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 Valores de $k_{L,a}$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo sem NH_4Cl .

Frequência de agitação (rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_{L,a}$ (h^{-1})
250	1,0	130
500	1,0	352

Ao comparar os valores da Tabela 4.8 com os valores da Tabela 4.2, pode-se observar que não há uma diferença substancial nos valores de $k_{L,a}$ encontrados. Sendo assim, não houve necessidade de continuar os experimentos para as outras condições de agitação e aeração, pois, assim como observado para as condições anteriores, exceto para o KH_2PO_4 , já foi possível observar que a ausência do NH_4Cl no meio não alterou a transferência de oxigênio, o que quer dizer que sua presença, na concentração de $2,675 \text{ g.L}^{-1}$, não influencia na difusão do oxigênio.

Tendo sido testados todos os compostos em maior concentração no meio de cultivo, outro composto que foi testado foi o NaOH , que sempre foi utilizado para ajuste do pH para 7,0. Sendo assim, surgiu a dúvida se ele estaria influenciando na transferência de oxigênio do líquido e então foi feito o procedimento em água destilada com NaOH .

Na Figura 4.17 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_{L,a}$ na condição de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação.

Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{66,5096}{238,7315 - 66,5096} * e^{-238,7315t} - \frac{238,7315}{238,7315 - 66,5096} * e^{-66,5096t} \quad (4.10)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_{L,a}$ de 67 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para o caso na condição de 1,0 vvm e 500 rpm.

Os resultados obtidos nos dois testes encontram-se na Tabela 4.9.

Figura 4.17 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de 1,0 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada com NaOH.

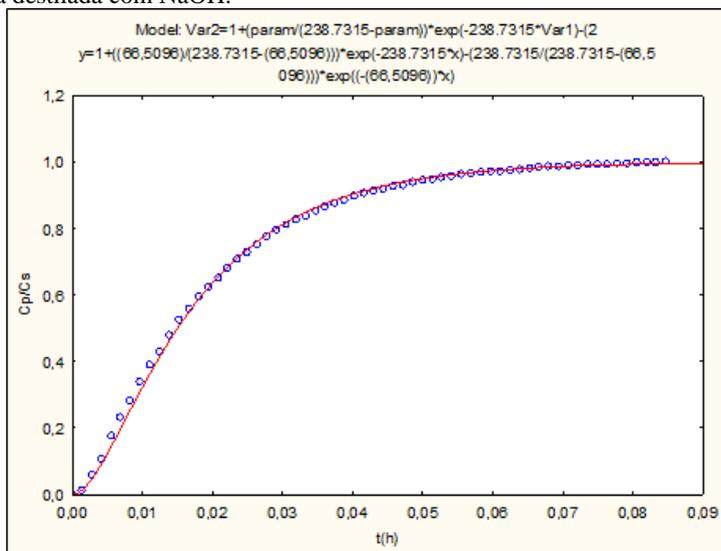


Tabela 4.9 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com NaOH.

Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_L a$ (h^{-1})
250	1,0	67
500	1,0	148

Ao comparar os valores da Tabela 4.9 com os valores da Tabela 4.1, pode-se observar que a presença de base na água destilada não alterou substancialmente seu $k_L a$, não havendo um aumento significativo nos valores do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio em relação à água destilada pura. A pequena variação encontrada é referente à erros do procedimento. Sendo assim, não houve necessidade de continuar os experimentos para as outras condições de agitação e aeração, sendo que já foi possível observar que a presença de NaOH na água destilada não alterou a transferência de oxigênio.

Sendo assim, o único composto que apresentou maior efeito individualmente na transferência de oxigênio no meio de cultivo, foi o KH_2PO_4 .

4.5 Salinidade e densidade

Sabe-se que a densidade da água a 25 °C é de $0,997 \text{ g.cm}^{-3}$. A densidade do meio de cultivo foi medida com o refratômetro, como descrito no item 3.2, e obteve-se um valor de $1,018 \text{ g.cm}^{-3}$. A importância da medição da densidade é que esta poderia estar influenciando na transferência de oxigênio. No entanto, como a densidade é próxima da água ela não afeta a propriedade de difusão de oxigênio no líquido. As medidas com o meio de cultivo com as variações também não apresentaram diferença de densidade, sendo que para o meio de cultivo com a retirada da glicose, que é o composto presente em maior concentração, a densidade foi de $1,012 \text{ g.cm}^{-3}$, ou seja, muito semelhante ao meio de cultivo completo e também à água destilada. Sendo assim, não se viu a necessidade de continuar realizando as medidas de densidade para todas as variações estudadas.

Já a salinidade, tem uma influência maior na transferência de massa, visto que ela afeta a tensão superficial do meio. A salidade da água destilada é de 0%, enquanto que a salinidade do meio de cultivo obtida é de 25%, ou seja, o meio de cultivo, devido aos compostos presentes, possui uma salinidade bem maior que a da água destilada pura. Por isso podemos observar um aumento no coeficiente de transferência de oxigênio no meio de cultivo estudado, pois o aumento da salinidade provoca uma redução na tensão superficial do líquido, diminuindo o tamanho das bolhas de ar, o que gera um aumento da transferência de oxigênio (YAHAYA et al., 2001).

Sendo assim, a salinidade do meio é um fator importante no aumento da transferência de oxigênio.

4.6 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$) em água destilada com surfactante SDS em reator de 5L de volume útil

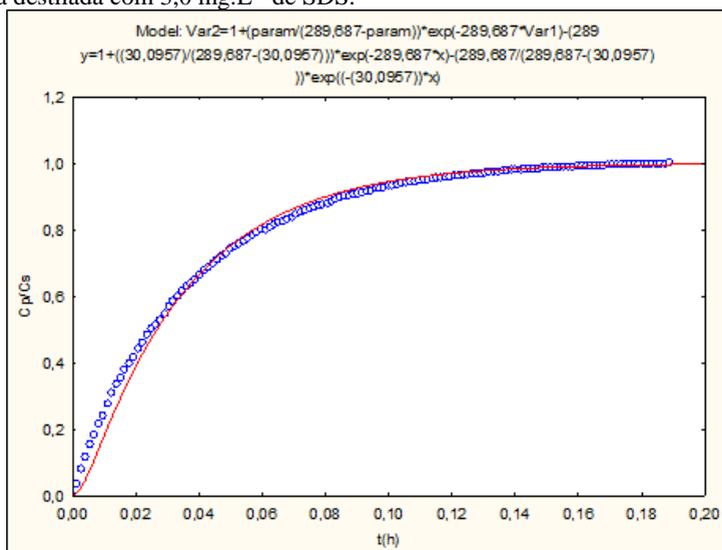
Os valores de $k_{L,a}$ foram obtidos plotando-se os dados de C_p/C_s em função do tempo, ajustando-os à Equação 2.7 com o auxílio do *software Statistica*. Um novo valor de k_p foi determinado para realizar a correção

da equação, sendo obtida uma constante de atraso de $289,687 \text{ h}^{-1}$. No entanto, os valores finais de $k_L a$ podem ser comparados normalmente com os da água destilada obtidos no item 4.2 pois a equação final é corrigida de acordo com a resposta da sonda no momento, que nessa etapa estava um pouco mais rápida. O objetivo dessa etapa foi avaliar a influência de surfactante na transferência de oxigênio.

4.6.1 Determinação do $k_L a$ em água destilada com $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS

Na Figura 4.18 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_L a$ na condição de $0,3 \text{ vvm}$ de aeração e 250 rpm de agitação.

Figura 4.18 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de $0,3 \text{ vvm}$ de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada com $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.



Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{30,0957}{289,687 - 30,0957} * e^{-289,687t} - \frac{289,687}{289,687 - 30,0957} * e^{-30,0957t} \quad (4.11)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_{L,a}$ de 30 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para os demais casos, sendo que os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.10.

