

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Estudo dos ramnolipídeos em condições de pré
e pós-sal para aplicação em MEOR-*ex situ*

Alan Magalhães Duarte

2018



Universidade Federal
do Rio de Janeiro
Escola Politécnica

Estudo dos ramnolipídeos em condições de pré e pós-sal para aplicação em MEOR-*ex situ*

Alan Magalhães Duarte

Projeto de Graduação apresentado ao Curso de Engenharia de Petróleo da Escola Politécnica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Engenheiro de Petróleo.

Orientadores:

Ilson Paranhos Pasqualino

Lívia Vieira Araújo de Castilho

Rio de Janeiro

Agosto de 2018

**Estudo dos ramnolipídeos em condições de pré e pós-sal para aplicação
em MEOR-*ex situ***

Alan Magalhães Duarte

PROJETO DE GRADUAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO CURSO DE ENGENHARIA DO PETRÓLEO DA ESCOLA POLITÉCNICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE ENGENHEIRO DO PETRÓLEO.

Examinado por:

D.Sc: Ison Paranhos Pasqualino

D.Sc: Livia Vieira Araujo de Castilho

D.Sc: Rafael Mengotti Charin

D.Sc: Denise Maria Guimarães Freire

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL.

AGOSTO DE 2018

Duarte, Alan Magalhães.

Estudo dos ramnolipídeos em condições de pré e pós-sal para aplicação em MEOR-*ex situ* / Alan Magalhães Duarte. – Rio de Janeiro: UFRJ/ Escola Politécnica, 2018.

ix, xii, 80 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Ilson Paranhos Pasqualino e Livia Vieira Araujo de Castilho

Projeto de Graduação – UFRJ/ Escola Politécnica/ Curso de Engenharia de Petróleo, 2018.

Referências Bibliográficas: p. (76-80)

1. MEOR 2. Biossurfactante 3. Inversão da Molhabilidade I. Pasqualino, Ilson Paranhos. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola Politécnica, Curso de Engenharia de Petróleo. III. Estudo dos ramnolipídeos em condições de pré e pós-sal para aplicação em MEOR-*ex situ*

À minha família.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, pois sem ele nada disto seria possível.

Aos meus pais, que sempre acreditaram em mim e tiveram ao meu lado em todas as jornadas da minha vida, enfrentando obstáculos, mostrando que devemos ser sempre honestos, lutar para alcançar aquilo que queremos e sonhamos, nos tornar pessoas dignas e de bem e, principalmente, nunca deixar que digam que não somos capazes de conseguir o que quer que seja.

À minha namorada que também sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, fossem estes bons ou ruins, sempre se preocupou comigo, me incentivou a não desistir e se manter firme para enfrentar os afazeres do cotidiano, sempre ouviu meus desabafos e que sempre buscou me dar conselhos e encontrar soluções para os problemas que surgiam, além de me dar uns puxões de orelha quando estes se faziam necessários.

Aos meus amigos que também estiveram comigo ao longo da faculdade, nunca me deixaram desistir quando os períodos pareciam intermináveis e sempre me apoiaram quando, por vezes, me senti desanimado ou preocupado com as provas.

Aos meus professores que dividiram comigo suas experiências, conhecimento, informações, sabedoria e que sempre estiveram dispostos a me ajudar e, em especial, agradeço também aos meus orientadores que além de estarem sempre comigo, foram dois anjos que surgiram na minha vida na faculdade e que me estenderam a mão e acreditaram em mim no momento que mais precisei.

Ao Laboratório de Tecnologia Submarina (LTS) e ao Laboratório de Biotecnologia Microbiana (LaBiM) da UFRJ, que forneceram todo o suporte e estrutura para a realização deste trabalho.

À Petrobras pela bolsa de iniciação científica concedida.

Portanto, a todos vocês, deixo aqui de todo o coração, o meu muito obrigado.

Resumo do Projeto de Graduação apresentado à Escola Politécnica/ UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Engenheiro de Petróleo.

Estudo dos ramnolipídeos em condições de pré e pós-sal para aplicação em
MEOR-*ex situ*

Alan Magalhães Duarte

Agosto de 2018

Orientadores: Ilson Paranhos Pasqualino e Livia Vieira Araujo de Castilho

Curso: Engenharia de Petróleo

Resumo:

O objetivo deste trabalho foi comparar a eficiência do ramnolipídeo produzido a partir da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (INCQS 4046), ou seja, um biossurfactante (BS) de origem microbiana e um surfactante comercial sob as condições dos reservatórios do pós-sal e do pré-sal, a fim de avaliar o seu uso potencial para EOR (Enhanced Oil Recovery). Para este estudo, os ramnolipídeos foram produzidos e caracterizados, enquanto que o surfactante comercial, o Ultrasperse II® foi adquirido. O teste de flotação da calcita foi realizado para se obter a inversão da molhabilidade. A análise de tensão interfacial (TI) foi realizada utilizando as variáveis pressão, temperatura e salinidade controladas, a fim de simular as condições ambientais do pós-sal e do pré-sal, assim como também foram analisados projetos de Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). De acordo com os resultados, observou-se que ambos os produtos podem inverter a molhabilidade e tornam-se mais eficazes nas condições ambientais dos reservatórios do pós-sal e do pré-sal. No entanto, os ramnolipídeos apresentam melhor potencial de uso, uma vez que foram mais efetivos quando comparados ao surfactante comercial, obtendo menores valores de tensão interfacial e maiores porcentagens no teste de inversão da molhabilidade, utilizando menores concentrações do produto.

Palavras-chave: MEOR; biossurfactantes; ramnolipídeos; inversão da molhabilidade.

Abstract of Undergraduate Project presented to POLI/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Petroleum Engineering.

Study of rhamnolipids in pre and post salt conditions for application in MEOR-
ex situ

Alan Magalhães Duarte

August/2018

Advisors: Ilson Paranhos Pasqualino / Lívia Vieira Araujo de Castilho

Course: Petroleum Engineering

Abstract:

The aim of this work was to compare the efficiency of the rhamnolipid produced from the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* (INCQS 4046), that is, a biosurfactant (BS) of microbial origin and a commercial surfactant under the post-salt and pre-salt conditions, in order to evaluate their potential use for EOR (Enhanced Oil Recovery). For this study, the rhamnolipids were produced and characterized, while the commercial surfactant, Ultrasperse II® was purchased. The calcite flotation test was performed to reverse wettability. Interfacial tension (IFT) analysis was performed using the controlled pressure, temperature and salinity variables to simulate post-salt and pre-salt environmental conditions, therefore Central Composite Rotational Designs (CCRD) was also analyzed. According to the results, it was observed that both products can reverse the wettability and become more effective under environmental conditions in the post-salt and pre-salt reservoirs. However, the rhamnolipids present better potential of use, since they were more effective when compared to the commercial surfactant, obtaining lower values of interfacial tension and greater percentages to reverse wettability, using smaller concentrations of product.

Keywords: MEOR; biosurfactants; rhamnolipids; wettability reversal.

Sumário

1	Introdução	13
2	Revisão Bibliográfica	15
2.1	Surfactantes	15
2.1.1	Propriedades dos surfactantes	18
2.2	Biossurfactantes	24
2.3	Glicolípídeos	27
2.4	Vantagens e desvantagens dos biossurfactantes em relação aos surfactantes comerciais	29
2.5	Aplicações Industriais	31
2.5.1	Recuperação Melhorada de Petróleo (EOR)	33
3	Objetivos	35
3.1	Objetivos Gerais	35
3.2	Objetivos Específicos	35
4	Materiais e Métodos	36
4.1	Micro-organismos e meios de cultivo	36
4.2	Água do mar sintética	36
4.3	Produção e quantificação dos ramnolípídeos	37
4.4	Caracterização físico-química dos surfactantes	39
4.4.1	Tensão Superficial (TS) e Tensão Interfacial (TI)	39
4.4.2	Concentração Micelar Crítica (CMC)	40
4.4.3	Índice de Emulsificação	40
4.4.4	Oil Displacement	41
4.4.5	Balanco Hidrofílico-Lipofílico	41
4.5	Inversão da molhabilidade	43
4.6	Simulação das condições de reservatório	44
5	Resultados e Discussão	46
5.1	Caracterização físico-química dos surfactantes	46
5.2	Inversão da Molhabilidade	53
5.3	Simulação	55
5.3.1	Em condições de Pós-Sal	56
5.3.2	Em condições de Pré-Sal	64
5.3.3	Resultados	73
6	Conclusão Final	74

7	Perspectivas Futuras	75
8	Referências Bibliográficas	76

Lista de Figuras

Figura 2.1.1 Comportamento de um surfactante em solução aquosa. Fonte: (RAUPP, 2004). ..	16
Figura 2.1.2 Tipos de agregados supramoleculares formados por monômeros a partir do meio em que estão presentes. Adaptado de (MEDINA et al., 2017).....	17
Figura 2.1.3 Propriedade de detergência do surfactante em uso doméstico. Fonte: (acesso em 31-08-2018).....	18
Figura 2.1.4 Dispersão do material particulado a partir do aumento da concentração de surfactante no meio (CUI et al., 2017a).	20
Figura 2.1.5. Representação do sistema diesel + água + surfactante antes da agitação e do sistema diesel + água + surfactante após a agitação. Fonte: Laboratório de Tecnologia Submarina (LTS).....	21
Figura 2.1.6 Redução da concentração de espuma em função do tempo. Adaptado de (VARADE et al., 2011).....	21
Figura 2.1.7 Representação da gota de fluido com elevada tensão superficial e com reduzida tensão superficial, respectivamente. Fonte: Laboratório de Biotecnologia Microbiana (LaBiM).	22
Figura 2.2.1 Estruturas químicas de alguns biossurfactantes. Fonte: (NITSCHKE; PASTORE, 2002b).	26
Figura 2.3.1 Representação estrutural do mono e do di-ramnolípídeo (KRONEMBERGER et al., 2008).....	27
Figura 4.6.1 Goniômetro Krüss DSA 100 (Modelo: OF 3210) acoplado ao acessório PD-E1700-LL (Eurotechnika) conectado ao computador.	44
Figura 5.1.1 Cinética da <i>P. aeruginosa</i> INCQS 4046 apresentando consumo de glicerol, produção de biomassa e ramnolípídeos, tensão superficial e CMC ao longo do tempo de fermentação.	48
Figura 5.3.1 Superfície de resposta da tensão interfacial do ramnolípídeo contra o petróleo médio na pressão de 4.000 psi.....	59
Figura. 5.3.2 Curva de resposta de superfície para tensão interfacial do ramnolípídeo frente a um óleo leve sob condições de reservatório pós-sal.....	63
Figura 5.3.3 Curva de resposta de superfície para tensão interfacial do US frente a um óleo médio sob condições de pré-sal.....	66
Figura 5.3.4 Superfície de resposta da tensão interfacial dos ramnolípídeos INCQS 4046 contra o petróleo médio para a pressão de 7.000 psi.....	67
Figura 5.3.5 Curva de resposta de superfície para tensão interfacial do US em óleo leve sob condições de pré-sal (7.000 psi).....	70
Figura 5.3.6 Curva de resposta de superfície para tensão interfacial do ramnolípídeo em óleo leve sob condições de pré-sal (7.000 psi).....	71

Lista de Tabelas

Tabela 2.5.1 Classificação, divisão e aplicação dos métodos de recuperação de óleo.....	33
Tabela 4.2.1 Composição da água do mar sintética em porcentagem de sais.	36
Tabela 4.3.1 Composição química dos ramnolipídeos produzidos por <i>P. aeruginosa</i> INCQS 4046 (Fonte: LaBiM, Dados ainda não publicados, 2018).....	38
Tabela 4.6.1 Níveis das variáveis de DCCR e os respectivos valores de temperatura (T), pressão (P) e salinidade (S).	45
Tabela 5.1.1 Valores de CMC e tensão superficial dos surfactantes estudados em diferentes temperaturas.	49
Tabela 5.2.1 Inversão de molhabilidade (% ww) em cada concentração de surfactante (ppm)..	53
Tabela 5.3.1 Matriz experimental com valores de tensão interfacial do Ultrasperse e dos ramnolipídeos nas condições de pós-sal com óleo médio.	56
Tabela 5.3.2 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o US contra o petróleo médio em condições de pós-sal.....	57
Tabela 5.3.3 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para os ramnolipídeos do INCQS 4046 contra o petróleo médio em condições de pós-sal.....	58
Tabela 5.3.4 Matriz experimental com valores de TI do US e dos ramnolipídeos nas condições de pós-sal com óleo leve.	60
Tabela 5.3.5 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o US contra o petróleo leve em condições de pós-sal.....	61
Tabela 5.3.6 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o INCQS 4046 contra o petróleo leve em condições de pós-sal.	62
Tabela 5.3.7 Matriz experimental com valores de TI do INCQS 4046 e do US nas condições de pré-sal com óleo médio.	64
Tabela 5.3.8 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o US contra o petróleo médio em condições de pré-sal.	65
Tabela 5.3.9 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para os ramnolipídeos INCQS 4046 contra o petróleo médio em condições de pré-sal.	66
Tabela 5.3.10 Matriz experimental com valores de TI do INCQS 4046 e do US nas condições de pré-sal com óleo leve.....	68
Tabela 5.3.11 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o Ultrasperse contra o petróleo leve em condições de pré-sal.....	69
Tabela 5.3.12 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o ramnolipídeo INCQS 4046 contra o petróleo leve em condições representativas do pré-sal.....	70
Tabela 5.3.13 Valores de tensão interfacial obtidos nas análises de simulação do reservatório.	73

Lista de Siglas e abreviaturas

BS – Biossurfactante;

US – Ultrasperse;

CENPES – Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Américo Miguez de Mello;

CLP – Controlador Lógico Processual;

CMC – Concentração Micelar Crítica;

DCCR – Delineamento Composto Central Rotacional;

EOR – Recuperação melhorada do petróleo, do inglês *Enhanced Oil Recovery*;

FR – Fator de Recuperação;

INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde;

LaBiM – Laboratório de Biotecnologia Microbiana;

LTS – Laboratório de Tecnologia Submarina;

MEOR – Recuperação melhorada do petróleo por microrganismos, do inglês *Microbial Enhanced Oil Recovery*;

TI – Tensão interfacial (mN/m);

TS – Tensão superficial (mN/m);

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro;

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), do inglês High Performance Liquid Chromatography

LB – Luria Bertani

E₂₄ – Índice de Emulsificação

OD – Oil Displacement

HLB – Balanço Hidrofílico-Lipofílico

HLD – Desvio Hidrofílico-Lipofílico

IM – Inversão de Molhabilidade

1 Introdução

Os surfactantes químicos são comumente utilizados como uma estratégia para a chamada Recuperação Melhorada de Petróleo (EOR), a qual é uma importante tecnologia de recuperação terciária que tem por finalidade recuperar o óleo dos reservatórios após a aplicação dos métodos primário e secundário de recuperação de óleo (BANAT; MAKKAR; CAMEOTRA, 2000).

Os surfactantes diminuem a tensão interfacial entre o óleo e a rocha (TI), reduzindo as forças capilares, as quais previnem o movimento do óleo através dos poros destes minerais (BANAT, 1995). Este evento proporcionado pelos surfactantes acaba por inverter a molhabilidade da rocha, tornando-a molhada pela água ao invés de molhada pelo óleo, otimizando assim a recuperação de óleo (WILLIAM A. GODDARD III et al., 2005). Além disso, os surfactantes também auxiliam na emulsificação do óleo e na quebra dos filmes de óleo das rochas (BANAT, 1995).

Uma alternativa promissora em relação aos surfactantes químicos é a utilização de biosurfactantes (BS), que são compostos tensoativos de origem biológica (MULLIGAN, 2005). Os mesmos apresentam uma maior biodegradabilidade, menor toxicidade e podem ser aplicados em concentrações mais baixas, devido aos seus baixos valores de concentração micelar crítica (CMC) e tensão interfacial (TI). Geralmente também apresentam uma maior estabilidade em pH extremo, temperatura e concentrações de sal (BOGNOLO, 1999; DE ARAUJO et al., 2016).

Os biosurfactantes podem ser utilizados na recuperação de óleo por método microbiano (MEOR) *ex situ*, no qual os compostos são produzidos por microrganismos fora do reservatório e, posteriormente, estes produtos são injetados no reservatório (BANAT; MAKKAR; CAMEOTRA, 2000).

Recentemente, pesquisas têm sido intensificadas para a recuperação melhorada de óleo (EOR) em reservatórios localizados nas camadas do pós-sal e do pré-sal, onde as condições variam em salinidade, pressão e temperatura.

Até agora, nenhum trabalho foi publicado relacionado ao estudo da tensão interfacial de biosurfactantes sob condições ambientais do pós-sal e do pré-sal (pressão, temperatura e salinidade simultaneamente).

O objetivo deste trabalho foi verificar o potencial EOR de um biossurfactante do tipo ramnolípídico em comparação a um surfactante comercial, estudando sua capacidade de inverter a molhabilidade de rochas molhadas pelo óleo e comparar suas eficiências através das medidas de tensão interfacial sob as condições de reservatórios do pós-sal e do pré-sal.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Surfactantes

Surfactantes são compostos que, em função de sua natureza tensoativa, apresentam como principal característica uma configuração molecular anfipática, ou seja, possui um grupamento polar (ou hidrofílico) e um grupamento apolar (ou hidrofóbico) em sua estrutura (DESAI; BANAT, 1997). A porção apolar de um tensoativo, normalmente tem sua origem em uma cadeia carbônica que não forma polos de concentração de cargas sendo, portanto, a parte da molécula que interage com hidrocarbonetos, óleos e gorduras. Quanto à porção polar de um tensoativo é formada por átomos que apresentam concentração de carga com formação de polos positivos ou negativos sendo, portanto, a parte da molécula que interage com a água, devido à atração eletrostática entre as cargas (DALVIN, 2011).