Tabela 4.10 Valores de $k_{L,a}$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com 3,0 $mg.L^{-1}$ de SDS.

Frequência de agitação (rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_{L,a}$ (h^{-1})
250	0,3	30
250	1,0	64
250	1,4	75
300	0,3	33
300	1,0	73
300	1,4	82
400	0,3	46
400	1,0	110
400	1,4	114
500	0,3	63
500	1,0	159
500	1,4	184

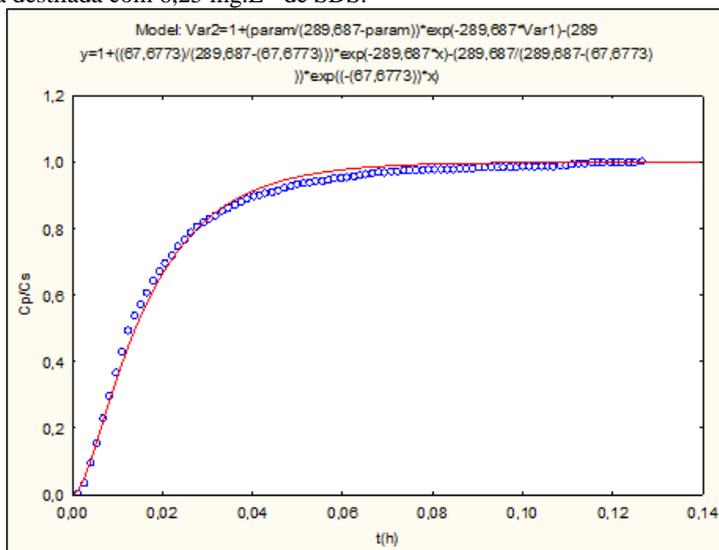
Ao comparar os valores da Tabela 4.10 com os valores da Tabela 4.1, pode-se observar que o surfactante teve uma influência positiva, aumentando os valores de $k_{L,a}$ da água destilada, o que quer dizer que a presença de SDS aumenta o coeficiente de transferência de oxigênio no meio, mesmo em concentrações bem baixas.

Sendo assim, prosseguiu-se os experimentos testando concentrações mais elevadas de surfactante, para avaliar como o aumento da quantidade de surfactante no líquido afeta a transferência de oxigênio.

4.6.2 Determinação do $k_{L,a}$ em água destilada com $6,25 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS

Na Figura 4.19 estão apresentados os dados experimentais para a determinação do $k_{L,a}$ na condição de $0,3 \text{ vvm}$ de aeração e 250 rpm de agitação.

Figura 4.19 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$) nas condições de $0,3 \text{ vvm}$ de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada com $6,25 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.



Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{67,6773}{289,687 - 67,6773} * e^{-289,687t} - \frac{289,687}{289,687 - 67,6773} * e^{-67,6773t} \quad (4.12)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_{L,a}$ de 68 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para os demais casos, sendo que os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.11.

Tabela 4.11 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com $6,25 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.

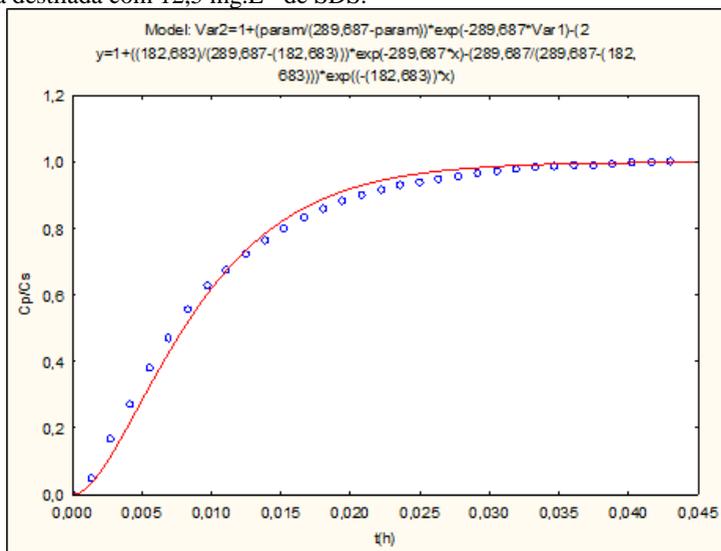
Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_L a$ (h^{-1})
250	0,3	68
250	1,0	81
250	1,4	91
300	0,3	86
300	1,0	92
300	1,4	101
400	0,3	100
400	1,0	138
400	1,4	138
500	0,3	103
500	1,0	176
500	1,4	184

Ao comparar os valores da Tabela 4.11 com os valores da Tabela 4.1, pode-se observar que o surfactante teve um efeito positivo, aumentando bastante os valores de $k_L a$ da água destilada, ficando intermediário aos valores de $k_L a$ da água destilada pura e do meio de cultivo, que pode ser observado na Tabela 4.2. Isto mostra que a presença de SDS em uma concentração um pouco maior aumenta bastante a transferência de oxigênio no meio. Isso ocorre pois, segundo Fahim et al. (2013), os surfactantes diminuem o tamanho médio da bolha e, conseqüentemente, aumentam a área interfacial, o que facilita a transferência de massa.

4.6.3 Determinação do $k_L a$ em água destilada com $12,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS

Na Figura 4.20 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_L a$ na condição de 1,4 vvm de aeração e 500 rpm de agitação.

Figura 4.20 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de 1,4 vvm de aeração e 500 rpm de agitação em água destilada com 12,5 mg.L⁻¹ de SDS.



Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{182,683}{289,687-182,683} * e^{-289,687t} - \frac{289,687}{289,687-182,683} * e^{-182,683t} \quad (4.13)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_L a$ de 183 h⁻¹.

O mesmo procedimento foi realizado para os demais casos, sendo que os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.12.

Ao comparar os valores da Tabela 4.12 com os valores da Tabela 4.1, pode-se observar que o surfactante teve um efeito positivo, aumentando os valores de $k_L a$ da água destilada. No entanto, se comparado aos valores da Tabela 4.11, referente à concentração de surfactante de 6,25 mg.L⁻¹, já é possível observar uma queda nos valores de $k_L a$. Isso mostra que o aumento excessivo da concentração de SDS no líquido começa a prejudicar a transferência de massa.

Tabela 4.12 Valores de $k_{L,a}$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com $12,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.

Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_{L,a}$ (h^{-1})
250	0,3	65
250	1,0	78
250	1,4	81
300	0,3	73
300	1,0	97
300	1,4	100
400	0,3	82
400	1,0	139
400	1,4	146
500	0,3	95
500	1,0	168
500	1,4	183

4.6.4 Determinação do $k_{L,a}$ em água destilada com $20,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS

Na Figura 4.21 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_{L,a}$ na condição de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação.

Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{61,4804}{289,687-61,4804} * e^{-289,687t} - \frac{289,687}{289,687-61,4804} * e^{-61,4804t} \quad (4.14)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_{L,a}$ de 61 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para os demais casos, sendo que os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.13.

Figura 4.21 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada com 20,0 mg.L⁻¹ de SDS.

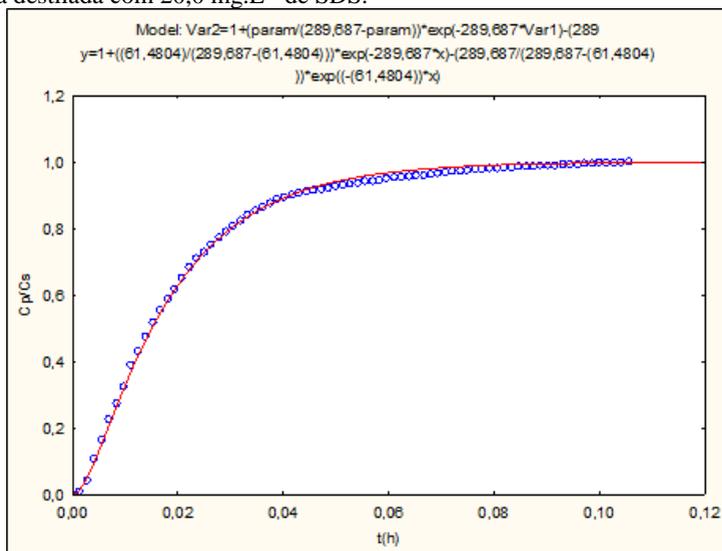


Tabela 4.13 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com 20,0 mg.L⁻¹ de SDS.