A fim de obter a eficiência de um surfactante, as propriedades interfaciais da molécula e a interação desta com a água devem ser analisadas. Como exemplos destas propriedades temos a solubilidade, concentração micelar crítica (CMC), tensão superficial (TS) e a tensão interfacial (TI). A tensão superficial e interfacial consiste em um fenômeno físico que ocorre a partir das forças e da coesão entre moléculas, agindo no limite entre duas fases de uma mistura. Quando este limite encontra-se entre um líquido e um gás, as forças atrativas são conhecidas como tensão superficial. Caso as forças atrativas estejam entre um sólido e um líquido ou entre dois líquidos imiscíveis, são chamadas de tensão interfacial (MARMUR, 2017). Os surfactantes atuam de modo a reduzir a TS e a TI a partir da formação das micelas, que por sua vez são geradas a partir da concentração de surfactante presente no meio (MULLIGAN, 2005).

A CMC consiste no valor mínimo necessário para que ocorra a formação de micelas; logo, quanto menor o valor da CMC de um surfactante, maior será sua eficiência, já que uma menor concentração deste será suficiente para diminuir a TS e a TI. Fatores como pH, temperatura e força iônica influenciam de forma relevante no valor da CMC. Em um meio com duas fases imiscíveis, quanto maior a concentração dos surfactantes, menores serão os valores de TS e TI e maior será a solubilidade dos componentes da mistura, até que se atinja o valor da CMC. A partir deste momento, verifica-se que o acréscimo de surfactante ao meio não será mais eficiente na redução da TS e TI, em função da saturação sofrida pela interface, em decorrência da distribuição das moléculas do surfactante na superfície. Como consequência desta saturação, os monômeros passam a se associar, formando os agregados de dimensões coloidais, ou seja, as micelas (FENDLER; TUNDO, 1984). O gráfico apresentado na Figura 2.1.1 a seguir ilustra todo o comportamento descrito acima.

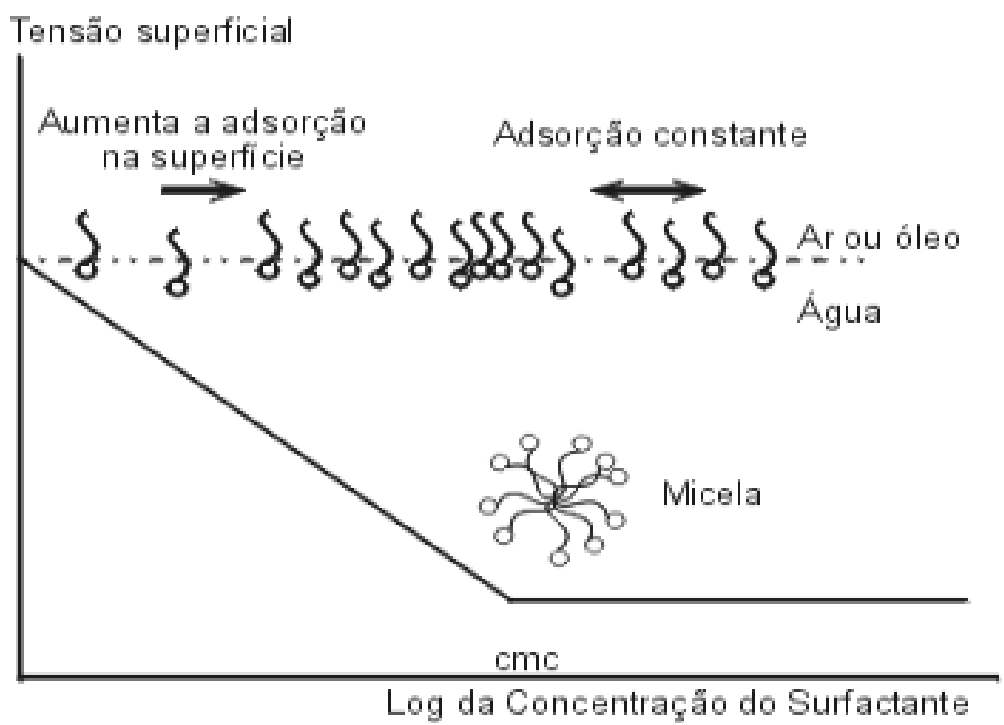


Figura 2.1.1 Comportamento de um surfactante em solução aquosa. Fonte: (RAUPP, 2004).

A característica anfipática das moléculas permite que os surfactantes se organizem na interface entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade e ligações de hidrogênio tais como interfaces óleo / água ou ar / água (DESAI; BANAT, 1997). Em função de sua concentração, estas moléculas formam agregados supramoleculares ordenados, podendo gerar diversos tipos de micelas, vesículas e até mesmo microemulsões (FIECHTER, 1992). A Figura 2.1.2 abaixo apresenta alguns tipos de agregados supramoleculares (MEDINA et al., 2017).

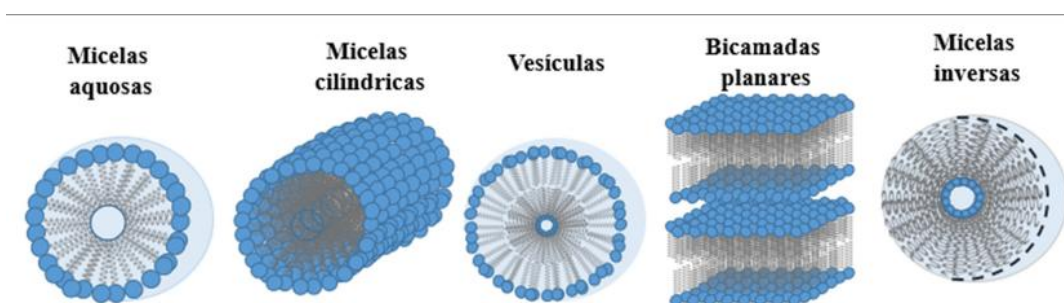


Figura 2.1.2 Tipos de agregados supramoleculares formados por monômeros a partir do meio em que estão presentes. Adaptado de (MEDINA et al., 2017).

Em solução aquosa, devido à presença dos grupamentos polares e apolares, os surfactantes, já sob a forma de micelas, se organizam de modo a promover a melhor afinidade entre as respectivas fases, ou seja, a porção hidrofílica (cabeça) mantém contato com a água e a porção hidrofóbica (cauda) encontra-se no interior da micela já que não apresenta afinidade pela água. Deste modo, o surfactante orienta o grupamento hidrofóbico para a superfície e o grupamento hidrofílico para a água, tornando a superfície hidrofílica e diminuindo a tensão interfacial entre a superfície e a água (MACHADO, 2005).

Os surfactantes apresentam a habilidade de reduzir a TS e a TI entre fases e aumentar a solubilidade dos componentes de uma mistura. Estas características originam-se do equilíbrio existente entre as porções hidrofílicas e hidrofóbicas presentes em uma mesma molécula e que acabam por proporcionar diversas propriedades aos surfactantes (KRONEMBERGER et al., 2008). Dentre elas, destacam-se: detergência, emulsificação, capacidade espumante e capacidade molhante. Estas propriedades tornam os surfactantes produtos químicos mais versáteis e apropriados para diversas aplicações industriais (DESAI; BANAT, 1997; MULLIGAN, 2005).

2.1.1 Propriedades dos surfactantes

Os tensoativos desempenham um importante papel na prática de limpeza devido à sua propriedade de detergência. Quando a água é utilizada como solvente, todas as substâncias com propriedades polares acabam então por serem carregadas. Porém, substâncias que apresentam propriedades apolares como, por exemplo, ceras, óleos e gorduras, não são carregadas e precisam ser limpas. Como a utilização de um solvente apolar é, na maioria das vezes, pouco viável, utiliza-se, portanto, um solvente polar. Em função da característica anfifílica (ou anfipática) dos tensoativos, as moléculas proporcionam uma estabilidade na mistura entre a sujeira apolar presente e a água, facilitando o processo de limpeza do local (Figura 2.1.3).



Figura 2.1.3 Propriedade de detergência do surfactante em uso doméstico. Fonte: (acesso em 31-08-2018)

Emulsão consiste na mistura de dois líquidos imiscíveis, em que um destes, sob a forma de partículas, está disperso no outro e mantém-se estabilizado pela ação de agentes emulsificantes. Os agentes emulsificantes são compostos anfifílicos que apresentam afinidade tanto pelo óleo quanto pela água e tendem a migrar para a interface óleo-água, promovendo o aumento da estabilidade das emulsões. Durante o processo de produção e movimentação dos petróleos é comum o surgimento de dois tipos diferentes de emulsões: a emulsão de óleo em água e a emulsão de água em óleo (ARAÚJO, 2004).

Microemulsões são finas dispersões, termodinamicamente estáveis, constituídas por um solvente polar (geralmente fase aquosa), um solvente apolar (fase orgânica) e tensoativo (se não iônicos) ou tensoativo mais cotensoativo (para tensoativos iônicos). O cotensoativo é uma molécula não iônica, associada ao tensoativo iônico, cuja função é ajudar na estabilização do sistema (ARAÚJO, 2004).

As principais características da microemulsão estão relacionadas com a sua grande estabilidade, sua baixa tensão interfacial e seu alto poder de solubilização de substâncias tanto aquosas como oleosas. Estas propriedades estão relacionadas às moléculas anfifílicas que compõem a formação das micelas (ARAÚJO, 2004). Dependendo do tamanho da gota, as emulsões também podem ser chamadas de microemulsões. As microemulsões diferem das emulsões devido ao seu aspecto transparente e pelo fato de possuírem grande estabilidade termodinâmica (ARAÚJO, 2004).

A ocorrência da formação de uma emulsão da sujidade oleosa em água e a estabilização desta como resultado final do efeito da detergência, é muito importante para garantir um bom mecanismo de detergência, a fim de evitar que haja permanência de alguma sujeira. Além disso, a estabilidade da emulsão deve ser eficiente para manter a sujidade suspensa em água até o momento do enxague, onde são retiradas as substâncias solúveis em água e as partículas de sujidades suspensas (DALTIM, 2011). A Figura 2.1.4 ilustra a prática da detergência como apresentado a seguir.

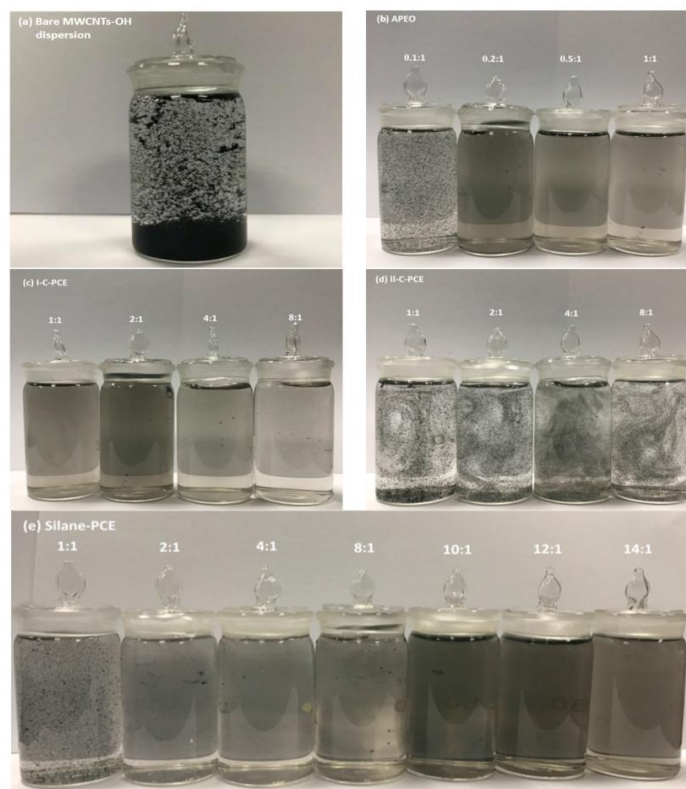


Figura 2.1.4 Dispersão do material particulado a partir do aumento da concentração de surfactante no meio (CUI et al., 2017a).

A propriedade emulsificante consiste em um sistema heterogêneo onde um fluido imiscível, sob a forma de gotículas, está completamente difuso em outro fluido. Na tentativa de misturar uma solução com dois fluidos, considerando, por exemplo, água como fase contínua e óleo como fase dispersa, por meio de agitação, haverá inicialmente a formação de gotículas difusas de óleo em água e, posteriormente, haverá a separação de ambas as fases novamente. Entretanto, caso seja adicionado um surfactante ao sistema, após a agitação, este irá se organizar ao novo sistema e, em função de suas propriedades tensoativas, irá se direcionar para as novas superfícies óleo-água geradas e formará camadas sobre cada uma das gotículas de óleo formadas, promovendo a redução da tensão superficial na interface das duas fases imiscíveis e permitindo a mistura entre os fluidos do sistema e a formação de emulsão (DALVIN, 2011; SANTOS et al., 2002). A Figura 2.1.5 apresenta, após agitação do sistema, a propriedade emulsificante entre a água e o diesel na presença de um surfactante.



Figura 2.1.5. Representação do sistema diesel + água + surfactante antes da agitação e do sistema diesel + água + surfactante após a agitação. Fonte: Laboratório de Tecnologia Submarina (LTS).

O processo de formação de espuma ocorre de forma equivalente ao processo de emulsificação. Pequenas bolhas de ar podem entrar numa solução que tenha sofrido agitação e a adição de um tensoativo. Essas bolhas de ar formam novas superfícies líquido-ar e são cobertas pelo tensoativo que se desloca para essa nova superfície gerada. As bolhas de ar se deslocam rapidamente para a parte superior da solução, pois passam a apresentar uma densidade muito menor que a da água quando recobertas pelo tensoativo. Ao longo deste processo, a formação de bolhas de ar ocorre continuamente e as novas bolhas migram para a parte superior da solução e empurram as bolhas mais antigas para cima. A estabilidade e a densidade da camada de espuma dependem da carga do tensoativo que as deu origem (DALVIN, 2011; PUGH, 1996). A Figura 2.1.6 abaixo ilustra a redução da concentração de espuma em função do tempo.

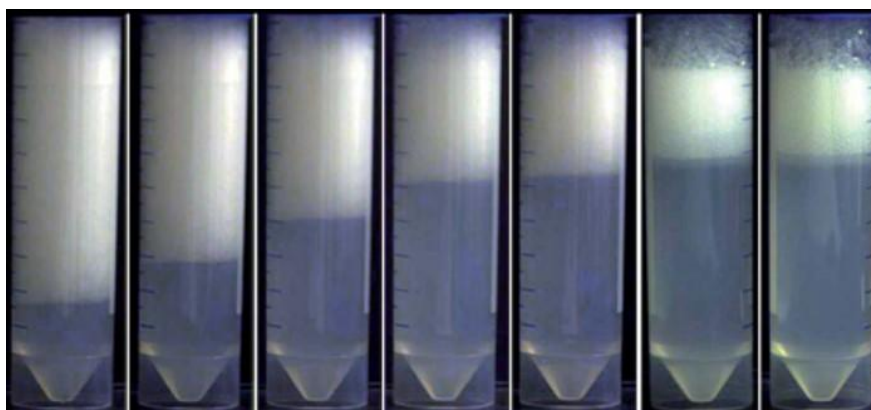


Figura 2.1.6 Redução da concentração de espuma em função do tempo. Adaptado de (VARADE et al., 2011).

No processo de formação de espuma, parte do tensoativo fica ligada as bolhas de ar, reduzindo a concentração deste na solução, não apresentando uma vantagem para o processo. Em alguns processos industriais, a formação de espuma não é desejável, pois reduz a capacidade dos equipamentos, além de diminuir a concentração do tensoativo no meio. Apesar da formação de espuma parecer desejável, este desempenha um papel apenas estético em função da associação que os consumidores fazem desta com limpeza. Porém, esta dificulta a limpeza, pois necessita de mais enxague (MYERS, 1999; PUGH, 1996). Existem, entretanto, processos em que a espuma é desejável, como por exemplo, processo de bioflotação para remoção de metais pesados (MARIANA; KNUST, 1997), utilização de espuma como mecanismo de controle da mobilidade em rochas reservatório (ROMERO; FEJOLI, 2015), etc.

O termo molhabilidade consiste no quanto uma gota de líquido é capaz de se espalhar sobre uma superfície, molhando-a. A capacidade de um líquido em ser molhante ou não sobre uma superfície está relacionada à sua tensão superficial, ao ângulo de contato existente entre a gota do fluido e a superfície e a área superficial molhada. Compostos que apresentam elevada tensão superficial, como por exemplo, a água, assumem o formato de gotas esféricas quando sobre uma superfície, molhando-as pouco, devido a grande força de atração entre suas moléculas, que tendem a se manter juntas. Quando a tensão superficial é menor, o ângulo de contato entre a gota do fluido e a superfície diminui e o líquido se espalha mais sobre a superfície, assumindo uma forma equivalente a de uma lente, demonstrando que o ângulo de contato formado com a superfície sólida depende da tensão superficial do líquido (DALVIN, 2011; GODDARD, 1989). A Figura 2.1.7 apresentada abaixo ilustra primeiramente o evento onde o fluido apresenta elevada tensão superficial e, posteriormente, o evento representativo de uma menor tensão superficial.

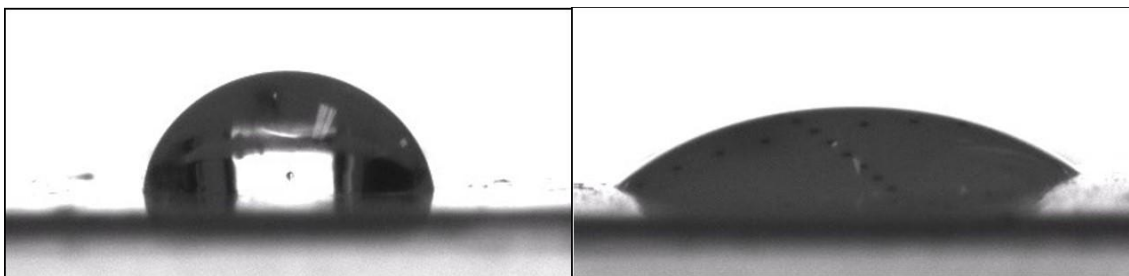


Figura 2.1.7 Representação da gota de fluido com elevada tensão superficial e com reduzida tensão superficial, respectivamente. Fonte: Laboratório de Biotecnologia Microbiana (LaBiM).

Quando o ângulo de contato for zero a superfície sólida será completamente molhada pelo líquido e, quando o ângulo de contato for maior que zero, a superfície sólida será parcialmente molhada pelo líquido. Estas configurações mostram que a redução da tensão superficial implica na diminuição do ângulo de contato e no aumento da área da superfície molhada (DALVIN, 2011; GODDARD, 1989).