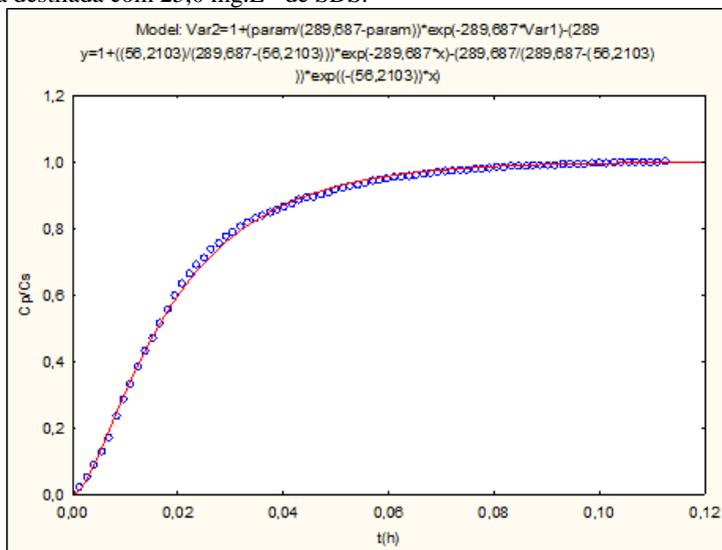
Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_L a$ (h ⁻¹)
250	0,3	61
250	1,0	70
250	1,4	73
300	0,3	69
300	1,0	86
300	1,4	86
400	0,3	72
400	1,0	116
400	1,4	117
500	0,3	94
500	1,0	167
500	1,4	174

Ao comparar os valores da Tabela 4.13 com os valores da Tabela 4.1, pode-se observar que o surfactante teve um efeito positivo, aumentando os valores de $k_{L,a}$ da água destilada. No entanto, se comparado aos valores das Tabelas 4.11 e 4.12, referente à concentração de surfactante de $6,25 \text{ mg.L}^{-1}$ e $20,0 \text{ mg.L}^{-1}$, já é possível observar uma estabilização nos valores de $k_{L,a}$. Isso mostra que o contínuo aumento da concentração de SDS no líquido começa a prejudicar a transferência de massa, como já pôde ser observado com a concentração de SDS de $12,5 \text{ mg.L}^{-1}$.

4.6.5 Determinação do $k_{L,a}$ em água destilada com $25,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS

Na Figura 4.22 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_{L,a}$ na condição de $0,3 \text{ vvm}$ de aeração e 250 rpm de agitação.

Figura 4.22 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$) nas condições de $0,3 \text{ vvm}$ de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada com $25,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.



Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{56,2103}{289,687 - 56,2103} * e^{-289,687t} - \frac{289,687}{289,687 - 56,2103} * e^{-56,2103t} \quad (4.15)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_L a$ de 56 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para os demais casos, sendo que os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.14.

Tabela 4.14 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada com $25,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de SDS.

Frequência de agitação (rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_L a$ (h^{-1})
250	0,3	56
250	1,0	67
250	1,4	70
300	0,3	60
300	1,0	78
300	1,4	81
400	0,3	67
400	1,0	99
400	1,4	113
500	0,3	80
500	1,0	130
500	1,4	144

Ao comparar os valores da Tabela 4.14 com os valores da Tabela 4.1, pode-se observar que o surfactante teve um efeito positivo, aumentando os valores de $k_L a$ em relação aos dados obtidos com a água destilada. No entanto, se comparado aos valores das Tabelas 4.11, referente à concentração de surfactante de $6,25 \text{ mg.L}^{-1}$, é possível observar uma queda e estabilização nos valores de $k_L a$. Comparando-se com as Tabelas 4.12 e 4.13, é possível observar uma queda apesar de menos pronunciada, quase estabilizando os valores de $k_L a$ obtidos. Isso mostra que o contínuo aumento da concentração de SDS no líquido

começa a prejudicar a transferência de massa, apesar de os valores de $k_{L,a}$ ainda se manterem mais elevados do que em água destilada pura.

Nas Figuras 4.23, 4.24 e 4.25, encontram-se os valores de $k_{L,a}$ em função das concentrações de SDS utilizadas, para os distintos valores da vazão de aeração e frequência de agitação. Observa-se que com a menor concentração de SDS obtêm-se os menores valores de $k_{L,a}$. Com o aumento da concentração de surfactante, temos os valores máximos de $k_{L,a}$ na concentração de $6,25 \text{ mg.L}^{-1}$. Após isso, com o aumento da concentração, foi observada uma queda na transferência de oxigênio e ao continuar aumentando a concentração de SDS na água destilada, começa-se a observar um comportamento quase constante do coeficiente de transferência de oxigênio. Isso se deve ao fato de que o surfactante diminui o tamanho da bolha de ar e existe um tamanho limite que favorece a transferência de oxigênio, sendo que se a bolha atingir um tamanho menor do que esse limite ela pode prejudicar a transferência de oxigênio, já que a bolha fica muito tempo no sistema líquido.

Figura 4.23 Comportamento do $k_{L,a}$ com o aumento da concentração de surfactante em água destilada com vazão de aeração de $0,3 \text{ vvm}$.

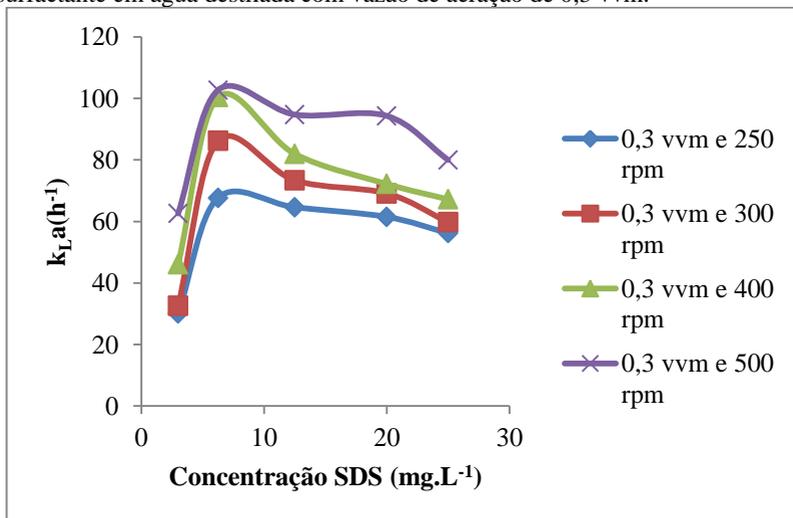


Figura 4.24 Comportamento do $k_{L,a}$ com o aumento da concentração de surfactante em água destilada com vazão de aerção de 1,0 vvm.

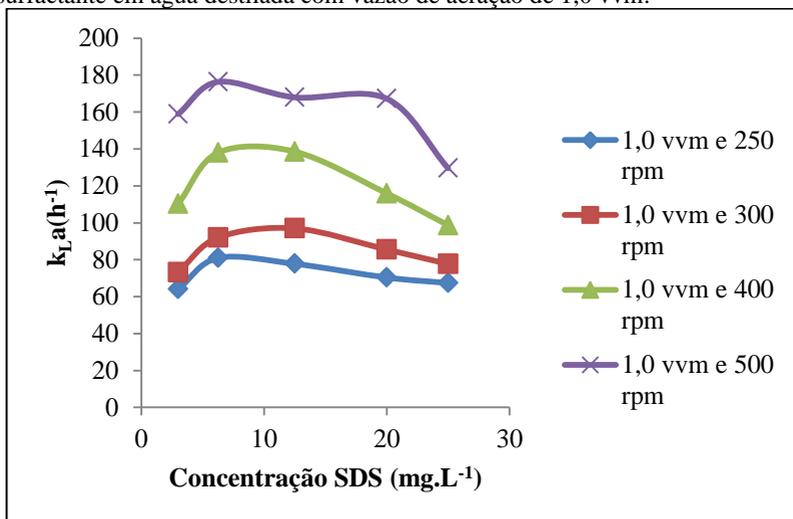
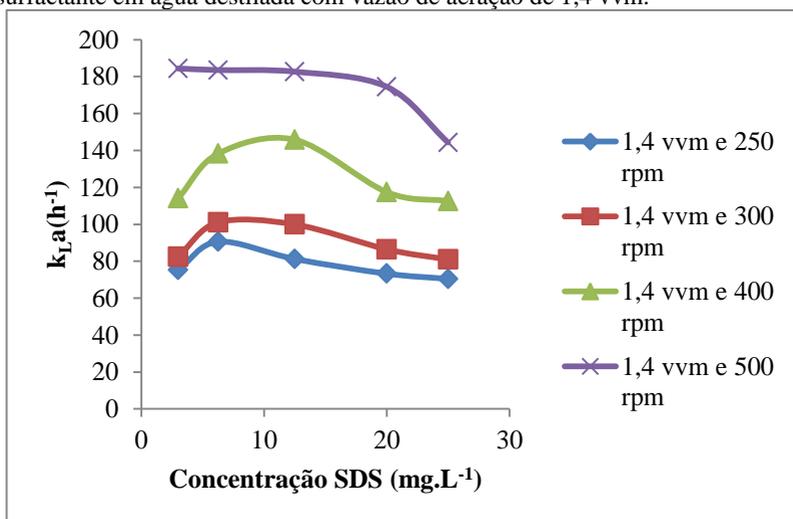


Figura 4.25 Comportamento do $k_{L,a}$ com o aumento da concentração de surfactante em água destilada com vazão de aerção de 1,4 vvm.



Pode-se observar pela Figura 4.23 que existe um aumento grande no valor do $k_{L,a}$ da concentração de 3,0 para 6,25 mg.L^{-1} . Esse aumento é mais acentuado com uma vazão de aeração menor, pois com uma aeração inicial baixa, o $k_{L,a}$ é baixo mesmo com a influência do surfactante. Já para vazões de aeração maiores, como mostram as Figuras 4.24 e 4.25, esse aumento não é tão evidente, pois a transferência de oxigênio já é relativamente alta desde o início.

Essa queda da transferência de oxigênio com o aumento da concentração também foi observada por Jamnongwong et al. (2010), que trabalhou com concentrações de surfactante SDS de 50 mg.L^{-1} até a solução pura, obtendo uma transferência de oxigênio bem baixa.

Segundo Fahim et al. (2013) e Rosso et al. (2006) a redução da transferência de oxigênio é devido à maior concentração de surfactante, que ao se acumular na superfície da bolha, diminui a interface para difusão de oxigênio e dificulta a transferência de massa.

4.7 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_{L,a}$) em meio de cultivo com 3,0 mg.L^{-1} de surfactante SDS em reator de 5L de volume útil

Os valores de $k_{L,a}$ foram obtidos plotando-se os dados de C_p/C_s em função do tempo, ajustando-os à Equação 2.9 com o auxílio do *software Statistica*. O valor da contante de atraso (k_p) utilizada para realizar a correção da equação foi o mesmo do utilizado no item 4.6.

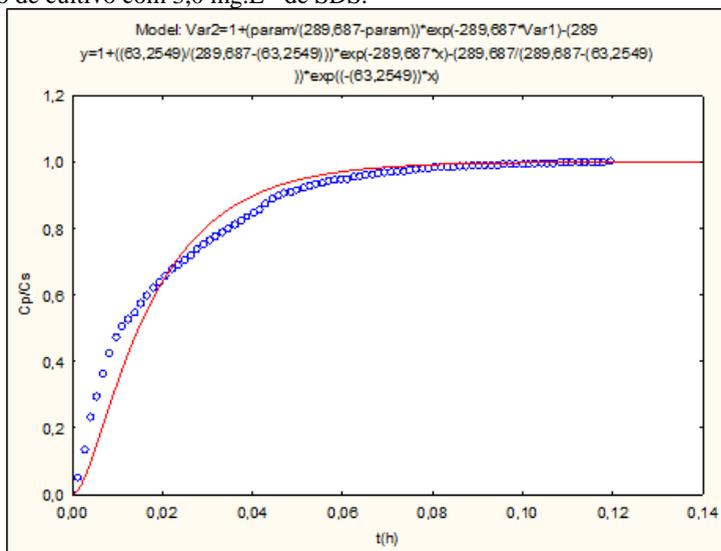
Na Figura 4.26 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_{L,a}$ na condição de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação.

Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{63,2549}{289,687 - 63,2549} * e^{-289,687t} - \frac{289,687}{289,687 - 63,2549} * e^{-63,2549t} \quad (4.16)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_{L,a}$ de 63 h^{-1} .

Figura 4.26 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo com 3,0 mg.L⁻¹ de SDS.



Ao se efetuar a aeração, observou-se a formação de espuma. No meio de cultivo a transferência de oxigênio já é facilitada, conforme mostrado no item 4.3, de forma que a formação de espuma devido a presença de surfactante foi estimulada. Sendo assim, só foi possível realizar o teste nessa condição de agitação e aeração, pois ao aumentar a frequência de agitação no sistema houve um aumento da formação de espuma e essa começou a sair do reator. Sendo assim, a concentração de surfactante no líquido já não era mais a mesma e o teste não seria válido. Pelo mesmo motivo não foi possível realizar testes com maior vazão de aeração, pois com maior fornecimento de oxigênio, maior seria a formação de espuma no reator.

No entanto, foi possível chegar a alguma conclusão com o resultado obtido no único teste realizado. Comparando-se o valor de $k_L a$ obtido pela Figura 4.26 com os valores de $k_L a$ da mesma condição de agitação e aeração em água destilada pura, em meio de cultivo puro e em água destilada com a mesma concentração de SDS, temos um compilado de valores na Tabela 4.15 abaixo.

Tabela 4.15 Valores de $k_L a$ para diferentes líquidos com frequência de agitação de 250 rpm e vazão de aeração de 0,3 vvm.

Líquido	$k_L a$ (h^{-1})
Água destilada	22
Meio de cultivo	67
Água destilada com 3,0 mg.L ⁻¹ de SDS	30
Meio de cultivo com 3,0 mg.L ⁻¹ de SDS	63

Ao observar os valores da Tabela 4.15, nota-se que apesar de a presença do surfactante em água destilada aumentar o coeficiente de transferência de oxigênio, esse comportamento não é observado ao se adicionar surfactante no meio de cultivo. Isso se deve ao efeito negativo que o surfactante causa sobre o $k_L a$ devido à sua imobilização sobre a superfície da bolha, o que dificulta a transferência de oxigênio, como estudado também por Fahim et al. (2013). Esse efeito não é observado quando em água destilada, pois primeiramente o surfactante age na redução do tamanho das bolhas, que aumenta a área interfacial para transferência de massa. Mas como no meio de cultivo, devido à presença de vários compostos, que alteram a salinidade e a tensão superficial, o tamanho das bolhas já é pequeno - sendo verificado visualmente - e o surfactante não tem esse papel, acabando por se acumular na interface e reduzindo um pouco o $k_L a$. Sendo assim, o surfactante apresenta efeito negativo quando em meio de cultivo.