Diversos setores da indústria têm utilizado moléculas com propriedades tensoativas. Estas moléculas podem ser encontradas em produtos farmacêuticos, cosméticos, produtos de limpeza, componentes de indústria de lavanderia e muitos outros. A procura por estes compostos tem crescido consideravelmente nos últimos anos, principalmente na indústria do petróleo (DE ARAUJO et al., 2016; NITSCHKE; PASTORE, 2002a).

Cabe ressaltar que, existem diversos tipos de surfactantes. Atualmente, a grande maioria dos tensoativos utilizados são surfactantes de origem sintética produzidos a partir de derivados do petróleo. Porém, existem também os surfactantes naturais que tem sua produção a partir de plantas, como por exemplo, as saponinas; a partir de micro-organismos, como os glicolípídeos e a partir de organismos vivos, como por exemplo, os sais biliares.

Em função da criação de novas legislações que visam o controle e preservação do meio ambiente, o crescimento da preocupação ambiental dos consumidores e o apelo de um desenvolvimento sustentável a nível internacional, muitas empresas que fazem uso dos surfactantes em seus produtos tem procurado substituí-los pelos chamados biossurfactantes, que tem sido vistos como nova fonte alternativa frente aos produtos sintéticos que são comercializados (DESAI; BANAT, 1997; NITSCHKE; PASTORE, 2002a).

2.2 Biossurfactantes

Biossurfactantes são moléculas com propriedades tensoativas de origem microbiana e constituem uma das principais classes de surfactantes naturais. São subprodutos metabólicos de bactérias, fungos filamentosos e leveduras, podendo ser produzidos a partir de diversos substratos como carboidratos, óleos, alcanos e resíduos. São classificados de acordo com a sua composição química e sua origem microbiana, diferentemente da classificação dos surfactantes sintetizados quimicamente que ocorre em função de seus grupos polares (DESAI; BANAT, 1997; MULLIGAN, 2005).

Glicolípídeos, lipopeptídeos e fosfolípídeos compõem as classes de biossurfactantes de baixa massa molar, enquanto que os biossurfactantes poliméricos e os biossurfactantes particulados compõem as classes com alta massa molar (DESAI; BANAT, 1997). Os principais micro-organismos produtores de biossurfactantes são as bactérias (NITSCHKE; COSTA, 2007). Os principais micro-organismos produtores de biossurfactantes e sua classificação encontram-se a seguir no Quadro 2.2.1.

Quadro 2.2.1 Principais classes de biossurfactantes e micro-organismos envolvidos. Fonte: (NITSCHKE; PASTORE, 2002).

Tipos de Biossurfactantes	Micro-organismos produtores
Glicolípídeos	
Ramnilipídios	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Soforolipídios	<i>Torulopsis bombicola, T.apicola</i>
Trehalolipídios	<i>Rhodococcus erythropolis,</i> <i>Mycobacterium SP.</i>
Lipopeptídios e lipoproteínas	
Peptídio-lipídio	<i>Bacillus licheniformis</i>
Viscosina	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Serrawetina	<i>Serratia marcescens</i>
Surfactina	<i>Bacillus subtilis</i>
Subtilisina	<i>Bacillus subtilis</i>
Gramicidina	<i>Bacillus brevis</i>
Polimixina	<i>Bacillus polymyxa</i>
Ácidos graxos, lipídios neutros e fosfolípídeos	
Ácidos graxos	<i>Corynebacterium lepus</i>
Lipídios neutros	<i>Nocardia erythropolis</i>
Fosfolípídeos	<i>Thiobacillus thiooxidans</i>
Surfactantes poliméricos	
Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Biodispersan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
Carboidrato-lipídio-proteína	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Manana-lipídios-proteína	<i>Candida tropicalis</i>
Surfactantes particulados	
Vesículas	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Células	Várias bactérias

Uma estrutura em comum apresentada pelos biossurfactantes é que sua porção lipofílica (ou hidrofóbica ou apolar) é composta por uma cadeia hidrocarbonada com um ou mais ácidos graxos que podem ser insaturados, saturados, hidroxilados ou ramificados, ligados à sua porção hidrofílica (ou polar) que é solúvel em água e pode conter um éster, grupo hidroxil, carboxilato, fosfato ou carboidrato. Grande parte dos biossurfactantes são neutros ou carregados negativamente (aniônicos), podendo variar de pequenos ácidos graxos até grandes polímeros (NITSCHKE; PASTORE, 2002a). A carga negativa dos biossurfactantes aniônicos é em função de um grupamento carboxílico ou fosfato ou sulfato, enquanto que a carga positiva de um pequeno grupo de biossurfactantes catiônicos é devido a um grupamento amino (DESAI; BANAT, 1997).

O pH exerce influência sobre a formação e estabilidade das emulsões. Cargas negativas na superfície das micelas podem atrair contra-íons (Na^+). Isto poderia levar a um aumento das forças repulsivas de dupla camada eletrostática entre as micelas e, portanto, uma redução na tendência a agregar, favorecendo a estabilidade da emulsão. O biossurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* pode ser usado sob condições extremas de pH em processos de limpeza, assim como pode ser aplicado em processos que envolvem atividade emulsificante em pH 5 ou superior, como por exemplo em aplicações cosméticas e usos dermatológicos (LOVAGLIO et al., 2011). A Figura 2.2.1 a seguir ilustra alguns exemplos de estruturas químicas de biossurfactantes.

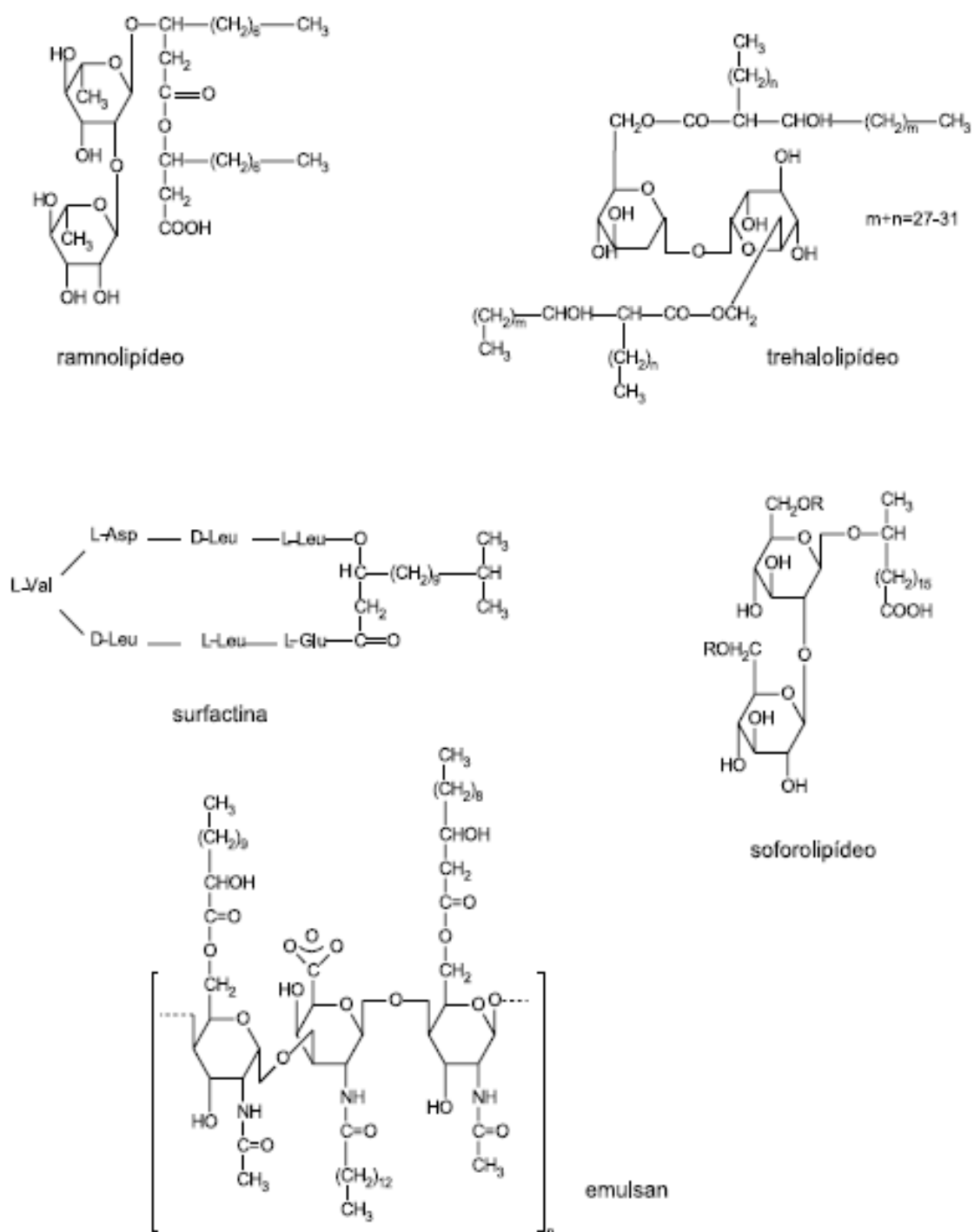


Figura 2.2.1 Estruturas químicas de alguns biosurfactantes. Fonte: (NITSCHKE; PASTORE, 2002b).

2.3 Glicolipídeos

Dentre os diversos tipos de glicolipídeos existentes, os ramnolipídeos são os mais bem estudados. Quando em solução, a maioria das espécies de ramnolipídeos se apresenta carregada negativamente (aniônica) e possuem uma ou duas moléculas de ramnose ligadas a uma ou duas moléculas de ácido β -hidroxidecanóico (ácido caprílico). A primeira descrição da produção dos glicolipídeos contendo ramnose foi feita por Jarvis e Johnson (1949) (ABALOS et al., 2001).

Os principais glicolipídeos produzidos por *Pseudomonas aeruginosa* são o L-ramnosil-L-ramnosil- β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato ($\text{Rha}_2\text{C}_{10}\text{C}_{10}$) e o L-ramnosil- β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato ($\text{RhaC}_{10}\text{C}_{10}$). Porém, são relatados na literatura vários outros tipos de ramnolipídeos, como exemplo: um ácido- β -hidroxidecanóico com uma ou duas unidades de ramnose, metil éster derivados dos L-ramnosil-L-ramnosil- β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato e L-ramnosil- β -hidroxidecanoil- β -hidroxidecanoato e ramnolipídeos com cadeias de ácidos graxos alternativos (DESAI; BANAT, 1997; MULLIGAN, 2005).

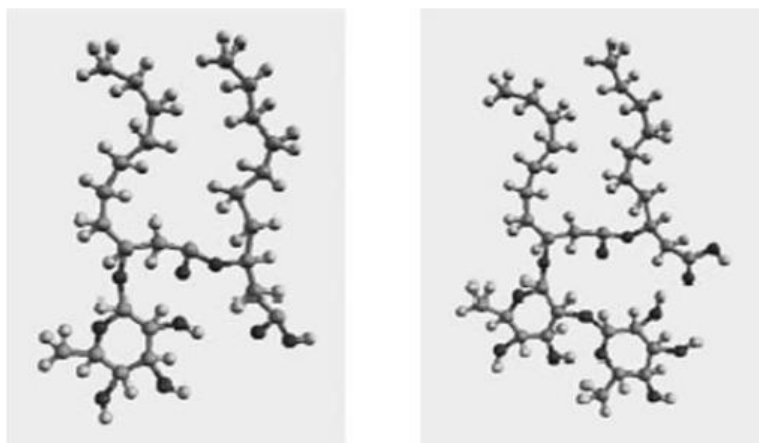


Figura 2.3.1 Representação estrutural do mono e do di-ramnolipídeo (KRONEMBERGER et al., 2008).

Os ramnolipídeos podem ser produzidos pela *Pseudomonas aeruginosa* a partir de diversos substratos, incluindo succinato, piruvato, citrato, frutose, alcanos C11 e C12, glicerol, glicose, óleo de oliva e manitol. A composição e o rendimento da produção dependem, do modo de condução do bioprocessamento, do tipo de biorreator, da composição nutricional, do pH, do substrato e da temperatura utilizada (MULLIGAN, 2005).

Em convênio com o CENPES/Petrobras, o Laboratório de Biotecnologia Microbiana (LaBiM) da UFRJ vem desenvolvendo, desde o ano 2000, diversos trabalhos de produção de ramnolipídeos utilizando uma cepa de *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 4046.

O LaBiM (DBq/IQ/UFRJ) possui vasta experiência na área de pesquisa em biossurfactantes, desde a elaboração da produção até a aplicação em diversos ramos tecnológicos. Em 1998, esta linha de pesquisa foi iniciada com a produção de ramnolipídeos e segue até hoje com otimização da produção, aproveitamento de resíduos agroindustriais para a produção de biossurfactantes, estudo de novas linhagens produtoras, produção de outros biossurfactantes como a surfactina, além do estudo de diversas aplicações destas biomoléculas, desde remoção de poluentes do solo, tratamento anaeróbico de resíduos industriais, inibição do crescimento de biofilmes, atividade antimicrobiana, dentre outras.

Além de *shakers* para produção de biossurfactantes em escala de bancada e fermentadores com sistema de oxigenação dispersiva e não dispersiva (membranas poliméricas), o laboratório consta de uma unidade piloto de produção de biossurfactantes em funcionamento. Esta planta possui sistema de oxigenação não dispersiva, além de um biorreator de 200L, sistema de microfiltração e osmose inversa. Toda a planta é controlada por um CLP (Controlador Lógico Processual), permitindo inclusive acesso remoto.

Os ramnolipídeos produzidos por *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 4046 em meio contendo 3% glicerol e 1,45g/L de nitrato de sódio, como fontes de carbono e nitrogênio, respectivamente, diminuíram a tensão superficial para 26,9 D/cm (SANTA ANNA et al., 2002). Além disso, os ramnolipídeos também emulsificam alcanos, estimulam o crescimento de *P. aeruginosa* em hexadecano (DESAI; BANAT, 1997) e apresentam excelentes resultados na lavagem de solos impactados com petróleo (SANTA ANA et al., 2007).

2.4 Vantagens e desvantagens dos biossurfactantes em relação aos surfactantes comerciais

Atualmente, a demanda industrial por surfactantes é alta e, a grande maioria dos surfactantes utilizados comercialmente é produzido quimicamente e são derivados do petróleo. Com o surgimento de novas legislações visando o controle e a preservação do meio ambiente aliada ao aumento do apelo ambiental entre os consumidores, os biossurfactantes vem se apresentando como alternativa promissora para substituição frente aos produtos sintéticos existentes no mercado (NITSCHKE; PASTORE, 2002). Além disso, tem se tornado mais intensa a necessidade de substituição de compostos não biodegradáveis, atrelada ao aumento de requerimento de especificidade dos produtos, tanto para uma ação mais seletiva quanto para uma atuação mais efetiva (DESAI; BANAT, 1997).

Quando comparado aos surfactantes de origem química, os biossurfactantes apresentam as seguintes vantagens (NITSCHKE; PASTORE, 2002):

Quadro 2.4.1. Comparação entre surfactantes de origem química e biossurfactantes (NITSCHKE; PASTORE, 2002).

Características	Surfactante comercial	Biossurfactante
Biodegradabilidade	Baixa	Alta
Toxicidade	Alta	Baixa
Atividade superficial e interfacial	Menor	Maior
Efetividade e eficiência	Menor	Maior
Tolerância a variações de temperatura, pH e força iônica	Menor	Maior
Valores de CMC	Altos	Baixos
Diversidade química	Pequena	Grande
Aceitabilidade ecológica	Menor	Maior

Apesar das diversas vantagens dos biossurfactantes frente aos surfactantes comerciais, a produção destes compostos ainda não é competitiva do ponto de vista econômico. As principais razões se devem aos altos custos de produção em função da metodologia de bioprocessamento ainda ineficiente, a necessidade de utilização de substratos caros e a baixa produtividade das cepas microbianas (BANAT, 1995; FIECHTER, 1992). Porém, em decorrência dos investimentos em estudos e desenvolvimento de metodologias para escalonamento da produção de biossurfactantes, a tendência é que estes compostos venham a se tornar competitivos economicamente em um futuro não muito distante (KRONEMBERGER et al., 2008).

Em vista de suas principais características, grande versatilidade e variada utilização em aplicações industriais, esses compostos tem apresentado cada vez mais visibilidade e sua produção tem sido alvo de intensos estudos e pesquisas, objetivando o aumento da produtividade das cepas produtoras, concomitantemente a diminuição dos custos de produção (KRONEMBERGER et al., 2008).

2.5 Aplicações Industriais

Conforme mencionado anteriormente, a propriedade tensoativa dos biossurfactantes juntamente com sua versatilidade química que o permite aplicabilidade específica, torna-os utilizáveis em diversos ramos da indústria. Além disso, existem diversas áreas de aplicação onde os biossurfactantes podem ser bons substitutos dos surfactantes químicos. Dentre estas áreas temos a indústria de alimentos, indústria têxtil, indústria de papel e metal, biorremediação, cosméticos, agricultura, lubrificantes, limpeza de tanques de estocagem de óleo e indústrias petroquímicas (DESAI; BANAT, 1997; FIECHTER, 1992).

Como proposta no ramo da agricultura, os biossurfactantes desempenham o papel de agentes de biocontrole para diversas formulações, em especial para pesticidas e herbicidas cujas formulações são hidrofóbicas e necessitam de agentes emulsificantes para serem dispersos em soluções aquosas (ROSENBERG; RON, 1999).

No que diz respeito à biorremediação, consiste no processo de transformação enzimática em compostos menos tóxicos ou na destoxificação e degradação de poluentes tóxicos por meio da assimilação microbiana (REIS et al., 2013). O processo de biorremediação das águas e do solo é realizado em função da rápida degradação de óleos por micro-organismos através do aumento da interação superficial entre água e óleo promovido pelos biossurfactantes. A capacidade dos biossurfactantes de emulsificar e dispersar hidrocarbonetos em água aumenta a degradação destes compostos no ambiente. O processo de biorremediação consiste num dos métodos mais eficientes para remoção de poluentes, uma vez que micro-organismos degradadores estão presentes nos oceanos (NITSCHKE; PASTORE, 2002b).

Concernente à limpeza de tanques de estocagem de óleo, a propriedade emulsificante dos biossurfactantes é de grande utilidade, pois atua como detergente na limpeza destes tanques, recuperando os hidrocarbonetos por meio de emulsões criadas entre o biossurfactante e o lodo emulsificado (BANAT et al., 1991; LILLIENBERG et al., 1992). Algumas das aplicações de surfactantes ou biossurfactantes estão representadas no Quadro 2.5.1 abaixo (SINGH; VAN HAMME; WARD, 2007).

Quadro 2.5.1 Ramos industriais para biossurfactante ou surfactantes. Adaptado de (SINGH; VAN HAMME; WARD, 2007).

Ramo da indústria	Aplicação	Função do surfactante/biossurfactante
Biológico	Ingrediente funcional	Interação com lipídios, proteínas e carboidratos, agente protetor
	Microbiologia	Comportamento fisiológico como mobilidade celular, comunicação celular
	Farmacêutica	Ação antibacteriana, antifúngica, antiviral, agentes penetrantes e umectantes
Cosmética	Cosméticos	Emulsificantes, agentes de espuma, solubilizadores, umectantes, agentes de limpeza
Alimentos	Alimentos	Emulsificantes e dispersantes
Petróleo	Emulsificação	Emulsificação, solubilização, redução da viscosidade, agente umectante
	Recuperação Melhorada de Petróleo (EOR)	Redução da viscosidade de óleos, recuperação de óleo residual.

Atualmente, apesar das diversas aplicações industriais nas quais os surfactantes podem ser utilizados, temos que o maior mercado para estes compostos é a indústria do petróleo. Embora os biossurfactantes ainda não sejam tão viáveis economicamente, como já foi mencionado, muitos investimentos em estudos e pesquisas têm sido realizados a fim de torná-los possíveis propostas promissoras frente aos surfactantes químicos, já que os biossurfactantes tem despertado grande interesse em função de suas características vantajosas no que se refere à preservação ambiental. No ramo da indústria petrolífera, o uso dos biossurfactantes é especialmente voltado para a extração/produção do petróleo através da redução da tensão superficial entre a rocha e o óleo, redução da tensão interfacial entre o óleo e a água, inversão da molhabilidade, viscosidade do óleo e diversos outros parâmetros, compondo a chamada Recuperação Melhorada de Petróleo (EOR) (NITSCHKE; PASTORE, 2002b; REIS et al., 2013).

2.5.1 Recuperação Melhorada de Petróleo (EOR)

A Recuperação Melhorada de Petróleo (EOR) consiste em uma tecnologia utilizada para extrair o óleo residual que se encontra adsorvido na rocha. Esta tecnologia apresenta diversos métodos a serem aplicados, buscando a extração deste óleo e, conseqüentemente o aumento do Fator de Recuperação (FR) do óleo presente em um reservatório. Esta tecnologia é dividida em Métodos Convencionais de Recuperação e Métodos Especiais de Recuperação (SHENG, 2011).

Os Métodos Convencionais de Recuperação são compostos pelas chamadas Recuperação Primária e Secundária, que tratam respectivamente, da utilização da própria energia do poço para uma produção inicial, ou seja, o uso do gradiente de pressão natural existente entre a superfície e o fundo do poço e a injeção de água ou gás como processo mecânico para promover o deslocamento do óleo. Já os Métodos Especiais de Recuperação, também chamados de Recuperação Terciária de Petróleo, apresentam diferentes métodos que são empregados quando a recuperação primária e secundária não são mais eficientes, visando à retirada do óleo residual e o conseqüente aumento do FR (SHENG, 2011). A classificação mencionada encontra-se apresentada na Tabela 2.5.1 abaixo.

Tabela 2.5.1 Classificação, divisão e aplicação dos métodos de recuperação de óleo.

Classificação	Divisão/Método	Aplicação
Métodos Convencionais de Recuperação	Recuperação Primária	Utilização do gradiente de pressão natural do poço.
	Recuperação Secundária	Injeção de água ou gás para deslocamento do óleo
Métodos Especiais de Recuperação (Recuperação Terciária)	Método Térmico	Aumento da temperatura para reduzir a viscosidade do óleo
	Método Miscível	Uso de fluidos que se misturam com o óleo (CO ₂ , N ₂ ,etc)
	Método Químico	Interação químicas fluido injetado-óleo para deslocamento (injeção de polímeros, etc)
	Método Microbiológico (MEOR)	Uso de micro-organismos para produção de substâncias (biossurfactantes,etc)

Apesar dos diversos métodos apresentados acima, o método microbiano (ou microbiológico) de recuperação de óleo é o de maior interesse nas áreas de pesquisas energéticas nos últimos anos, sendo considerado de melhor trato no que se refere à preocupação ambiental e de seu menor custo operacional. O impacto positivo e significativo da tecnologia MEOR na melhoria da recuperação de petróleo é estabelecido em reservatórios de arenito e carbonato com diferentes características de fluxo implementadas em todo o mundo (SAFDEL et al., 2017).

A MEOR (Microbial Enhanced Oil Recovery) trata-se de uma tecnologia de recuperação terciária do petróleo que faz uso de produtos de seu metabolismo (biossurfactantes) ou micro-organismos para a recuperação de óleo residual (BANAT, 1995). Os micro-organismos produzem polímeros e/ou biossurfactantes que reduzem a tensão superficial óleo-rocha, reduzindo as forças capilares que impedem a movimentação do óleo através dos poros do mineral. Além disso, os biossurfactantes também auxiliam na emulsificação do óleo e na quebra dos filmes de óleo das rochas (BANAT, 1995).

O método microbiano (ou microbiológico) pode ser empregado por meio de duas aplicações, a *in-situ* e a *ex-situ*. A primeira realiza o crescimento microbiano e metabolismo dentro do reservatório, enquanto que este último injeta diretamente os produtos ativos desejados que foram previamente produzidos por micro-organismos (CUI et al., 2017b). O estudo do comportamento de biossurfactante para aplicação em MEOR *ex-situ* foi realizado neste trabalho com o objetivo de verificar a eficiência do biossurfactante em comparação a um surfactante comercial, simulando as condições de temperatura, pressão e salinidade característicos de pós e pré-sal.

3 Objetivos

3.1 Objetivos Gerais

Estudar a eficiência e o desempenho dos ramnolipídeos em condições de pré e pós-sal para aplicação em MEOR-*ex situ* e sua comparação frente a um surfactante comercial.

3.2 Objetivos Específicos

- a. Produzir e quantificar os ramnolipídeos;
- b. Caracterização físico-química dos ramnolipídeos e do surfactante comercial Ultrasperse II[®];
- c. Verificar o potencial de uso para EOR do Ultrasperse II[®] e do ramnolipídeo através do teste de inversão da molhabilidade nas condições de salinidade do pré e pós-sal;
- d. Testar a eficiência dos surfactantes (Ultrasperse II[®] e ramnolipídeo) frente a diferentes tipos de óleo nas condições de temperatura, salinidade e pressão do pré e pós-sal;
- e. Verificar as melhores condições para aplicação do Ultrasperse II[®] e do ramnolipídeo através de análise estatística por Planejamento de Experimentos (Delineamento Composto Central Rotacional - DCCR);
- f. Comparar os resultados obtidos nos testes entre o surfactante comercial e o biossurfactante.

4 Materiais e Métodos

4.1 Micro-organismos e meios de cultivo

O micro-organismo utilizado para a produção dos biossurfactantes foi uma cepa de *Pseudomonas aeruginosa* (ramnolipídeo) INCQS 4046. O mesmo foi estocado em meio LB adicionado de 20% glicerol e mantido em ultrafreezer -80°C até sua utilização.

Todo os meios tiveram seus pH ajustados com auxílio de potenciômetro (Mettler, Toledo) e foram acondicionados em frasco do tipo erlenmeyer. Os meios foram esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos (Primatec, autoclave vertical modelo CS).

4.2 Água do mar sintética

Durante os experimentos foram preparadas diferentes salinidades (35 a 150 g/L) para simular a água do mar seguindo as razões apresentadas na Tabela 4.2.1 abaixo.

Tabela 4.2.1 Composição da água do mar sintética em porcentagem de sais.

Componente	Porcentagem (%)
NaCl	69,9
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	14,8
Na_2SO_4	11,7
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,6
KCl	2,0

4.3 Produção e quantificação dos ramnolipídeos

A produção de ramnolipídeos por *P. aeruginosa* INCQS 4046 foi realizada conforme metodologia descrita por Santos e colaboradores (SANTOS et al., 2002) em frascos agitados. Primeiramente a cepa foi reativada e em seguida, foi realizado um pré-inóculo ($1\text{g}_{\text{biomassa}}/\text{L}$) cultivado em 300mL de meio MSP+Nutrientes (30 g/L de glicerol, 3 g/L de fosfato monobásico, 7 g/L de fosfato dibásico, 0,2 g/L de sulfato de magnésio heptahidratado, 1,38 g/L de nitrato de sódio e 2 g/L de extrato de levedura) a 30°C por aproximadamente 44 horas com agitação rotatória de 170 rpm. No final deste período, as células de cada frasco foram recuperadas por centrifugação (10.000 rpm por 15 minutos) e usadas como inóculo (1g/L) nos erlenmeyers contendo 500mL de meio MSP por aproximadamente 168 horas.

O consumo de glicerol foi acompanhado por HPLC durante a fermentação, e quando o mesmo acabava a fermentação era finalizada. Também foram acompanhados durante a fermentação: crescimento da biomassa (através de medidas de densidade óptica), tensão superficial do sobrenadante e concentração de ramnolipídeos (HPLC). O meio de cultivo oriundo da fermentação, contendo ramnolipídeos, isento de células por centrifugação (10.000 rpm por 15 minutos), foi esterilizado em autoclave e concentrado por micro e ultrafiltração, seguidas por liofilização.

A determinação de ramnose foi efetuada através de HPLC (HPLC Agilent Technologies) equipado com coluna HPX-87H (BioRad - 300mm x 7.8 mm). A temperatura foi mantida em 65°C e, como fase móvel, foi utilizada uma solução 0,005M de ácido sulfúrico a 0,6 mL/min. O volume de amostra foi de 20µL. Sabendo-se a quantidade de gramas-mol de ramnose presente em cada 100g de composição de ramnolipídeos (mistura de homólogos produzida por este micro-organismo), calcula-se a quantidade (g) de ramnose, sabendo-se que a massa molar da ramnose (C₆H₁₂O₅) é igual a 164,0 g/gmol. Desta forma é determinado um fator (g de ramnolipídeos/g de ramnose) para a conversão da concentração de ramnose em concentração total de ramnolipídeos (SANTA ANNA, 2005). A composição química dos ramnolipídeos produzidos por *P. aeruginosa* encontra-se ilustrada na Tabela 4.3.1 a seguir:

Tabela 4.3.1 Composição química dos ramnolipídeos produzidos por *P. aeruginosa* INCQS 4046 (Fonte: LaBiM, Dados ainda não publicados, 2018).

Composição	Massa Molar (g/gmol)	Concentração Mássica (%)	HLB
Rha-C_{8:2}	301	3,18	10,9
Rha-C₁₀	333	1,70	9,8
Rha-C_{12:2}	357	3,14	9,2
Rha-C₁₀-C₈	475	12,20	6,9
Rha-C₁₀-C₁₀	505	31,39	6,5
Rha-C₁₀-C_{12:1}	529	2,27	6,2
Rha-Rha-C₈-C₈	593	2,01	11,1
Rha-Rha-C₁₀-C₈	621	10,44	10,6
Rha-Rha-C₁₀-C₁₀	651	29,54	10,1
Rha-Rha-C₁₀-C₁₂	677	1,99	9,7
Rha-Rha-C₁₀-C_{12:1}	675	2,07	9,7

4.4 Caracterização físico-química dos surfactantes

4.4.1 Tensão Superficial (TS) e Tensão Interfacial (TI)

O equipamento utilizado para determinar as tensões superficial, superficial dinâmica e interfacial foi o Goniômetro Krüss DSA100 (Modelo: OF 3210), através do método da gota pendente (SONG; SPRINGER, 1996) em água ultrapura (MilliQ). Este equipamento é composto de uma câmara que recebe iluminação e, os compostos que são introduzidos nesta são pressurizados por meio da abertura e fechamento do conjunto de válvulas presentes no equipamento. Além disso, a câmara também pode ser aquecida para os testes em diferentes temperaturas, devido à presença do acessório PD-E1700-LL (Eurotechnika), que permite a realização dos testes em condições de temperatura controlada.

A mistura contendo a água do mar sintética com o surfactante ou biosurfactante é introduzida por uma via do equipamento até alcançar câmara e preenche todo o volume desta para garantir que não haja presença de ar, enquanto que o petróleo a ser utilizado é introduzido por outra via até alcançar a agulha, cuja extremidade final encontra-se dentro da câmara.

Os resultados foram expressos como uma média de pelo menos 3 gotas pendentes, através de sistema de processamento de imagem do goniômetro acoplado ao computador, onde cada gota pendente na extremidade de uma agulha é analisada utilizando a curvatura do perfil da gota, a fim de determinar a tensão superficial e interfacial de um líquido. A tensão superficial dinâmica foi avaliada como a média de pelo menos 3 gotas desde o momento em que foram formadas até a estabilização do valor da tensão superficial das mesmas, com intervalo de 5 segundos entre uma medida e outra, totalizando 12 medidas para cada gota.

4.4.2 Concentração Micelar Crítica (CMC)

A fim de determinar a concentração micelar crítica (CMC), diluições seriadas dos surfactantes em água ultrapura (MilliQ) e em solução salina de 35g/L com temperaturas de 25, 35 e 45°C, foram realizadas e analisadas através da mesma técnica de gota pendente. De acordo com Sheppard & Mulligan (SHEPPARD; MULLIGAN, 1987), as medidas de tensão superficial são realizadas até que a mesma atinja valores próximos aos da água e, após isto, um gráfico contendo a concentração do produto (mg/L) e a tensão superficial é plotado e a CMC é aquela cujo valor de concentração corresponde ao ponto central de inflexão da curva.

4.4.3 Índice de Emulsificação

As propriedades emulsificantes dos biossurfactantes são comumente discutidas em termos da atividade emulsificante, estabilidade da emulsão e da capacidade emulsificante (BUENO, 2014). O critério utilizado para selecionar micro-organismos produtores de biossurfactante, além da habilidade em reduzir a tensão superficial e da capacidade de estabilização da emulsão, é a habilidade em manter pelo menos 50% do volume da emulsão original 24 horas após a sua formação (PINTO; MARTINS; COSTA, 2009). Por isso, um importante parâmetro de avaliação do poder de um emulsificante e da estabilidade da emulsão é o índice de emulsificação (BARROS; PEREIRA; PASTORE, 2008).

As medidas de emulsificação foram realizadas segundo método descrito por Cooper (COOPER, 1986). Valores iguais de n-hexadecano e sobrenadante livre de células foram adicionados a microtubos de 2,0 mL e em seguida foram vigorosamente agitados em vortex por 2 minutos. Após 24 horas de incubação em repouso, à temperatura ambiente, o índice de emulsificação (E_{24}) foi determinado dividindo-se a altura da emulsão pela altura total da mistura e multiplicando o resultado por 100, como mostra a equação abaixo.

$$E_{24} = \frac{\text{Altura da camada emulsificada (cm)}}{\text{Altura total de líquido (cm)}} \times 100$$

4.4.4 Oil Displacement

Existem diversas abordagens que medem diretamente a atividade de superfície de biossurfactantes e que podem ser usadas como métodos de triagem para sua detecção. Dentre estes métodos, um das técnicas rápidas e simples mais utilizada é o teste de oil displacement. Esse método é usado para determinar a atividade de superfície, medindo o diâmetro da zona clara, que ocorre após a queda de uma gota de solução contendo biossurfactante em uma fina camada de óleo na água (FRACCHIA et al., 2012; MORIKAWA; HIRATA; IMANAKA, 2000; MOUSSA; MOHAMED; SAMAK, 2014).

Foram realizados ensaios com os dois tipos de petróleo (28,6 °API e 33,8 °API). Em uma placa de Petri (15 cm de diâmetro) foi depositado 40 mL de água destilada e, em seguida, 15 µL de petróleo na superfície desta água. Finalmente, 10 mL da solução de ramnolípido foram adicionados à superfície do óleo. O Ultrasperse (US) foi utilizado como controle positivo. Os resultados foram expressos como diâmetro (cm) do halo obtido após 3 segundos. Foi feita uma triplicata de cada teste realizado (MORIKAWA et al., 1993).

4.4.5 Balanço Hidrofílico-Lipofílico

A combinação dos grupos hidrófilos e lipófilos de uma molécula possui um balanço relacionado ao tamanho e força destes dois grupos e pode ser mensurado. A classificação de emulsificantes através dos valores de HLB permite a predição do comportamento destes compostos agilizando a seleção de um determinado emulsificante para uma aplicação específica conforme demonstrado no

Quadro 4.4.5.1 a seguir (GRIFFIN, 1954). O método de Griffin foi utilizado para calcular os valores de HLB para os surfactantes utilizados neste trabalho. A equação utilizada no método de Griffin e os valores de agentes tensoativos com suas respectivas aplicações encontram-se apresentadas abaixo:

$$HLB = 20 \times \frac{\text{massa molecular da parte hidrofílica}}{\text{massa da molécula inteira}}$$

Quadro 4.4.5.1 Valores de agentes tensoativos e suas respectivas aplicações (GRIFFIN, 1954).

Faixa de HLB	Uso
4-6	Emulsificante Água/Óleo
7-9	Agente molhante
8-18	Emulsificante Óleo/Água
13-15	Detergentes
15-18	Solubilizantes

Outra interessante correlação empírica que pode ser utilizada é o chamado Desvio Hidrofílico-Lipofílico (HLD). Esta correlação foi desenvolvida para surfactantes aniônicos e não-iônicos e trata-se de uma forma adimensional da equação da diferença de afinidade do surfactante derivado termodinamicamente para descrever sistemas de microemulsão (WITTHAYAPANYANON; HARWELL; SABATINI, 2008).