4.8 Resumo dos principais resultados obtidos para o reator de 5L de volume útil

As tabelas a seguir apresentam um compilado das tabelas com os resultados de coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) obtidos para a água destilada, meio de cultivo, meio sem KH_2PO_4 e outra para em água destilada com diferentes concentrações de surfactante (SDS). Essas tabelas têm como objetivo facilitar a comparação entre os resultados obtidos nas diferentes condições de líquido estudadas.

Tabela 4.16 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de aeração e agitação em água destilada, meio de cultivo e meio sem KH_2PO_4 .

Condições de processo		Coef. vol. de transferência de oxigênio $k_L a$ (h^{-1})		
Frequência de agitação (rpm)	Vazão de aeração (vvm)	Água destilada	Meio de cultivo	Meio s/ KH_2PO_4
250	0,3	22	67	71
250	1,0	58	123	88
250	1,4	74	129	119
300	0,3	24	88	81
300	1,0	67	134	123
300	1,4	81	141	136
400	0,3	31	105	99
400	1,0	90	220	174
400	1,4	108	242	199
500	0,3	40	127	115
500	1,0	115	362	255
500	1,4	141	379	311

Tabela 4.17 Valores de kLa obtidos para diferentes condições de aeração e agitação em água destilada com diferentes concentrações de SDS.

Condições de processo		Coef. volumétrico de transferência de oxigênio: kLa (h ⁻¹)					
Frequência de agitação (rpm)	Vazão de aeração (vvm)	3,0 mg.L ⁻¹	6,25 mg.L ⁻¹	12,5 mg.L ⁻¹	20,0 mg.L ⁻¹	25,0 mg.L ⁻¹	
		SDS	SDS	SDS	SDS	SDS	SDS
250	0,3	30	68	65	61	56	
250	1,0	64	81	78	70	67	
250	1,4	75	91	81	73	70	
300	0,3	33	86	73	69	60	
300	1,0	73	92	97	86	78	
300	1,4	82	101	100	86	81	
400	0,3	46	100	82	72	67	
400	1,0	110	138	139	116	99	
400	1,4	114	138	146	117	113	
500	0,3	63	103	95	94	80	
500	1,0	159	176	168	167	130	
500	1,4	184	184	183	174	144	

4.9 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (k_La) em reator com 3L de volume útil

Primeiramente foram medidas todas as dimensões do reator que influenciam na transferência de oxigênio. Na Tabela 4.18 encontram-se as medidas tanto do reator de 3L de volume útil quanto do de 5L de volume útil.

Foram feitos testes tanto em água destilada quanto em meio de cultivo, descrito no item 3.1, para serem comparados com os valores de k_La obtidos no reator maior (5L).

Tabela 4.18 Dimensões dos reatores de 3 e 5L de volume útil.

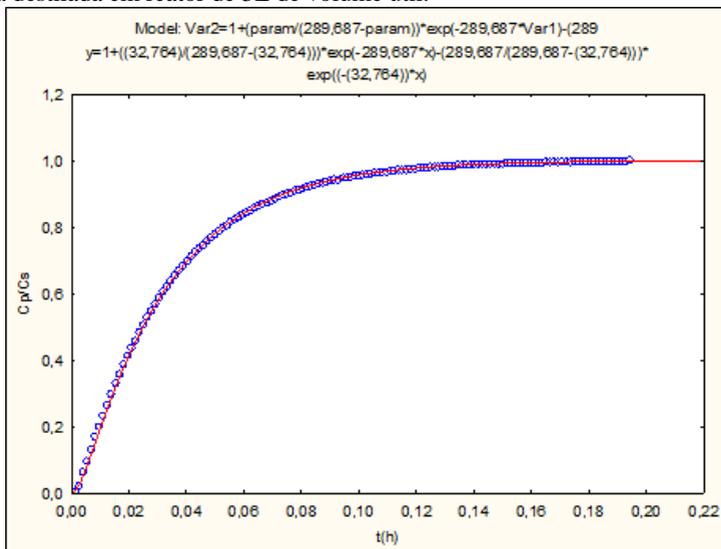
Reator	5L	3L
altura interna do reator (cm)	45,2	30,5
diâmetro interno do reator (cm)	14	14,5
altura do líquido (cm)	30	19,5
número de turbinas	3	2
número de hélices da turbina	6	6
diâmetro da turbina (cm)	5	5
tamanho das hélices (cm)	1,2	1,2
diâmetro do dispersor (cm)	5	5
largura da chicana (cm)	1,8	1,8
distância entre turbinas (cm)	8	6,3
distância do dispersor para a 1ª turbina (cm)	0,7	1,3

4.9.1 Determinação do k_La em água destilada em reator de 3L de volume útil

Os valores de k_La foram obtidos plotando-se os dados de C_p/C_s em função do tempo, ajustando-os à Equação 2.7 com o auxílio do *software Statistica*. O valor da constante de atraso (k_p) utilizada para realizar a correção da equação foi o mesmo do utilizado no item 4.6.

Na Figura 4.27 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_L a$ na condição de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação.

Figura 4.27 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em água destilada em reator de 3L de volume útil.



Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{32,764}{289,687 - 32,764} * e^{-289,687t} - \frac{289,687}{289,687 - 32,764} * e^{-32,764t} \quad (4.17)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_L a$ de 33 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para os demais casos, sendo que os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.19.

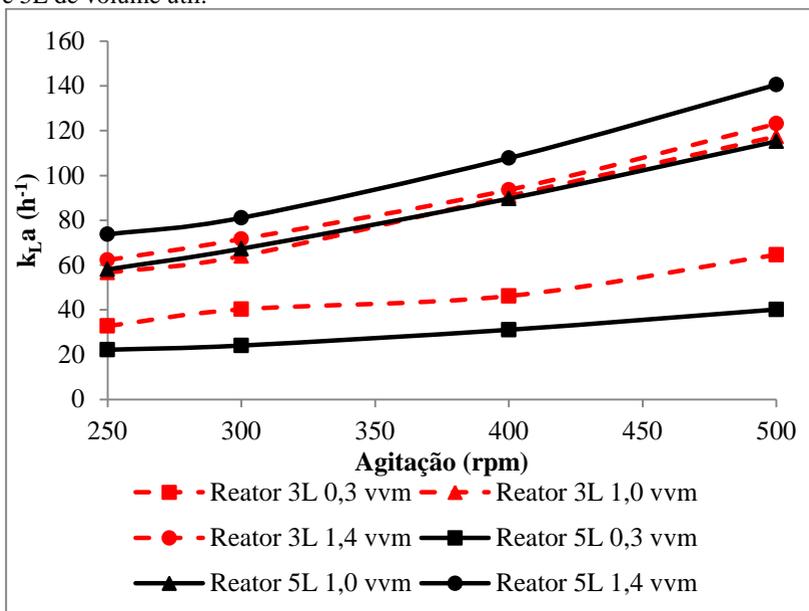
Para conseguir comparar melhor os valores da Tabela 4.19 com os valores da Tabela 4.1 foi feito um gráfico comparativo dos valores de $k_L a$ em água destilada em ambos reatores, como mostra a Figura 4.28.

Tabela 4.19 Valores de $k_L a$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em água destilada em reator de 3L de volume útil.

Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_L a$ (h^{-1})
250	0,3	33
250	1,0	57
250	1,4	62
300	0,3	40
300	1,0	64
300	1,4	72
400	0,3	46
400	1,0	91
400	1,4	94
500	0,3	65
500	1,0	117
500	1,4	123

Pode-se observar que na condição com menor aeração o reator menor apresenta maiores valores de coeficiente de transferência de oxigênio. Devido ao menor volume de líquido o oxigênio consegue ser mais facilmente transferido homogeneamente no reator, fornecendo um $k_L a$ maior. Com o aumento do fornecimento de oxigênio, o tamanho do reator já não apresenta muita influência na transferência de oxigênio, visto que com a vazão de aeração de 1,0 vvm as curvas dos dois reatores se sobrepõe. Ao aumentar ainda mais a vazão de aeração, o reator maior começa a apresentar maiores valores de $k_L a$. Nesse caso, a presença de 3 turbinas no reator de 5L de volume útil auxiliou mais na transferência de oxigênio, se comparado às 2 turbinas presentes no reator menor.

Figura 4.28 Comparativo dos valores de $k_L a$ em água destilada em reator de 3L e 5L de volume útil.

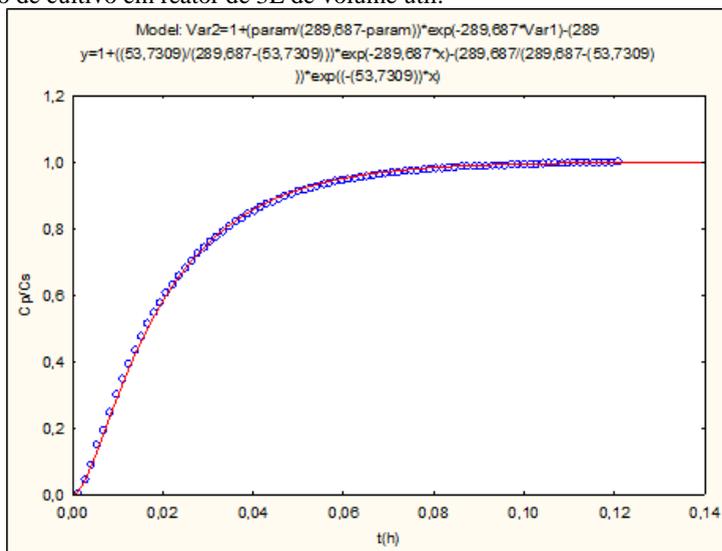


4.9.2 Determinação do $k_L a$ em meio de cultivo em reator de 3L de volume útil

Assim como para o experimento em água destilada, os valores de $k_L a$ foram obtidos plotando-se os dados de C_p/C_s em função do tempo, ajustando-os à Equação 2.7 com o auxílio do *software Statistica*. O valor da constante de atraso (k_p) utilizada para realizar a correção da equação foi o mesmo do utilizado no item 4.6.

Na Figura 4.29 estão representados os dados experimentais para a determinação do $k_L a$ na condição de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação.

Figura 4.29 Determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ($k_L a$) nas condições de 0,3 vvm de aeração e 250 rpm de agitação em meio de cultivo em reator de 3L de volume útil.



Para este caso, através do ajuste da Equação 2.7 aos dados experimentais, utilizando o *software Statistica*, resulta:

$$\frac{C_p}{C_s} = 1 + \frac{53,7309}{289,687 - 53,7309} * e^{-289,687t} - \frac{289,687}{289,687 - 53,7309} * e^{-53,7309t} \quad (4.18)$$

Da equação acima obtém-se o valor de $k_L a$ de 54 h^{-1} .

O mesmo procedimento foi realizado para os demais casos, sendo que os resultados obtidos se encontram na Tabela 4.20.

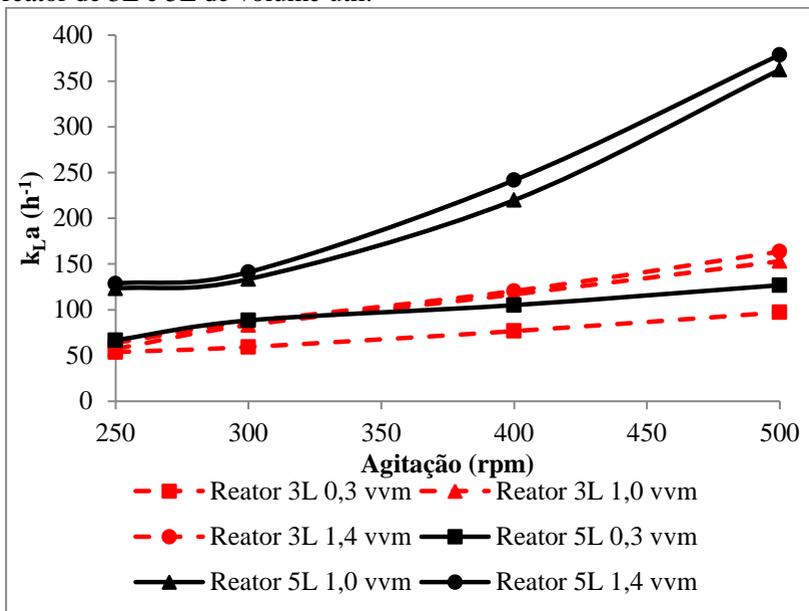
Semelhantemente ao procedimento do item 4.8.1, para conseguir comparar melhor os valores da Tabela 4.18 com os valores da Tabela 4.2 foi feito um gráfico comparativo dos valores de $k_L a$ em meio de cultivo em ambos reatores, como mostra a Figura 4.30.

Tabela 4.20 Valores de $k_{L,a}$ obtidos para diferentes condições de agitação e aeração em meio de cultivo em reator de 3L de volume útil.

Frequência de agitação(rpm)	Vazão de aeração (vvm)	$k_{L,a}$ (h^{-1})
250	0,3	54
250	1,0	57
250	1,4	64
300	0,3	59
300	1,0	83
300	1,4	87
400	0,3	77
400	1,0	117
400	1,4	121
500	0,3	97
500	1,0	153
500	1,4	164

Pode-se observar que, diferentemente da Figura 4.28 que mostra o comportamento em água destilada, em meio de cultivo a transferência de oxigênio no reator pequeno é menor em todas as condições de agitação e aeração. Além disso, ao compararem-se as Tabelas 4.19 e 4.20, observamos que os valores de $k_{L,a}$ são mais próximos do que ao comparar-se as Tabelas 4.1 e 4.2. Isso mostra que a geometria do reator influenciou bastante a transferência de oxigênio em meio de cultivo. Pode-se afirmar que a presença de 3 turbinas no reator de 5L de volume útil, se comparada com 2 turbinas no reator de 3L de volume útil, ajuda mais na dispersão das bolhas e no seu rompimento, formando bolhas menores, aumentando a área interfacial para transferência de massa. Foi possível constatar isso também visualmente, ao observar-se que realmente os tamanhos das bolhas estavam um pouco maiores no reator de 3L de volume útil.

Figura 4.30 Comparativo dos valores de $k_{L,a}$ em meio de cultivo em reator de 3L e 5L de volume útil.



5 CONCLUSÕES

O estudo realizado permitiu concluir que o meio de cultivo tem grande influência na transferência de oxigênio, tanto pela sua elevada salinidade quanto pela presença de alguns compostos que, em conjunto, provocam um efeito que reduz a resistência à transferência de oxigênio no líquido. Além disso, o aumento da agitação e da aeração provocaram aumento na transferência de oxigênio no reator.

Observou-se ainda que o KH_2PO_4 é o composto presente no meio de cultivo com maior efeito no valor de k_La . Sendo assim, em um estudo sobre a transferência de oxigênio em processo produtivo em biorreator, seu consumo poderá apresentar influência no k_La durante o cultivo.

Foi possível concluir também que o surfactante SDS em baixa concentração afeta positivamente o k_La , porém, ao aumentar muito a concentração o coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio é prejudicado. Isso mostra a importância da remoção de espuma (surfactante) do reator em um processo que visa produção de surfactante, para que ele não limite a transferência de oxigênio no reator e não prejudique o rendimento e produtividade do sistema.