4.5 Inversão da molhabilidade

Os ensaios de inversão da molhabilidade foram realizados para verificar a capacidade dos surfactantes em tornar a calcita, que foi previamente impregnada pelo ácido ciclohexanopentanóico ou pelo óleo, molhada pela água. Inicialmente é realizada a ativação da calcita através de secagem em estufa a 120 °C por 2 h (até peso constante). Para realizar a impregnação da calcita, foi adicionado à calcita uma solução de ácido ciclohexanopentanóico (1,5% p/p) em *n*-decano e mantida sob agitação (100 rpm) por 24 h, respeitando a proporção de 1,0 g de calcita para cada 20 ml de solução. Em seguida, a mistura foi mantida em repouso até toda calcita decantar e o sobrenadante foi descartado. A calcita molhada foi seca a 70 °C.

Para realização do ensaio, 0,5 g de calcita impregnada pelo ácido ciclohexanopentanóico foi adicionada em cada tubo de ensaio e nos mesmos foram adicionadas soluções (10 ml) com as diferentes concentrações (100, 50 e 25 ppm) dos surfactantes a serem testados. Como controle positivo foi utilizado o Arquad C-50 e como controle negativo a água do mar sintética. Então, os tubos de ensaio com tampa foram agitados vigorosamente por 2 min e em seguida mantidos em repouso na posição vertical (WILLIAM A. GODDARD III et al., 2005). As alturas da camada superior (*oil-wet*) e da camada inferior (*water-wet*) de calcita foram mensuradas com paquímetro e foi realizado o cálculo da porcentagem de calcita que teve sua molhabilidade invertida. O cálculo desta porcentagem encontra-se representado pela equação abaixo.

$$IM = \frac{ww}{ow + ww} \times 100$$

Onde, IM é inversão da molhabilidade, *ww* é a altura da fração molhada pela água e *ow* é a altura da fração molhada pelo óleo.

4.6 Simulação das condições de reservatório

A tensão superficial e interfacial dos surfactantes em soluções de diferentes salinidades, sob diferentes condições de temperatura e de pressão foram avaliadas frente a dois óleos, um classificado como médio e outro como leve (28,6 °API e 33,8 °API, respectivamente) para verificar a eficiência do surfactante comercial (US) e do biosurfactante (INCQS 4046) sob condições ambientais semelhantes às encontradas no Pós e Pré-Sal. Os valores de tensão interfacial através do método da gota pendente (SONG; SPRINGER, 1996) foram determinados utilizando goniômetro Krüss DSA100 (Modelo: OF 3210) acoplado ao acessório PD-E1700-LL (Eurotechnika), uma vez que este acessório permite a realização das análises de tensão superficial e interfacial em condições de pressão e temperatura controladas. Os resultados foram expressos como uma média de pelo menos 3 gotas pendentes, através de sistema de processamento de imagem do goniômetro acoplado ao computador, onde cada gota pendente na extremidade de uma agulha é analisada utilizando a curvatura do perfil da gota, a fim de determinar a tensão superficial e interfacial de um líquido. A Figura 4.6.1 a seguir ilustra o equipamento utilizado para a realização do teste.

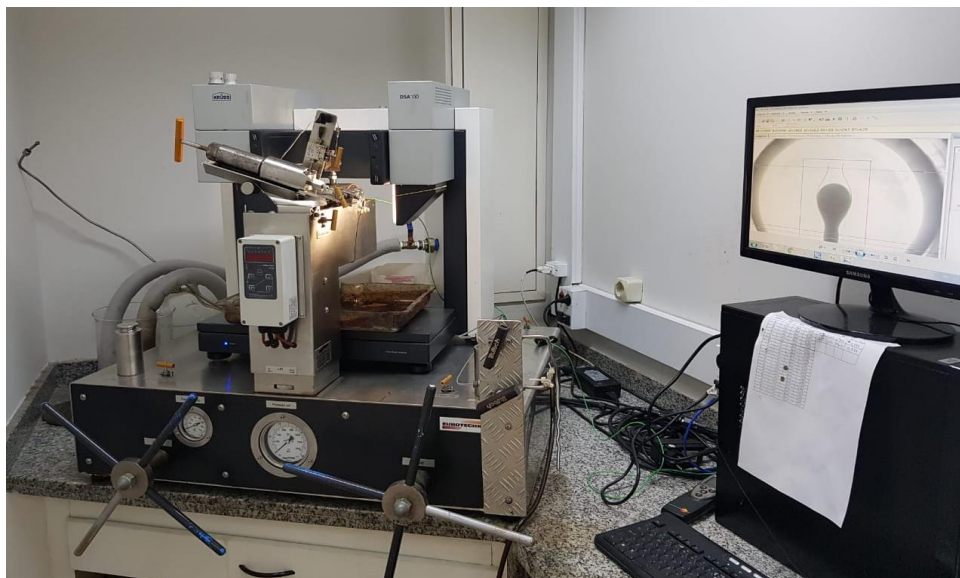


Figura 4.6.1 Goniômetro Krüss DSA 100 (Modelo: OF 3210) acoplado ao acessório PD-E1700-LL (Eurotechnika) conectado ao computador.

O uso das ferramentas de planejamento de experimentos possibilita a construção de modelos empíricos quadráticos que permitem identificar as regiões (condições de ensaio) ideais para obter determinada resposta. O estudo da eficiência dos diferentes surfactantes na utilização em condições drásticas como as encontradas nos ambientes do Pós-Sal e do Pré-Sal tem como principais fatores: a pressão, a temperatura e a salinidade. Desta forma, o efeito destas variáveis foi estudado utilizando o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). As condições ambientais do pré-sal e pós-sal usadas para realizar a análise estatística (DCCR) são mostradas na Tabela 4.6.1

Tabela 4.6.1 Níveis das variáveis de DCCR e os respectivos valores de temperatura (T), pressão (P) e salinidade (S).

Níveis	Pós-sal (2^3)				
	-1.68	-1	0	+1	+1.68
T (°C)	40	46	55	64	70
P (psi)	3000	3203	3500	3797	4000
S (g/L)	35	42.1	52.5	62.9	70
Níveis	Pré-sal (2^2) → 7000 psi				
	-1.41	-1	0	+1	+1.41
T (°C)	60	66	80	94	100
S (g/L)	50	65	100	135	150

Os resultados foram analisados utilizando o software Statistica 7.0 sendo avaliados os efeitos das variáveis estudadas e suas interações, o erro padrão, e o valor de p, sendo possível identificar as variáveis estatisticamente significativas para um nível de confiança de 90 % e construir modelos empíricos que descrevam os sistemas em estudo.

5 Resultados e Discussão

5.1 Caracterização físico-química dos surfactantes

Os biossurfactantes podem ser secretados por diferentes grupos de bactérias. Um de seus grupos, os ramnolipídeos apresentam natureza glicolipídica e são compostos de uma cabeça hidrofílica formada por uma ou duas moléculas de ramnose e uma cauda hidrofóbica que contém um ou dois ácidos graxos (MOUSSA; MOHAMED; SAMAK, 2014).

No caso dos ramnolipídeos de *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 4046, com 100,0 g de ramnolipídeos, tem-se um total de 0,2508 g/gmol de ramnose. Sabendo-se que a massa molar da ramnose ($C_6H_{12}O_5$) é igual a 164,0 g/mol, calcula-se um total de 41,13 g de ramnose. Com isso, é determinado o fator de 2,34 (100,0 g de ramnolipídeos/41,13 g de ramnose) para a conversão de concentração de ramnose em concentração total de ramnolipídeos.

Os principais componentes da mistura são o mono-ramnolipídeo (Rha- C_{10} - C_{10}), e o di-ramnolipídeo (Rha-Rha- C_{10} - C_{10}), representando aproximadamente 31,39 e 29,54% respectivamente. A distribuição entre estes ficou bem equivalente, obtendo-se 53,88% de mono-ramnolipídeos e 48,18% de di-ramnolipídeos. Esta composição encontra-se ilustrada na Tabela 4.3.1 já mencionada anteriormente.

O valor de HLB para esta mistura de homólogos produzidos pela *P. aeruginosa* INCQS 4046 é 8,5 indicando que é um surfactante com propriedades de agente molhante e de emulsificação óleo em água, o que é desejável para o tipo de aplicação proposta (DE RIENZO; MARTIN, 2016).

Com relação ao Ultrasperse II[®] (Oxiten), segundo o fabricante, é uma mistura de álcool, sulfato de álcool e sulfato de éster graxo etoxilado que apresenta HLB apropriado para favorecer a formação de emulsão óleo/água promovendo a dispersão do óleo na água, o que facilita a metabolização pelos microrganismos presentes. No entanto, não foi encontrado o valor de HLB do referido produto. Acredita-se, pela descrição do fabricante que este possua um valor entre 8 e 18, característico de emulsificantes óleo em água, assim como o biossurfactante testado.

No que se refere à caracterização físico-química dos produtos, tem-se que o Ultrasperse apresentou tensão superficial de 28,8 mN/m, CMC de 879,5 mg/L, tensão interfacial contra o *n*-hexadecano de 8,4 mN/m e índice de emulsificação contra o *n*-hexadecano de 60,8%. Em relação ao ramnolípido, este apresentou uma produtividade de 21,7 mg/L.h, chegando a uma tensão superficial de 27,4 mN/m. A CMC é de 89,5 mg/L, a tensão interfacial contra o *n*-hexadecano é 3,6 mN/m e o índice de emulsificação contra o *n*-hexadecano é 60,9 %.

Com estes resultados, pode-se observar a maior efetividade do ramnolípido frente ao surfactante comercial no que se refere aos valores de tensão superficial e tensão interfacial contra o *n*-hexadecano e principalmente os valores de CMC, que ilustram uma relevante diferença de quase 10 vezes entre a CMC do ramnolípido e do Ultrasperse II[®]. Além disso, também é importante mencionar que, a respeito da simulação do reservatório, a tensão interfacial do ramnolípido e do surfactante comercial, sob condições padrão foram, respectivamente, 2,4 mN/m e 5,9 mN/m quando utilizado óleo médio e 2,2 mN/m e 6,9 mN/m, quando utilizado óleo leve. A cinética de fermentação da INCQS 4046 pode ser observada na Figura 5.1.1 a seguir.

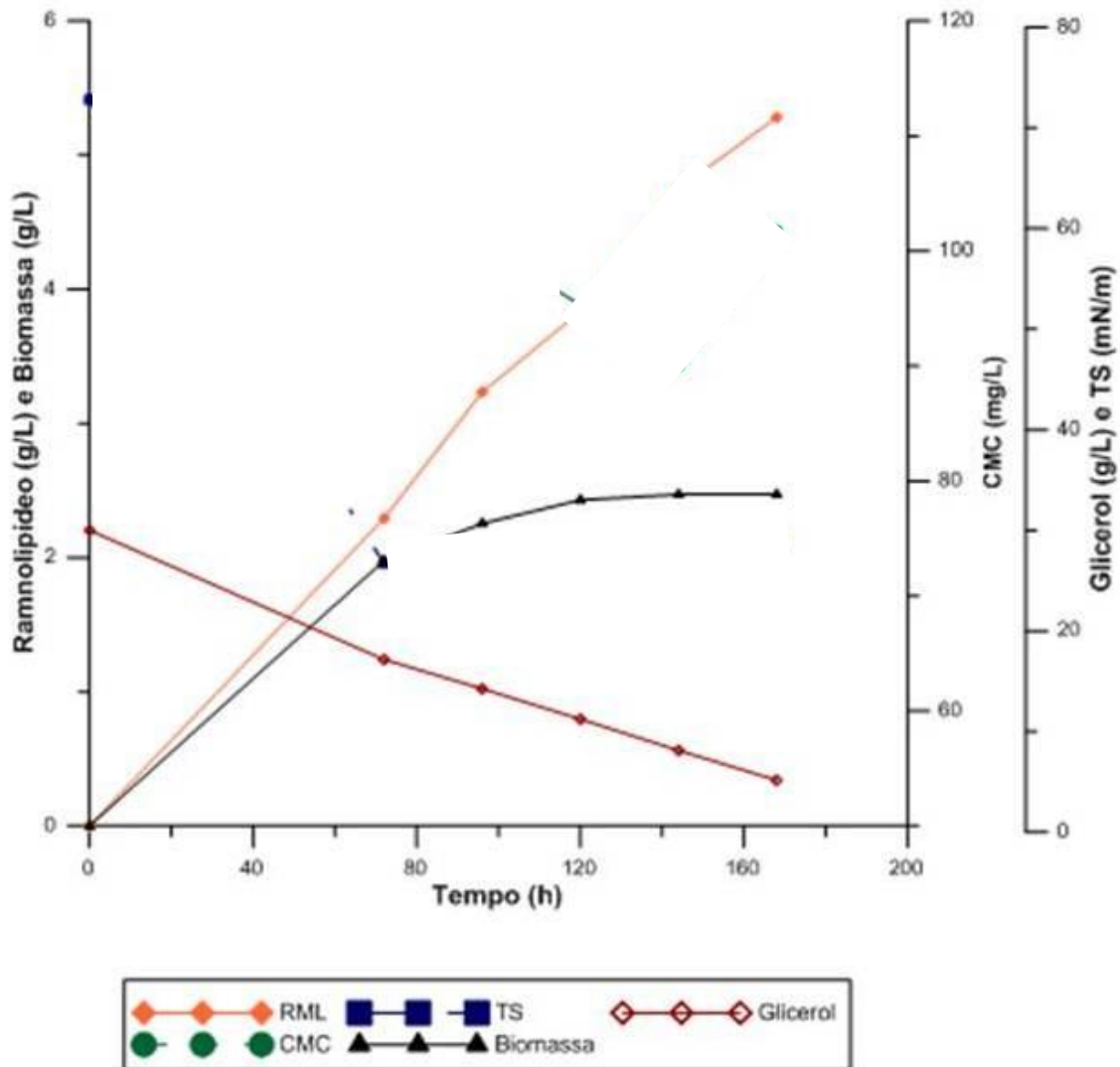


Figura 5.1.1 Cinética da *P. aeruginosa* INCQS 4046 apresentando consumo de glicerol, produção de biomassa e ramnolipídeos, tensão superficial e CMC ao longo do tempo de fermentação.

Na literatura podemos encontrar para os ramnolipídeos valores como 26 mN/m para a tensão superficial (AMANI et al., 2013), variações de 50 a 120mg/L para CMC (AMANI et al., 2013; MA et al., 2016), intervalos de 29,4 a 1,3 mN/m para tensão interfacial contra n-hexadecano (LAN et al., 2015) e faixas de 50 a 60% para o índice de emulsificação contra o n-hexadecano (SHARMA; SINGH; VERMA, 2017), confirmando que o ramnolipídeo utilizado neste trabalho encontra-se dentro das faixas esperadas.

Foram realizados testes preliminares, a fim de avaliar o efeito da variação da temperatura sobre os valores de tensão superficial e CMC dos surfactantes estudados. Nestes testes a salinidade utilizada foi de 35g/L e as temperaturas foram de 25, 35 e 45°C. Os resultados destes testes encontram-se apresentados na Tabela 5.1.1 abaixo.

Tabela 5.1.1 Valores de CMC e tensão superficial dos surfactantes estudados em diferentes temperaturas.

Surfactantes	Temperatura (°C)	CMC (mg/L)	Tensão Superficial (mN/m)
Ramnolípídeo	25	89,5	27,4±0,14
	35	89,5	25,1±0,06
	45	89,5	26,9±0,14
Ultrasperse	25	1061,2	28,8±0,01
	35	1069,3	29,3±0,24
	45	1049,1	28,7±0,42

Pelos valores apresentados acima, podemos verificar para os ramnolípídeos que, apesar da variação de temperatura, a CMC se manteve a mesma e os valores de tensão superficial não sofreram muita oscilação. Já com relação ao surfactante comercial, temos que apesar da variação de temperatura, a CMC manteve valores muito próximos e os valores de tensão superficial também não sofreram muita oscilação.

Outras características físico-químicas avaliadas neste trabalho incluem os chamados índice de emulsificação e oil displacement. O primeiro tem por finalidade avaliar a estabilidade de uma emulsão formada por 24h, visando confirmar o potencial emulsificante de um biossurfactante, enquanto que o segundo visa avaliar o potencial de dispersante de um biossurfactante em uma solução. Foi realizado o teste de emulsificação com o ramnolípídeo perante diferentes óleos e sob diferentes concentrações. Os resultados do teste encontram-se no Gráfico 1 a seguir:

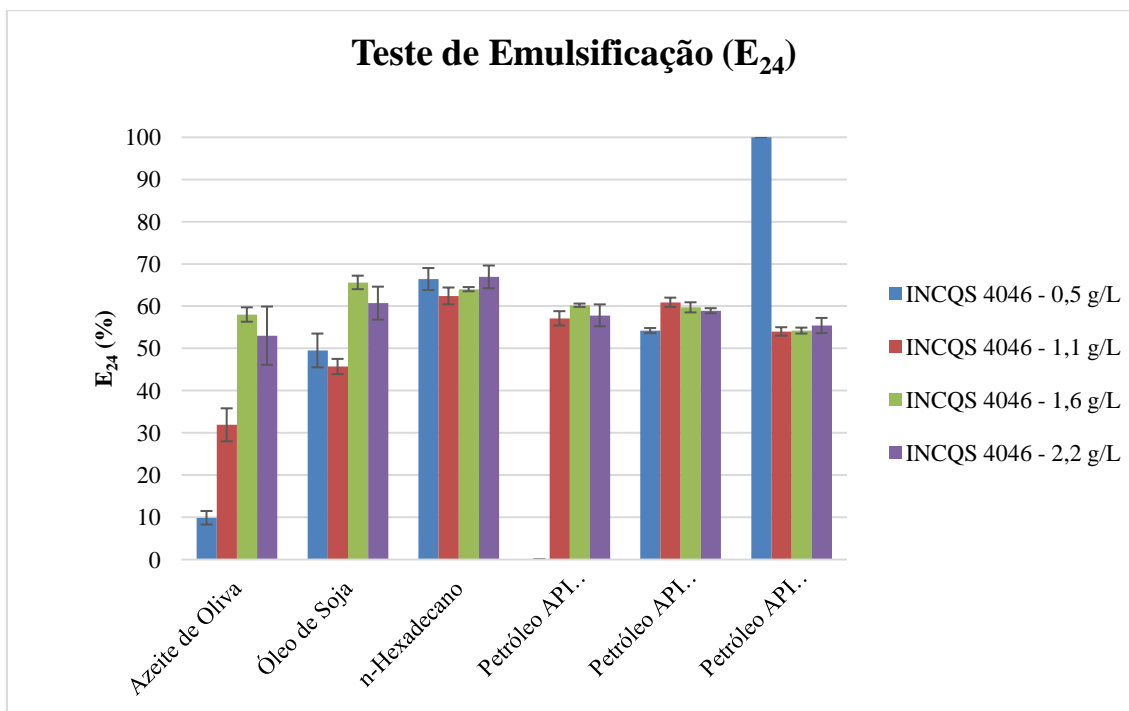


Gráfico 1 Teste de Emulsificação com ramnolípídeo em diferentes concentrações em diferentes óleos.