E por fim, a geometria do reator mostrou-se importante na transferência de oxigênio principalmente em meio de cultivo, onde a transferência de oxigênio é maior, concluindo que um reator maior, de 5L de volume útil, e com as devidas configurações apresentadas durante este trabalho, incluindo número de turbinas, apresenta um desempenho melhor na transferência de oxigênio. Sendo assim, para um futuro estudo de produção de surfactante em biorreator, o reator maior é o mais indicado.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Verificar a correlação entre k_{LA} e a potência transferida ao líquido (P_g/V) e a velocidade superficial do ar em distintas concentrações de surfactante;
- Avaliar a transferência de oxigênio (k_{LA}) em processo produtivo de surfactina, observando a influência do consumo dos nutrientes, crescimento de células e produção do biosurfactante no valor de k_{LA} .
- Realizar cultivos em biorreator operado em modo de batelada alimentada repetida com remoção de espuma com variação das condições de agitação e aeração para manter k_{LA} constante durante o processo.

7 REFERÊNCIAS

- ADAMCZAK, M.; BEDNARSKI, W. Properties and yield of synthesis of mannosylerythritol lipids by *Candida antarctica*. **Food Biotechnology**, Poland, v. 17, p.229-234, 2000.
- AIBA, S.; HUMPHREY, A. E.; MILLIS, N.F. **Biochemical Engineering**. Tóquio: University of Tokio Press, 2 ed., 1973. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. *Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica*. São Paulo: Edgard Blücher, v. 2, 2001.
- AMANI, H.; MEHRNIA, M. R.; SARRAFZADEH, M. H.; HAGHIGHI, M.; SOUDI, M. R. Scale up and Application of Biosurfactant from *Bacillus subtilis* in Enhanced Oil Recovery. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, p. 510–523, 2010.
- ARJUNWADKAR, S.J.; SARVANAN, A.B.; KULKARNI, P.R.; PANDIT, A.B.. Gas liquid mass transfer in dual impeller bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, v. 1, p. 99-106, 1998.
- BADINO, A. C. J.; ALMEIDA, P. I. F.; CRUZ, A. J. G. Agitation and Aeration: an Automated Didactic Experiment. **Chemical Engineering Education**, v. 38, n. 2, p. 100–1007, 2004.
- BANAT, I. M. Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: A review. **Bioresource Technology**, v. 51, n. 1, p. 1–12, 1995.
- BANDYOPADHYAY, B.; HUMPHREY, A. E.; TAGUCHI, H. Dynamic measurement of the volumetric oxygen transfer coefficient in fermentation systems. **Biotechnology and bioengineering**, v. 104, n. 5, p. 841–853, 2009.
- BARROS, F. F. C.; QUADROS, C. P. De; MARÓSTICA, M. R. J.; PASTORE, G. M. Surfactina: propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 409–414, 2007.
- BEHRING, J. L.; ; LUCAS, M.; BARCELLOS, I. O. ; MACHADO, C. Adaptação no método do peso da gota para determinação da tensão superficial. **Química Nova**, Blumenau, v. 27, n. 3, p.492- 495, 2004.
- BOGNOLO, G. Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. **Colloid Surface**, v. 52, p 41–52, 1999.
- CHEN, W.-C.; JUANG, R.-S.; WEI, Y.-H. Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms. **Biochemical Engineering Journal**, v. 103, p. 158–169, 2015.

- COOPER, C.M.; FERNSTROM, G.A.; MILLER, S.A. Performance of agitated gas-liquid contactors. **Ind. Eng. Chem.**, v. 36, n. 6, p. 504-509, 1944.
- COOPER, D. G.; MACDONALD, C. R.; DUFF, S. J. B.; KOSARIC, N. Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by continuous product removal and metal cation additions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 408-412, 1981.
- COSTA, G. A. N. **Produção biotecnológica de surfactante de *Bacillus subtilis* em resíduo agroindustrial, caracterização e aplicações**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós Graduação em Ciências dos Alimentos, UNICAMP, Campinas.
- CRASTO, C.J.T.L. **Avaliação da produção de ramnolipídios por bactérias isoladas de poços de petróleo**. 2005. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Produtos Bioativos.
- DAVIS, D. A.; LYNCH, H. C.; VARLEY, J. The production of Surfactin in batch culture by *Bacillus subtilis* ATCC 21332 is strongly influenced by the conditions of nitrogen metabolism. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 25, p. 322-329, 1999.
- DAVIS, D. A.; LYNCH, H. C.; VARLEY, J. The application of foaming for the recovery of Surfactin from *B. subtilis* ATCC 21332 cultures. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 28, p. 346-354, 2001.
- DE OLIVEIRA, D.W.F.; FRANÇA, I.W.L.; FÉLIX, A.K.N.; MARTINS, J.J.L.; GIROA, M.E.A.; MELO, V.M.M., GONÇALVES, L.R.B. Kinetic study of biosurfactant production by *Bacillus subtilis* LAMI005 grown in clarified cashew apple juice. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 101, p. 34- 43, 2013.
- DESAI, D. J.; BANAI, I. M. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 61, n. 1, p. 47-64, 1997.
- DESAI, J.D.; DESAI, A.J. Production of biosurfactants. In: KOSARIC, N. **Biosurfactants Production, Properties, Applications** (ed.). Marcel Dekker, New York, p. 65-97, 1993.
- DYER, S.D.; LAUTH, J.R.; MORRALL, S.W.; HERZOG, R.R.; CHERRY, D.S. Development of a chronic toxicity structure-activity relationship for alkyl sulfates. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v. 12, p. 295-303, 1997.

FÁBIO, F. C. B.; PEREIRA, C. Q.; ROBERTO, M. M. J.; MARIA, G. P. Surfactina: Propriedades químicas, tecnológicas e funcionais para aplicações em alimentos. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 409-414, 2007.

FAHIM, S.; DIMITROV, K.; VAUCHEL, P.; GANCEL, F.; DELAPLACE, G.; JACQUES, P.; NIKOV, I. Oxygen transfer in three phase inverse fluidized bed bioreactor during biosurfactant production by *Bacillus subtilis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 76, p. 70–76, 2013.

FCIENCIAS. **SDS - Molécula da semana**. Disponível em: <<http://www.fcencias.com/2013/03/21/molecula-da-semana-sds/>>. Acesso em: jan. 2017.

FONTES, Gizele Cardoso; AMARAL, Priscilla Filomena Fonseca; COELHO, Maria Alice Zarur. Produção de biossurfactante por levedura. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 8, p.2091-2099, 24 abr. 2008.

GARCIA-OCHOA, F.; GOMEZ, E.. Prediction of gas–liquid mass transfer in sparged stirred tank bioreactors. **Biotechnology Bioengineering**, v. 92, p. 761–772, 2005.

GARCIA-OCHOA, F.; GOMEZ, E.. Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 153-176, 2008.

GUDIÑA, E.J.; PEREIRA, J.F.B.; RODRIGUES, L.R.; COUTINHO, J.A.P.; TEIXEIRA, J.A. Isolation and study of microorganisms from oil samples for application in microbial enhanced oil recovery. **International Biodeterioration and Biodegradation**. v. 68, p. 56- 64, 2012.

HUMPHREY, A.E.; TAGUCHI, H. Dynamic measurement of the volumetric oxygen transfer coefficient in fermentation systems. **J. Ferm. Technol. (Japan)**, v. 44, n. 12, p. 881-889, 1966.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STANLEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey’s manual of determinative bacteriology**. 9 ed., Baltimore: Williams & Wilkins, p. 659, 660 e 787. 1994.

HÖRMANN, B.; MÜLLER, M.M.; SYLDATEK, C.; HAUSMANN, R. Rhamnolipid production by *Burkholderia plantarii* DSM 9509T. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 112, p. 674-680, 2010.