Observando o gráfico, podemos constatar que o aumento da concentração dos ramnolípídeos leva a um aumento gradativo do efeito emulsificante. Com relação ao azeite de oliva, observa-se que apesar do efeito emulsificante em toda faixa de teste, os maiores índices de emulsificação foram obtidos nas concentrações de 1,6 e 2,2g/L. O mesmo ocorre para o caso do óleo de soja, que apesar de apresentar maiores índices de emulsificação do que o azeite de oliva nas concentrações de 0,5 e 1,1 g/L, também demonstraram maiores índices de emulsificação nas maiores concentrações do produto (1,6 e 2,2g/L).

O teste realizado no n-hexadecano, apresentou bons resultados em todas as concentrações testadas, o que também ocorre, mesmo que em menor percentual, no caso em que o produto foi testado com petróleo de API médio. Nos demais óleos, não foram observadas mudanças significativas entre as diferentes concentrações, com exceção do teste realizado com petróleo de API alto na concentração de 0,5g/L que não emulsificou e com o teste com petróleo de API baixo cuja concentração de 0,5g/L emulsificou mais do que com as demais concentrações testadas.

Para este último caso, uma possível causa para o resultado obtido poderia ser a presença de compostos não-hidrocarbonetos (ex, asfaltenos, resinas, enxofre) presentes em maior quantidade neste óleo mais pesado que, ao interagirem com o ramnolípídeo nesta concentração podem ter otimizado o efeito emulsificante, em função da polarização das cargas, mas ao aumentar a concentração do produto, podem ter gerado mudanças na forma das micelas e deixar de apresentar esse efeito tão proeminente (KARCHER, 2008; THOMAS, 2001). Com os dados obtidos, verifica-se que na maioria dos experimentos realizados, o percentual de emulsificação (média em torno de 55%) apresentou bons resultados dentro da faixa de concentração de ramnolípídeo utilizada, demonstrando que o ramnolípídeo possui um grande potencial de uso como agente emulsificante frente aos diferentes óleos testados.

Foram verificados na literatura testes de emulsificação com ramnolípídeos em comparação a surfactantes químicos (SDS, CTAB e Tween-100, por exemplo) contra diferentes hidrocarbonetos, nos quais foram obtidos como resultado faixas de 50 a 60% de emulsificação com óleo cru, petróleo, querosene, heptano e hexadecano. (SHARMA; SINGH; VERMA, 2017). Além disso, também foram realizados testes de emulsificação de ramnolípídeos produzidos por outra cepa de alto rendimento (cepa SWP-4) que utiliza o óleo de cozinha como fonte de carbono, cujo resultado contra o n-hexadecano foi de 59% (LAN et al., 2015). Em ambos os estudos, o ramnolípídeo também apresentou grande potencial emulsificante (de 50 a 60%), corroborando o potencial emulsificante do ramnolípídeo empregado no decorrente trabalho.

O teste de oil displacement, conforme mencionado anteriormente, tem por objetivo avaliar o potencial de dispersante do ramnolípídeo, a fim de corroborar com a vasta aplicabilidade deste no ramo da indústria alimentícia, têxtil, lubrificante, petrolífera, etc. Para isto, o teste foi realizado com diferentes óleos e sob diferentes concentrações. Os resultados estão apresentados no Gráfico 2 a seguir:

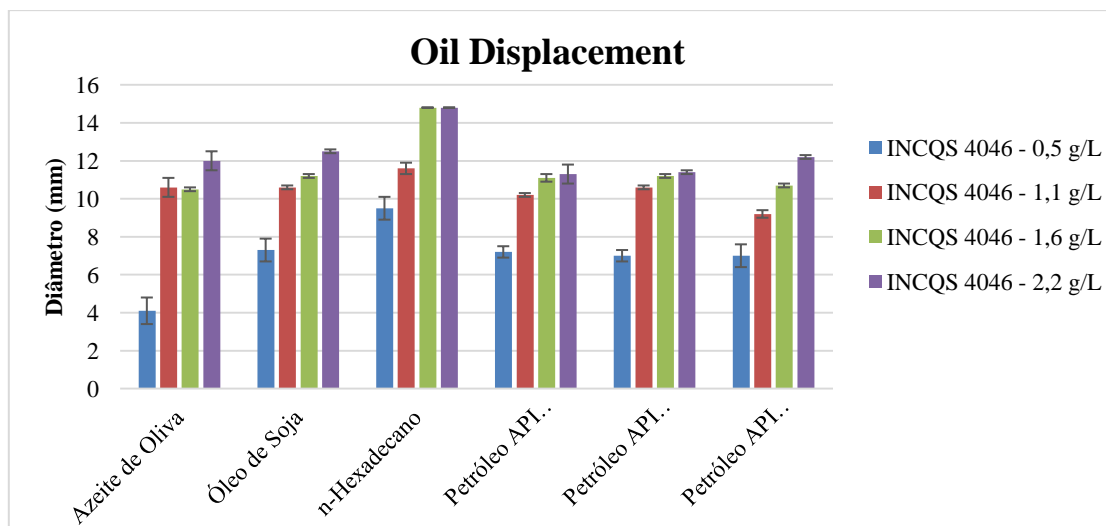


Gráfico 2 Teste de Oil Displacement com ramnolipídeo em diferentes concentrações em diferentes óleos.

Após a observação dos resultados obtidos no gráfico acima, constata-se que, o aumento da concentração do produto promove o aumento do diâmetro do halo em todos os compostos testados, salientando-se o caso da proximidade entre o valor das concentrações de 1,1 e 1,6 g/L no azeite de oliva e os casos de proximidade entre o valor das concentrações de 1,6 e 2,2 g/L no petróleo de API alto, API médio e no n-hexadecano, onde neste último é alcançado o valor máximo de diâmetro possível neste teste nas concentrações de 1,6 e 2,2 g/L, demonstrando que os resultados obtidos representam um excelente potencial dispersante do produto de interesse, frente aos diferentes óleos testados.

Nos estudos verificados na literatura, observamos que o ramnolipídeo da cepa NITT6L de *P. aeruginosa* apresentou bons resultados nos testes de oil displacement em sua interação, a nível qualitativo, com o óleo diesel (B. VANAVIL, M. PERUMALSAMY, 2013). Outro teste de oil displacement realizado, utilizando a cepa C1501 de *P. aeruginosa*, apresentou o máximo de deslocamento de óleo de 4,2 cm comparado com o deslocamento de 2,3 cm de seu controle (água destilada) (CHARLES et al., 2017). Além dos testes apresentados, encontra-se também aquele em que a cepa B-59188 de *P. aeruginosa* é comparada com outros surfactantes (Tween e SDS, por exemplo) apresentando um deslocamento de 10 cm contra 4 e 2 cm de deslocamento dos surfactantes Tween e SDS, respectivamente (HO^Y et al., 2015). Com estes dados, podemos constatar que o ramnolipídeo utilizado apresenta até mesmo um potencial dispersante melhor do que o observado na literatura.

5.2 Inversão da Molhabilidade

Os resultados para o teste de flotação da calcita podem ser vistos na Tabela 5.2.1. O biossurfactante glicolípídico apresentou melhores resultados de inversão de molhabilidade do que o controle positivo (Arquad C-50) com as menores concentrações, e o mesmo potencial em 100 ppm. Como mencionado na literatura, Arquad é um dos melhores surfactantes para inverter a molhabilidade da calcita, apresentando mais de 50% de molhabilidade com 25 ppm (WU et al., 2008) e por isso é geralmente utilizado como controle positivo para estes ensaios.

Tabela 5.2.1 Inversão de molhabilidade (% ww) em cada concentração de surfactante (ppm).

Amostra	Concentração [ppm]	Percentual de Inversão da Molhabilidade (%)
Arquad C-50	100	100,0±0,0
	50	90,3±2,0
	25	75,7±2,9
INCQS 4046	100	100,0±0,0
	50	100,0±0,0
	25	100,0±0,0
	15	100,0±0,0
	10	66,8±3,5
	5	59,9±2,3
Ultrasperse II	100	100,0±0,0
	50	76,5±0,0
	25	73,6±2,0
Água do Mar	0	18,1±1,0

O Ultrasperse atingiu 100% de inversão de molhabilidade na concentração mais alta, atuando de maneira similar ao Arquad C-50, diminuindo sua eficiência à medida que a concentração foi reduzida. Na concentração de 50 ppm tiveram um efeito menor quando comparado com a mesma concentração de Arquad C-50, porém na concentração de 25 ppm tiveram um valor similar. Devido ao grande potencial mostrado pelos resultados dos ramnolipídeos, menores concentrações também foram testadas (15, 10 e 5 ppm) e demonstraram uma capacidade de inverter aproximadamente 60% da molhabilidade com concentrações tão baixas quanto 5 ppm.

Na literatura podemos encontrar um teste de flotação que foi realizado comparando um surfactante de origem natural (oriundo de uma raiz de árvore) com alguns surfactantes comerciais (C16TAB, SDS e o Triton X-100). Neste teste, o surfactante natural demonstrou melhores resultados perante os surfactantes comerciais (AHMADI; GALEDARZADEH; SHADIZADEH, 2015). No presente trabalho ratificamos o potencial dos biossurfactantes na inversão da molhabilidade.

5.3 Simulação

Neste tópico foram desenvolvidas simulações através de análises estatísticas com planejamento DCCR em condições ambientais de reservatório (pós-sal e pré-sal) utilizando óleo médio (28,6 °API) e óleo leve (33,8 °API), a fim de avaliar os valores de tensão interfacial dos surfactantes estudados (ramnolipídeos e o Ultrasperse II), já que estes apresentaram bons resultados na inversão de molhabilidade, demonstrando grande potencial para aplicação em EOR. Quanto menores os valores de tensão interfacial dos surfactantes, maior será a capacidade de solubilização e, conseqüentemente, melhor será o seu potencial para EOR (BERA et al., 2011).

Conforme já mencionado, cabe lembrar que, sob condições padrão, os valores de tensão interfacial do ramnolipídeo e do Ultrasperse II são 2,4 mN/m e 5,9 mN/m (utilizando óleo médio) e 2,2 mN/m e 6,9 mN/m (utilizando óleo leve), respectivamente e os ramnolipídeos foram mais efetivos, obtendo valores interfaciais mais baixos que o Ultrasperse II, corroborando os resultados encontrados durante o teste de flotação. Os testes elaborados foram realizados sob as condições de pós-sal e pré-sal e, por isso, serão apresentados em suas respectivas subseções.

5.3.1 Em condições de Pós-Sal

5.3.1.1 Com utilização de petróleo médio

Inicialmente foi criada uma matriz experimental com os valores de tensão interfacial obtidos pelo surfactante comercial (US) e pelos ramnolipídeos de *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 4046 em óleo médio (28,6 °API). Esta matriz encontra-se apresentada na Tabela 5.3.1 abaixo, onde o símbolo T representa a Temperatura (°C), S representa a salinidade (g/L), P representa a pressão (psi), R representa Ramnolipídeos, U representa Ultrasperse II® e TI representa a tensão interfacial (mN/m).

Tabela 5.3.1 Matriz experimental com valores de tensão interfacial do Ultrasperse e dos ramnolipídeos nas condições de pós-sal com óleo médio.

Ensaio	T	S	P	U (TI)	R (TI)
1	-1 (46 °C)	-1 (42,1 g/L)	-1 (3.203 psi)	2,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0
2	-1 (46 °C)	-1 (42,1 g/L)	+1 (3.797 psi)	2,7 ± 0,0	0,6 ± 0,0
3	-1 (46 °C)	+1 (62,9 g/L)	-1 (3.203 psi)	2,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0
4	-1 (46 °C)	+1 (62,9 g/L)	+1 (3.797 psi)	2,6 ± 0,0	0,4 ± 0,0
5	+1 (64 °C)	-1 (42,1 g/L)	-1 (3.203 psi)	2,3 ± 0,0	0,5 ± 0,0
6	+1 (64 °C)	-1 (42,1 g/L)	+1 (3.797 psi)	2,3 ± 0,0	0,5 ± 0,1
7	+1 (64 °C)	+1 (62,9 g/L)	-1 (3.203 psi)	2,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0
8	+1 (64 °C)	+1 (62,9 g/L)	+1 (3.797 psi)	2,6 ± 0,0	0,4 ± 0,0
9	-1,68 (40 °C)	0 (52,5 g/L)	0 (3.500 psi)	1,1 ± 0,0	0,5 ± 0,0
10	+1,68 (70 °C)	0 (52,5 g/L)	0 (3.500 psi)	2,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0
11	0 (55 °C)	-1,68 (35,0 g/L)	0 (3.500 psi)	1,7 ± 0,0	0,5 ± 0,0
12	0 (55 °C)	+1,68 (70,0 g/L)	-1,68 (3.000 psi)	2,9 ± 0,0	0,5 ± 0,0
13	0 (55 °C)	0 (52,5 g/L)	+1,68 (4.000 psi)	2,3 ± 0,4	0,4 ± 0,0
14	0 (55 °C)	0 (52,5 g/L)	0 (3.500 psi)	2,6 ± 0,0	0,4 ± 0,0
15 (ponto central)	0 (55 °C)	0 (52,5 g/L)	0 (3.500 psi)	2,6 ± 0,1	0,4 ± 0,0
16 (ponto central)	0 (55 °C)	0 (52,5 g/L)	0 (3.500 psi)	2,5 ± 0,2	0,4 ± 0,0
17 (ponto central)	0 (55 °C)	0 (52,5 g/L)	0 (3.500 psi)	2,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1
18 (ponto central)	0 (55 °C)	0 (52,5 g/L)	0 (3.500 psi)	2,7 ± 0,2	0,4 ± 0,0
19 (ponto central)	0 (55 °C)	0 (52,5 g/L)	0 (3.500 psi)	2,6 ± 0,2	0,4 ± 0,0

Foi realizada a análise dos coeficientes de regressão para os fatores temperatura, salinidade e pressão em seus termos lineares e quadráticos, assim como a interação entre eles (a 90 % de confiança) para o Ultrasperse II e para o ramnolípídeo e os termos médios obtidos foram de 2,6 mN/m e 0,4 mN/m, respectivamente.

Avaliando as principais variáveis, observou-se para o Ultrasperse II que nenhuma variável e nem suas interações foram significativas. A Tabela 5.3.2 abaixo apresenta a análise de variância (ANOVA) do US contra o petróleo médio em condições de pós-sal.

Tabela 5.3.2 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o US contra o petróleo médio em condições de pós-sal.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab}	valor p	R ²	F _{calc} /F _{tab}
Regressão						0,5974559	0,4	
	1,4	9	0,2	0,84	2,44		5	0,3
Resíduos	1,638	9	0,182					
Falta de ajuste	1,637685	5	0,328					
Erro puro	0,019097	4	0,005					
Total	3,020402	18						

SQ = Soma dos Quadrados; GL = Graus de Liberdade; QM = Quadrado Médio; R² = Coeficiente de Determinação.

Em função do baixo valor do coeficiente de determinação (R²=0,45) e do valor de F_{calculado} ser menor do que o F_{tabelado}, não foi permitido, portanto, a realização de uma análise estatística nem a construção de um modelo.

Já para o ramnolípídeo observou-se que dentre as principais variáveis, a temperatura e a salinidade foram significativas. A salinidade e a temperatura apresentaram efeitos negativos em seus termos lineares, enquanto que a salinidade apresentou efeito positivo em seu termo quadrático e não foram observados efeitos de interação entre as variáveis. A Tabela. 5.3.3 abaixo apresenta a análise de variância (ANOVA) do ramnolípídeo contra o petróleo médio em condições de pós-sal.

Tabela. 5.3.3 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para os ramnolipídeos do INCQS 4046 contra o petróleo médio em condições de pós-sal.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab}	valor p	R ²	F _{calc} /F _{tab}
Regressão						4,83×10 ⁻⁵	0,7	
	0,062	3	0,021	16,67	2,49		9	6,7
Resíduos	0,019	15	0,001					
Falta de ajuste	0,018589	11	0,001690					
Erro puro	0,001979	4	0,000495					
Total	0,080567	18						

SQ = Soma dos Quadrados; GL = Graus de Liberdade; QM = Quadrado Médio; R² = Coeficiente de Determinação.

Através da análise do coeficiente de determinação R² (0,79) e da ANOVA ilustrada acima foi possível constatar a validade do modelo em função do valor de F_{calculado} e de F_{tabelado}, assim como foi possível gerar um modelo capaz de prever os valores de tensão interfacial para as diferentes condições dentro da faixa estudada. O modelo gerado é apresentado a seguir:

$$TI R_{\text{pós-sal}} = 0,39 - 0,03.T - 0,04.S + 0,05.S^2$$

Com base no modelo realizado temos que, dentro do intervalo estudado, foi possível construir superfícies de resposta mostrando as faixas de valores da resposta tensão interfacial para as diferentes condições. Com a pressão em 4.000 psi, os menores valores de tensão interfacial são encontrados quando são aplicados os valores mais altos de temperatura combinado com os valores próximos ao ponto central de salinidade. A Figura 5.3.1 a seguir ilustra a análise feita.

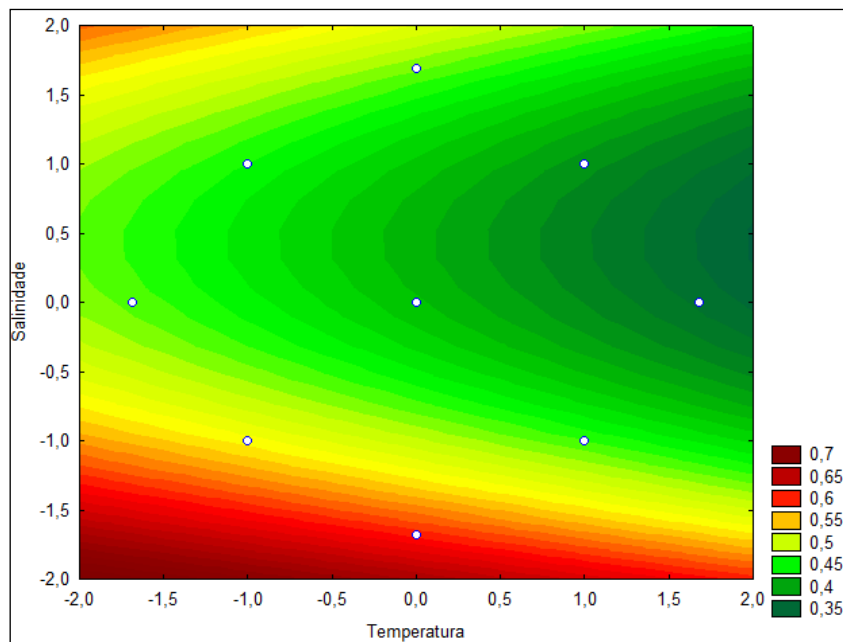


Figura 5.3.1 Superfície de resposta da tensão interfacial do ramnolipídeo contra o petróleo médio na pressão de 4.000 psi.

Na literatura é possível confirmar a influência da temperatura e da salinidade em diferentes testes aplicados com a presença de diferentes surfactantes (dodecil sal de sódio do ácido benzeno sulfônico, dioctil sulfossuccinato de sódio e hexadecil brometo de trimetil amônio) em fase aquosa (ELKAMEL; AHMED; KHAN, 2005), assim como é possível encontrar a influência da temperatura em óleo médio (27°API) (KARNANDA; BENZAGOUTA, 2013).

5.3.1.2 Com utilização de petróleo leve

De forma similar ao procedimento realizado anteriormente, foi criada uma matriz experimental com os valores de tensão interfacial obtidos pelo surfactante comercial (US) e pelos ramnolipídeos de *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 4046 em óleo leve (33,8°API). Esta matriz encontra-se apresentada na Tabela 5.3.4 abaixo, onde o símbolo T representa a Temperatura (°C), S representa a salinidade (g/L), P representa a pressão (psi), R representa Ramnolipídeos, U representa Ultrasperse II® e TI representa a tensão interfacial (mN/m).

Tabela 5.3.4 Matriz experimental com valores de TI do US e dos ramnolipídeos nas condições de pós-sal com óleo leve.

Ensaio	T	S	P	U (TI)	R (TI)
1	-1.00	-1.00	-1.00	3.5±0.0	0.7±0.0
2	-1.00	-1.00	1.00	3.7±0.0	0.6±0.0
3	-1.00	1.00	-1.00	0.8±0.0	0.6±0.0
4	-1.00	1.00	1.00	0.9±0.0	0.6±0.0
5	1.00	-1.00	-1.00	2.6±0.1	0.6±0.0
6	1.00	-1.00	1.00	3.2±0.0	0.6±0.0
7	1.00	1.00	-1.00	1.1±0.0	0.5±0.0
8	1.00	1.00	1.00	1.2±0.0	0.6±0.0
9	-1.68	0.00	0.00	3.6±0.0	1.0±0.1
10	1.68	0.00	0.00	3.3±0.0	0.9±0.0
11	0.00	-1.68	0.00	1.4±0.0	0.8±0.1
12	0.00	1.68	-1.68	1.4±0.0	0.6±0.0
13	0.00	0.00	1.68	3.1±0.0	0.8±0.0
14	0.00	0.00	0.00	3.4±0.0	0.8±0.0
15 (C)	0.00	0.00	0.00	3.7±0.2	0.9±0.1
16 (C)	0.00	0.00	0.00	3.7±0.1	0.9±0.1
17 (C)	0.00	0.00	0.00	3.7±0.2	0.9±0.1
18 (C)	0.00	0.00	0.00	3.7±0.2	0.9±0.0
19 (C)	0.00	0.00	0.00	3.7±0.2	0.9±0.1

Foi realizada a análise dos coeficientes de regressão e o termo médio obtido para o Ultrasperse II foi de 3,7 mN/m. Avaliando as principais variáveis, observou-se que a salinidade foi significativa em seus termos lineares e quadráticos e não foram observados efeitos de interação entre as variáveis. A Tabela 5.3.5 abaixo apresenta a análise de variância (ANOVA) do US contra o petróleo leve em condições de pós-sal.

Tabela 5.3.5 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o US contra o petróleo leve em condições de pós-sal.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab}	valor p	R ²	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	16,384	2	8,192	17,73	2,668	8,73×10 ⁻⁵	0,78	6,6
Resíduos	7,392	16	0,462					
Falta de ajuste	7,39174	12	0,61598					
Erro puro	0,00185	4	0,00046					
Total	23,77599	18						

SQ = Soma dos Quadrados; GL = Graus de Liberdade; QM = Quadrado Médio; R² = Coeficiente de Determinação.

Através da análise do coeficiente de determinação R² (0,78) e da ANOVA ilustrada acima foi possível constatar a validade do modelo em função do valor de F_{calculado} e de F_{tabelado}, assim como foi possível gerar um modelo capaz de prever os valores de tensão interfacial para as diferentes condições dentro da faixa estudada. O modelo gerado encontra-se representado pela equação abaixo:

$$TI U_{\text{pós-sal}} = 3.71 - 0.67S - 0.91S^2$$

Com base no modelo realizado temos que, dentro do intervalo estudado, à medida que a salinidade aumenta, a tensão interfacial diminui, independentemente do valor da pressão ou da temperatura existente. Na literatura é possível encontrar 3,8 mN / m como valor de tensão interfacial entre ramnolípídeos e um óleo cru (0,86 g / cm³) a 45 °C (DAOSHAN et al., 2004). Para os ramnolípídeos, a concentração de salinidade e a pressão podem levar a valores muito inferiores aos encontrados na literatura (0,6-0,7 mN/m) a 45°C.

De acordo com a análise dos coeficientes de regressão, agora para o ramnolípídeo, o valor encontrado para o termo médio foi de 0,9 mN / m, o qual foi considerado muito inferior ao apresentado pelo surfactante comercial. Avaliando as principais variáveis, observou-se que a salinidade e a pressão foram significativas em seus termos quadráticos, apresentando efeito negativo e não foram observados efeitos de interação entre as variáveis. A Tabela 5.3.6 abaixo apresenta a análise de variância (ANOVA) do ramnolípídeo de *P. aeruginosa* INCQS 4046 contra o petróleo leve em condições de pós-sal.

Tabela 5.3.6 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o INCQS 4046 contra o petróleo leve em condições de pós-sal.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab}	valor p	R ²	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	0,184	2	0,092	6,85	2,668	7,09×10 ⁻³	0,78	2,6
Resíduos	0,214	16	0,013					
Falta de ajuste	0,214309	12	0,017859					
Erro puro	0,001601	4	0,000400					
Total	0,397868	18						

SQ = Soma dos Quadrados; GL = Graus de Liberdade; QM = Quadrado Médio; R² = Coeficiente de Determinação.

Analisando o coeficiente de determinação R² (0,78) e a ANOVA, foi possível gerar um modelo capaz de prever os valores de tensão interfacial para as diferentes condições dentro da faixa estudada. O modelo gerado encontra-se representado pela equação abaixo:

$$TI R_{\text{pós-sal}} = 0.89 - 0.1S^2 - 0.08P^2$$

Com base no modelo, temos para os ramnolipídeos que, dentro do intervalo estudado, à medida que a salinidade e a pressão aumentam, a tensão interfacial diminui, independentemente do valor da temperatura existente. Com isso, foram construídas as curvas de resposta de superfície em função da salinidade e pressão. Os valores mais baixos de tensão interfacial são encontrados nas extremidades tanto da salinidade quanto da pressão, conforme mostra a Figura. 5.3.2 abaixo.

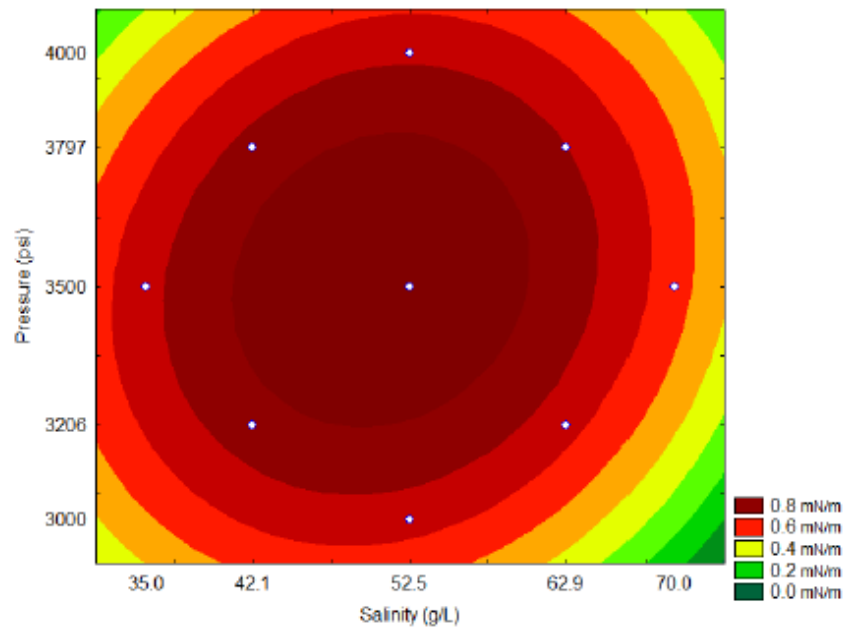


Figura. 5.3.2 Curva de resposta de superfície para tensão interfacial do ramnolipídeo frente a um óleo leve sob condições de reservatório pós-sal.

Além das variáveis temperatura e salinidade analisadas, pode-se observar que a variável pressão também se apresentou significativa em seu termo quadrático na condição estudada. Diferentemente do comportamento observado acima quanto a variável pressão, é possível encontrar na literatura que a tensão interfacial é fracamente dependente da pressão e aumenta quase que linearmente com esta (CAI; YANG; GUO, 1996).

Com base nos resultados do pós-sal, é possível concluir que ambos os surfactantes não só mantêm sua efetividade sob condições ambientais encontradas nesses reservatórios, mas também aumentam sua eficácia obtendo valores de tensão interfacial menores do que aqueles encontrados sem os valores de pressão, salinidade e temperatura. Também é possível prever que os ramnolipídeos são mais eficazes para este tipo de aplicação do que o Ultrasperse II.

5.3.2 Em condições de Pré-Sal

5.3.2.1 Com utilização de petróleo médio

Analogamente ao procedimento realizado nas condições de pós-sal, foi criada uma matriz experimental com os valores de tensão interfacial obtidos pelo surfactante comercial (US) e pelos ramnolipídeos do INCQS 4046 em óleo médio (28,6 °API). Esta matriz encontra-se apresentada na Tabela 5.3.7 abaixo, onde o símbolo T representa a Temperatura (°C), S representa a salinidade (g/L), R representa Ramnolipídeos, U representa Ultrasperse II® e TI representa a tensão interfacial (mN/m). Para este planejamento, a pressão é fixada em 7000 psi em função das condições mínimas de pressão na região do pré-sal e por questões de segurança quanto ao equipamento utilizado (Goniômetro).

Tabela 5.3.7 Matriz experimental com valores de TI do INCQS 4046 e do US nas condições de pré-sal com óleo médio.

Ensaio	T	S	U (TI)	R (TI)
1	-1 (66 °C)	-1 (65 g/L)	3,8 ± 0,0	1,2 ± 0,0
2	-1 (66 °C)	+1 (135 g/L)	1,5 ± 0,0	0,8 ± 0,0
3	+1 (94 °C)	-1 (65 g/L)	3,2 ± 0,0	1,1 ± 0,0
4	+1 (94 °C)	+1 (135 g/L)	1,4 ± 0,1	0,8 ± 0,0
5	-1,68 (60 °C)	0 (100 g/L)	3,1 ± 0,0	0,9 ± 0,0
6	+1,68 (100 °C)	0 (100 g/L)	2,9 ± 0,0	0,7 ± 0,0
7	0 (80 °C)	-1,68 (50 g/L)	3,4 ± 0,0	1,4 ± 0,0
8	0 (80 °C)	+1,68 (150 g/L)	2,0 ± 0,0	0,6 ± 0,0
9 ©	0 (80 °C)	0 (100 g/L)	3,3 ± 0,0	0,9 ± 0,0
10 ©	0 (80 °C)	0 (100 g/L)	3,4 ± 0,0	0,9 ± 0,0
11 ©	0 (80 °C)	0 (100 g/L)	3,3 ± 0,1	0,9 ± 0,0
12 ©	0 (80 °C)	0 (100 g/L)	3,4 ± 0,0	0,9 ± 0,0

Foi realizada a análise dos coeficientes de regressão para os fatores temperatura e salinidade em seus termos lineares e quadráticos, assim como a interação entre eles (a 90 % de confiança), e o termo médio obtido para o Ultrasperse II foi de 3,4 mN/m. Avaliando as principais variáveis, observou-se que a salinidade foi significativa em seus termos lineares e quadráticos e a temperatura foi significativa apenas em seu termo quadrático, apresentando todos, efeitos negativos, e não foram observados efeitos de interação entre as variáveis. A Tabela 5.3.8 abaixo apresenta a análise de variância (ANOVA) do US contra o petróleo médio em condições de pré-sal.

Tabela 5.3.8 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o US contra o petróleo médio em condições de pré-sal.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab}	valor p	R ²	F _{calc} /F _{tab}
Regressão					2,9	1,08×10 ⁻³	0,8	
	6,251	3	2,084	15,45	2		5	5,3
Resíduos	1,079	8	0,135					
Falta de ajuste	1,078904	5	0,215781					
Erro puro	0,004325	3	0,001442					
Total	7,329656	11						

SQ = Soma dos Quadrados; GL = Graus de Liberdade; QM = Quadrado Médio; R² = Coeficiente de Determinação.

Através da análise do coeficiente de determinação R² (0,85) e da ANOVA ilustrada acima foi possível constatar a validade do modelo em função do valor de F_{calculado} e de F_{tabelado}, assim como foi possível gerar um modelo capaz de prever os valores de tensão interfacial para as diferentes condições dentro da faixa estudada. O modelo gerado encontra-se representado pela equação abaixo:

$$TI U_{\text{pré-sal}} = 3,35 - 0,26.T^2 - 0,78.S - 0,43.S^2$$

Com base no modelo realizado temos que, dentro do intervalo estudado, à medida que a temperatura e a salinidade aumentam, a tensão interfacial diminui. Com base no modelo realizado, foi possível construir superfícies de resposta mostrando as faixas de valores da resposta tensão interfacial para as diferentes condições. Os menores valores de tensão interfacial são encontrados próximos aos maiores valores de salinidade com a temperatura no ponto central, conforme mostra a Figura 5.3.3 abaixo.

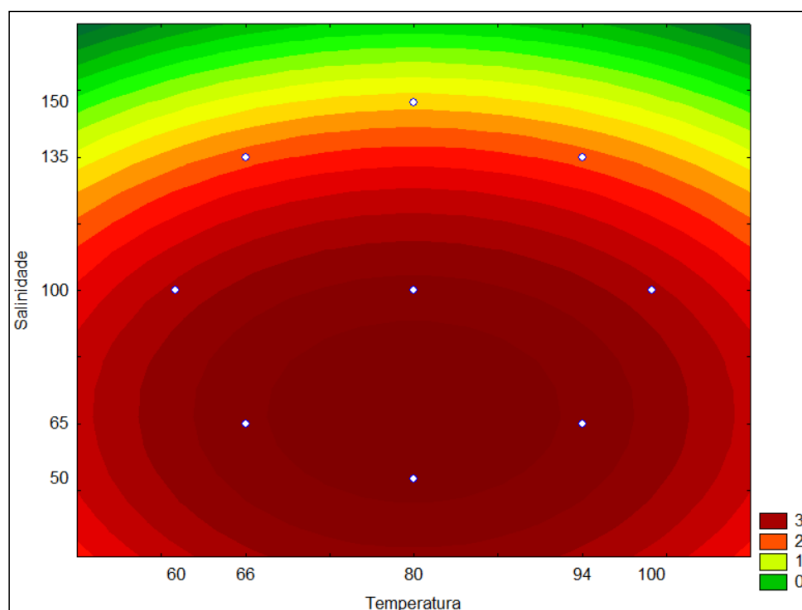


Figura 5.3.3 Curva de resposta de superfície para tensão interfacial do US frente a um óleo médio sob condições de pré-sal.

De acordo com a análise dos coeficientes de regressão, agora para o ramnolípídeo, o valor encontrado para o termo médio foi de 0,9 mN / m, o qual foi considerado muito inferior ao apresentado pelo surfactante comercial. Avaliando as principais variáveis, observou-se que todas as variáveis foram significativas em seus termos lineares e quadráticos, apresentando efeito negativo e foi observado efeito de interação entre salinidade e temperatura, apresentando efeito positivo. A Tabela 5.3.9 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para os ramnolípídeos INCQS 4046 contra o petróleo médio em condições de pré-sal. abaixo apresenta a análise de variância (ANOVA) do ramnolípídeo INCQS 4046 contra o petróleo médio em condições de pré-sal.

Tabela 5.3.9 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para os ramnolípídeos INCQS 4046 contra o petróleo médio em condições de pré-sal.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab}	valor p	R ²	F _{calc} /F _{tab}
Regressão					3,1	1,96×10 ⁻⁴	0,9	
	0,545	5	0,109	36,98	1		7	11,9
Resíduos	0,018	6	0,003					
Falta de ajuste	0,017671	3	0,005890					
Erro puro	0,000023	3	0,000008					
Total	0,562213	11						

SQ = Soma dos Quadrados; GL = Graus de Liberdade; QM = Quadrado Médio; R² = Coeficiente de Determinação.