HUANG, X.; LIU, J.; WANG, Y.; LIU, J.; LU, L. The positive effects of Mn²⁺ on nitrogen use and surfactin production by *Bacillus subtilis* ATCC 21332. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 29, p. 381-389, 2015.

- JAMNONGWONG, M.; LOUBIERE, K.; DIETRICH, N.; HÉBRARD, G.. Experimental study of oxygen diffusion coefficients in clean water containing salt, glucose or surfactant: Consequences on the liquid-side mass transfer coefficients. **Chemical Engineering Journal**. Toulouse, França, p. 758-768. 24 set. 2010.
- KAWASE, Y.; HALARD, B.; MOO-YOUNG, M.. Liquid-phase mass transfer coefficients in bioreactors. **Biotechnology Bioengineering**, v. 39, p. 1133–1140, 1992.
- KOSARIC, N. Biosurfactants in industry. **Pure Applied Chemistry**, v. 64, p. 1731-1737, 1992.
- KOWALL, M.; VATER, J.; KLUGE, B.; STEIN, T.; FRANKE, P.; ZIESSOW, D. Separation and characterization of surfactin isoforms produced by *Bacillus subtilis* OKB 105. **Journal of Colloid Interface Science**, v. 204, p. 1-8, 1998.
- LIMA JUNIOR, G. A.. **OBTENÇÃO DE SURFACTINA PELO MICRO-ORGANISMO *Bacillus subtilis* ATCC 6633**. 2012. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.
- LIN, S. C. Biosurfactants: Recent advances. **Journal of Chemical Technology e Biotechnology**, v. 66, n. 2, p. 109–120, 1996.
- LIU, Q.; LIN, J.; WANG, W.; HUANG, H.; LI, S. Production of surfactin isoforms by *Bacillus subtilis* BS-37 and its applicability to enhanced oil recovery under laboratory conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 93, p. 31–37, 2015.
- LIU, X.Y.; YANG, S.Z.; MU, B.Z. Isolation and characterization of a C-12-lipopeptide produced by *Bacillus subtilis* HSO 121. **Journal of Peptide Science**, v. 14, p. 864-875, 2008.
- MAIER, R.M. Biosurfactants: evolution and diversity in bacteria. In: Bennett, J.W.; Laskin, A.I.; Gadd, G.M. (Eds.). **Advances in Applied Microbiology**, vol. 52, 2003, pp. 101-121.
- MAKKAR, R.S.; CAMEOTRA, S.S.; BANAT, I.M. Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production. **Applied Microbiology and Biotechnology Express**, v. 1, n. 5, 2011.
- MORAES, S. L.; RESENDE, M. O. O. Determinação da concentração micelar crítica de ácidos húmicos por medidas de condutividade e espectroscopia. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 5, p.701-705, 2004.
- MOYA, I.; TSAOUSI, K.; RUDDEN, M.; MARCHANT, R.; JURADO, E.; GARCÍA, M.; BANAT, I. M. Bioresource Technology Rhamnolipid

and surfactin production from olive oil mill waste as sole carbon source. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 231–236, 2015.

MUKHERJEE, S.; DAS, P.; SEN, R. Towards commercial production of microbial surfactants. **Trends in Biotechnology**, v. 24, p. 509 - 515, 2006.

MULLIGAN, C. N. Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution**, v. 133, n. 2, p. 183–198, 2005.

MULLIGAN, C. N.; YONG, R. N.; GIBBS, B. F.; JAMES, S.; BENNETT, H. J. P. Metal removal from contaminated soil and sediments by the biosurfactant surfactin. **Environmental Science and Technology**, v. 33, n. 21, p. 3812–3820, 1999.

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

ÖZBEK, B.; GAYIK, S. The studies on the oxygen mass transfer coefficient in a bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 729–741, 2001.

PACWA-PLOCINICZAK, M.; PLAZA, G.A.; PIOTROWSKA-SEGET, Z.; CAMEOTRA, S.S. Environmental Applications of Biosurfactant: Recent Advances. **International Journal of Molecular Sciences**, v.12, p. 633-654, 2011.

PEREIRA, J.F.B.; GUDIÑA, E.J.; COSTA, R.; VITORINO, R.; TEIXEIRA, J.A.; COUTINHO, J.A.P.; RODRIGUES, L.R. Optimization and characterization of biosurfactant production by *Bacillus subtilis* isolates towards microbial enhanced oil recovery applications. **Fuel**, v. 111, p. 259- 268, 2013.

PERNA, R. F. **Fracionamento de surfactina em colunas de bolhas e espuma**. 2010. 168p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, UNICAMP, Campinas.

ROMANELLI, M.F.; MORAES, M.C.F.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; BORRELY, S.I. Evaluation of toxicity reduction of sodium dodecyl sulfate submitted to electron beam radiation. **Radiation Physics and Chemistry**. v. 71, p. 409-411, 2004.

RON, E.Z.; ROSENBERG, E. Natural roles of biosurfactants. **Environmental Microbiology**, v. 3, n. 4, p. 229-239, 2001.

ROSSO, D.; HUO, D. L.; STENSTROM, M. K. Effects of interfacial surfactant contamination on bubble gas transfer. **Chemical Engineering Science**, Los Angeles, Usa, v. 61, p.5500-5514, 28 abr. 2006.

- SAHARAN, B.S.; SAHU, R.K.; SHARMA, D. A Review on Biosurfactants: Fermentation, Current Developments and Perspectives. **Genetic Engineering and Biotechnology Journal**, 2011.
- SCHALLER, K.D.; FOX, S.L.; BRUHN, D.F.; NOAH, K.S.; BALA, G.A. Characterization of surfactin from *Bacillus subtilis* for application as an agent for enhanced oil recovery. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, n. 827, v. 36, p. 113-116, 2004.
- SCHMIDELL, W. Agitação e aeração em biorreatores. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. DE A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blucher, v.2, 2001. p. 277–330.
- SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher, v. 2, 2001.
- SHALIGRAM, N. S.; SINGHAL, R. S. Surfactin - a review on biosynthesis, fermentation, purification and applications. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 2, p. 119–134, 2010.
- SIGMA-ALDRICH. **Surfactin from *Bacillus subtilis***. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/s3523?lang=pt®ion=BR>>. Acesso em: dez. 2017.
- WANG, Q.; CHEN, S.; ZHANG, J.; SUN, M.; LIU, Z.; YU, Z. Co-producing lipopeptides and poly-[gamma]-glutamic acid by solid-state fermentation of *Bacillus subtilis* using soybean and sweet potato residues and its biocontrol and fertilizer synergistic effects. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3318- 3323, 2008.
- YAHAYA, G.O; AHDABB, A.A.; ALIB, S.A.; ABU-SHARKHA, B.F.; HAMADA, E.Z. Solution behavior of hydrophobically associating water-soluble block copolymers of acrylamide and N-benzylacrylamide. **Polymer**. v. 42, p. 3363-3372, 2001.
- YEH, M.; WEI, Y.; CHANG, J. Bioreactor design for enhanced carrier-assisted surfactin production with *Bacillus subtilis*. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 1799–1805, 2006.
- YOUSSEF, N.; SIMPSON, D. R.; DUNCAN, K. E.; MCINERNEY, M. J.; FOLMSBEE, M.; FINCHER, T.; KNAPP, R. M. In Situ Biosurfactant Production by *Bacillus Strains* Injected into a Limestone Petroleum Reservoir. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 4, p. 1239–1247, 2007.
- ZAJIC, J.E.; STEFFENS, W. Biosurfactants. In: **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 1, n. 2, 1984, pp. 87-107.

ZUO, Yi Y. et al. Effect of Surfactant on Interfacial Gas Transfer Studied by Axisymmetric Drop Shape Analysis-Captive Bubble (ADSACB). **Langmuir**, Canada, v. 21, p.2446-5452, abr. 2005.