Através da análise do coeficiente de determinação R^2 (0,97) e da ANOVA ilustrada acima foi possível constatar a validade do modelo em função do valor de $F_{\text{calculado}}$ e de F_{tabelado} , assim como foi possível gerar um modelo capaz de prever os valores de tensão interfacial para as diferentes condições dentro da faixa estudada. O modelo gerado encontra-se representado pela equação abaixo:

$$TI R_{\text{pré-sal}} = 0,90 - 0,04.T - 0,04.T^2 - 0,24.S - 0,08.S^2 + 0,03.T.S$$

Com base no modelo realizado temos que, dentro do intervalo estudado, foi possível construir superfícies de resposta mostrando as faixas de valores da resposta tensão interfacial para as diferentes condições. Os menores valores de tensão interfacial são encontrados próximos aos maiores valores de salinidade com os menores ou os maiores valores de temperatura, conforme mostra a Figura 5.3.4 abaixo.

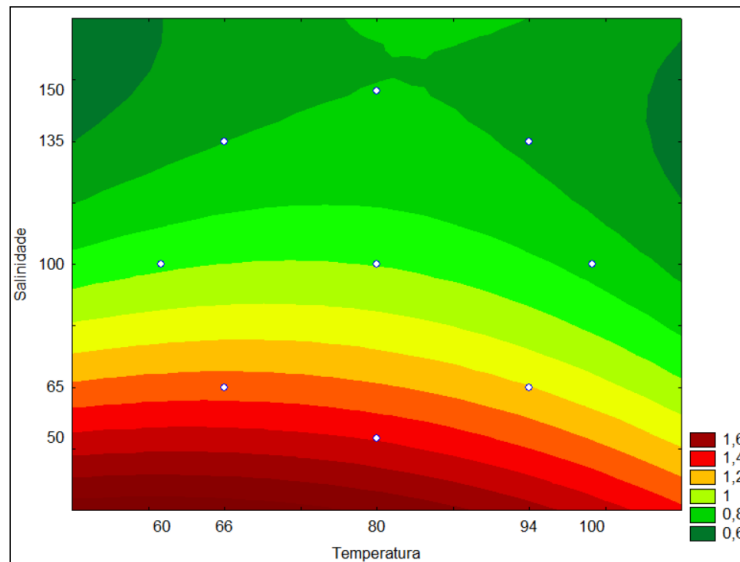


Figura 5.3.4 Superfície de resposta da tensão interfacial dos ramnolipídeos INCQS 4046 contra o petróleo médio para a pressão de 7.000 psi.

Na literatura é possível confirmar que a influência da temperatura torna-se mais acentuada com o aumento da salinidade, que por sua vez, também apresenta influência sobre o valor da tensão interfacial na presença de diferentes surfactantes comerciais (Triton X-100, Triton X-405, Zonyl FSE, etc) (KARNANDA; BENZAGOUTA, 2013).

5.3.2.2 Com utilização de petróleo leve

Utilizando o mesmo procedimento, foi criada uma matriz experimental com os valores de tensão interfacial obtidos pelo surfactante comercial (US) e pelos ramnolipídeos do INCQS 4046 em óleo leve (33,8 °API). Esta matriz encontra-se apresentada na Tabela 5.3.10 abaixo, onde o símbolo T representa a Temperatura (°C), S representa a salinidade (g/L), R representa Ramnolipídeos, U representa Ultrasperse II® e TI representa a tensão interfacial (mN/m). Para este planejamento, a pressão é fixada em 7000 psi em função das condições mínimas de pressão na região do pré-sal e por questões de segurança quanto ao equipamento utilizado (Goniômetro).

Tabela 5.3.10 Matriz experimental com valores de TI do INCQS 4046 e do US nas condições de pré-sal com óleo leve.

Ensaio	T	S	U (TI)	R (TI)
1	66	65	3.7 ±0.0	0.8±0.0
2	66	135	2.7 ±0.0	0.6±0.0
3	94	65	4.1 ±0.0	0.5±0.0
4	94	135	2.5 ±0.0	0.5±0.0
5	60	100	3.6 ±0.0	0.6±0.0
6	100	100	3.8 ±0.0	0.6±0.0
7	80	50	4.3 ±0.0	0.7±0.0
8	80	150	2.6 ±0.0	0.5±0.0
9 ©	80	100	3.7 ±0.0	0.7±0.0
10 ©	80	100	3.7 ±0.0	0.7±0.0
11 ©	80	100	3.7 ±0.0	0.7±0.0
12 ©	80	100	3.7 ±0.1	0.7±0.0

Foi realizada a análise dos coeficientes de regressão e o termo médio obtido para o Ultrasperse II foi de 3,7 mN/m. Avaliando as principais variáveis, observou-se que a salinidade e a temperatura foram significativas em seus termos lineares e quadráticos e foi observada interação entre salinidade e temperatura. A Tabela 5.3.11 abaixo apresenta a análise de variância (ANOVA) do Ultrasperse contra o petróleo leve em condições de pré-sal.

Tabela 5.3.11 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o Ultrasperse contra o petróleo leve em condições de pré-sal.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab}	valor p	R ²	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	3,558	5	0,712	24,15	3,11	6,59×10 ⁻⁴	0,95	7,8
Resíduos	0,177	6	0,029					
Falta de ajuste	0,176800	3	0,058933					
Erro puro	0,001037	3	0,000346					
Total	3,734343	11						

SQ = Soma dos Quadrados; GL = Graus de Liberdade; QM = Quadrado Médio; R² = Coeficiente de Determinação.

Analisando o coeficiente de determinação R² (0,95) e a ANOVA, foi possível constatar a validade do modelo em função do valor de F_{calculado} e de F_{tabelado}, assim como foi possível gerar um modelo capaz de prever os valores de tensão interfacial para as diferentes condições dentro da faixa estudada. O modelo gerado encontra-se representado pela equação abaixo:

$$TI U_{\text{pré-sal}} = 3.70 + 0.07T - 0.08T^2 - 0.63S - 0.21S^2 - 0.15TS$$

Com base no modelo, as curvas de resposta de superfície foram construídas em função da salinidade e temperatura. Em 7.000 psi, os menores valores de tensão interfacial são encontrados na maior salinidade (150 g/L) e com a maior temperatura (100 °C) conforme apresenta a Figura 5.3.5 abaixo. Um aumento na salinidade leva a uma diminuição na solubilidade do surfactante, este fenômeno torna-o menos ionizado e, portanto, suas moléculas adsorvem fortemente na interface óleo-água, diminuindo os valores de tensão interfacial (BERA; MANDAL; GUHA, 2014).

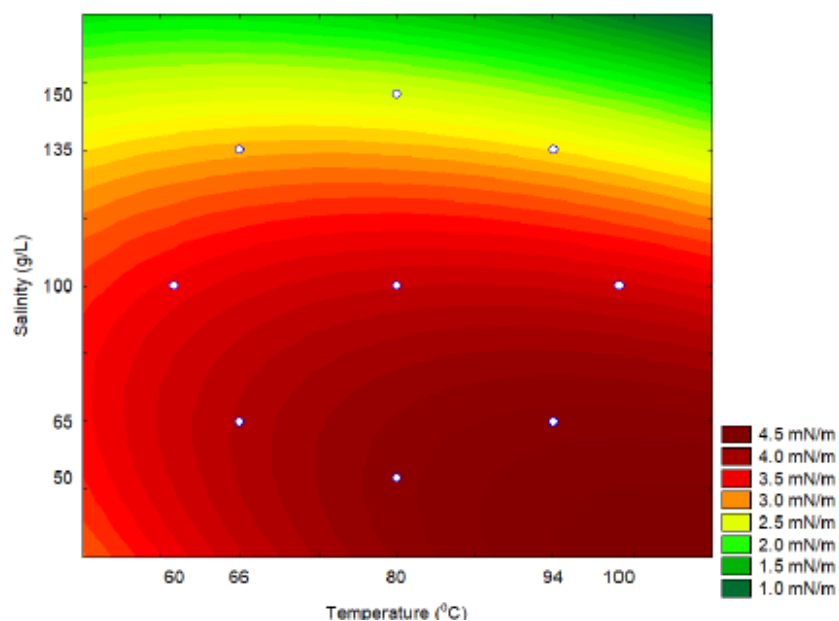


Figura 5.3.5 Curva de resposta de superfície para tensão interfacial do US em óleo leve sob condições de pré-sal (7.000 psi).

De acordo com a análise dos coeficientes de regressão, o termo médio para o ramnolípídeo foi de 0,7 mN/m, o qual foi considerado muito inferior ao apresentado pelo surfactante comercial. Analisando as principais variáveis verificou-se que todas foram significativas em seus termos lineares e quadráticos, apresentando efeito negativo e foi possível observar efeitos de interação entre temperatura e salinidade, apresentando efeito positivo. A Tabela 5.3.12 apresenta abaixo a análise de variância (ANOVA) do ramnolípídeo INCQS 4046 contra o petróleo leve em condições de pré-sal.

Tabela 5.3.12 Análise de variância (ANOVA) do DCCR para o ramnolípídeo INCQS 4046 contra o petróleo leve em condições representativas do pré-sal.

Fonte de Variação	SQ	GL	QM	F _{calc}	F _{tab}	valor p	R ²	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	0,104	5	0,021	11,49	3,11	4,97×10 ⁻³	0,91	3,7
Resíduos	0,011	6	0,002					
Falta de ajuste	0,010885	3	0,003628					
Erro puro	0,000035	3	0,000012					
Total	0,115097	11						

SQ = Soma dos Quadrados; GL = Graus de Liberdade; QM = Quadrado Médio; R² = Coeficiente de Determinação.

Analisando o coeficiente de determinação R^2 (0,91) e a ANOVA, foi possível constatar a validade do modelo em função do valor de $F_{\text{calculado}}$ e de F_{tabelado} , assim como foi possível gerar um modelo capaz de prever valores de tensão interfacial para as diferentes condições dentro da faixa estudada. O modelo gerado encontra-se representado pela equação abaixo:

$$TI_{R_{\text{pré-sal}}} = 0.71 - 0.06T - 0.05 T^2 - 0.06S - 0.06S^2 + 0.07TS$$

Com base no modelo, as curvas de resposta de superfície foram construídas em função da salinidade e temperatura. A 7.000 psi, os valores mais baixos de tensão interfacial são encontrados próximos aos valores mais altos de temperatura com os valores mais baixos de salinidade ou aos menores valores de temperatura com os valores mais altos de salinidade, conforme mostra a Figura 5.3.6 abaixo.

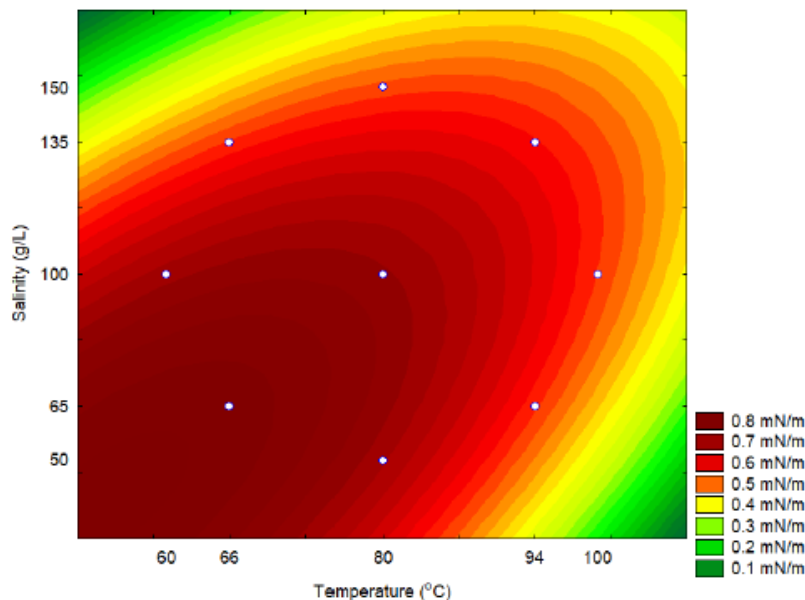


Figura 5.3.6 Curva de resposta de superfície para tensão interfacial do ramnolípídeo em óleo leve sob condições de pré-sal (7.000 psi).

Na literatura é possível encontrar um leve aumento nos valores de TI de ramnolípídeos na faixa de 30-90 °C. Aqui, quando combinado com a salinidade, observa-se uma ligeira diminuição na faixa de 60-100 °C, mostrando uma maior eficácia deste produto quando essas variáveis são combinadas, lideradas por uma interação mais forte entre o óleo e as moléculas de surfactantes (DAOSHAN et al., 2004).

Nas condições do pré-sal avaliadas acima, com a pressão fixada conforme mencionado, pode-se observar que as variáveis temperatura e salinidade foram significativas e se fizeram presentes em todos os modelos gerados, demonstrando a relevante influência que ambas possuem sobre a redução da tensão interfacial. A influência da temperatura se apresenta de modo que o aumento desta promove um aumento da solubilidade do surfactante no meio, desestabilizando as emulsões em função da redução da viscosidade da fase contínua (HOLMBERG et al., 2002; KARCHER, 2008).

Já a salinidade, conforme mencionado anteriormente, promove com o seu aumento uma diminuição na solubilidade do surfactante, tornando-o menos ionizado, fazendo com que suas moléculas adsorvam fortemente na interface óleo-água, diminuindo os valores de tensão interfacial (BERA; MANDAL; GUHA, 2014). Como o comportamento de ambas as variáveis resulta na redução da tensão interfacial e a influência da temperatura torna-se mais acentuada com o aumento da salinidade (KARNANDA; BENZAGOUTA, 2013), pode-se constatar que a combinação destas variáveis pode apresentar uma maior eficácia na redução da tensão interfacial (DAOSHAN et al., 2004).

5.3.3 Resultados

Após todas as análises realizadas na simulação construída, a fim de obter a eficiência do ramnolípídeo e do surfactante comercial, sob condições ambientais (controle), do pós-sal e do pré-sal, utilizando óleo cru médio (28,6°API) e óleo cru leve (33,8 °API) nos experimentos, foi possível construir uma tabela com todos os valores de tensão interfacial apresentadas pelos produtos testados dentro das condições implementadas. Os resultados obtidos encontram-se ilustrados na Tabela 5.3.13 a seguir:

Tabela 5.3.13 Valores de tensão interfacial obtidos nas análises de simulação do reservatório.

Condições	Óleo cru médio	Óleo cru leve	Óleo cru médio		Óleo cru leve	
	Controle (mN/m)	Controle (mN/m)	Pós-Sal (mN/m)	Pré-Sal (mN/m)	Pós-Sal (mN/m)	Pré-Sal (mN/m)
INCQS 4046	2.4	2.2	0.4-0.6	0.6-1.4	0.5-1.0	0.5-0.8
Ultrasperse	5.9	6.9	1.1-2.9	1.4-3.8	0.8-3.7	2.5-4.3

Inicialmente é importante salientar que o valor de tensão interfacial entre o óleo e a água vale aproximadamente 36.4 (mN/m). Portanto, com base nos resultados encontrados é possível concluir que ambos os surfactantes não só mantêm sua efetividade sob condições ambientais encontradas nesses reservatórios, mas também aumentam sua eficácia alcançando valores de tensão interfacial menores do que aqueles encontrados sem valores de pressão, salinidade e temperatura. Além disso, também é possível prever que os ramnolípídeos continuam sendo mais eficazes para esse tipo de aplicação do que o Ultrasperse II® em todos os testes de simulação realizados, sob as condições e faixas estudadas.

6 Conclusão Final

De acordo com os experimentos realizados, podemos concluir que além de apresentar as diversas aplicabilidades de um surfactante, o ramnolípídeo torna-se mais vantajoso frente ao surfactante comercial apresentado (Ultrasperse II). Isto ocorre não apenas em função de sua característica de alta biodegradabilidade e menor toxicidade no que tange ao maior apelo das novas legislações com relação à preservação do meio ambiente, mas também em função da maior eficiência apresentada. Tal aspecto foi verificado no ensaio de inversão de molhabilidade, na qual apresentou bons resultados frente ao surfactante comercial, e também no desempenho demonstrado na redução da tensão interfacial do sistema óleo/água, no planejamento DCCR construído no presente trabalho sob as condições de pós e pré-sal, demonstrando um grande potencial de uso deste biossurfactante para aplicação em EOR.

7 Perspectivas Futuras

Baseando-se nos resultados obtidos neste trabalho, alguns pontos tornam-se importantes para trabalhos futuros:

- ✓ Estudar a eficiência de outros surfactantes comerciais para utilização em EOR;
- ✓ Estudar a eficiência de outros biossurfactantes para utilização em EOR;
- ✓ Estudar outras possíveis aplicações em que os biossurfactantes possam substituir e ser mais efetivos que os surfactantes comerciais.
- ✓ Estudar os possíveis comportamentos das variáveis analisadas, verificando outras possíveis faixas de pressão e temperatura na região do pré-sal.
- ✓ Realizar a simulação do reservatório, utilizando outros softwares ou alterando os níveis de confiança da análise estatística implementada.
- ✓ Calcular as proporções dos produtos que devem ser utilizadas para injetar no reservatório, a fim de promover economia na utilização dos surfactantes e otimização no processo de produção de óleo.
- ✓ Realizar a modelagem do reservatório, a fim de verificar a viabilidade econômica e a aplicação do produto no reservatório.

8 Referências Bibliográficas

ABALOS, A. et al. Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes. **Langmuir**, v. 17, n. 5, p. 1367–1371, 2001.

AHMADI, M. A.; GALEDARZADEH, M.; SHADIZADEH, S. R. Wettability Alteration in Carbonate Rocks by Implementing New Derived Natural Surfactant: Enhanced Oil Recovery Applications. **Transport in Porous Media**, v. 106, n. 3, p. 645–667, 2015.

AMANI, H. et al. Production of microbial rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa* MM1011 for Ex situ enhanced oil recovery. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, n. 5, p. 1080–1093, 2013.

ARAÚJO, M. M. S. DE. Estudo de quebra de emulsões de petróleo utilizando microemulsões e célula de desidratação eletrostática. p. 131, 2004.

B. VANAVIL, M. PERUMALSAMY, AND A. S. R. Biosurfactant Production from Novel Air Isolate NITT6L: Screening, Characterization and Optimization of Media. v. 23, n. 9, p. 1229–1243, 2013.

BANAT, I. M. et al. Biosurfactant production and use in oil tank clean-up. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 80–88, 1991.

BANAT, I. M. Characterization of biosurfactants and their use in pollution removal - State of the Art. (Review). **Acta Biotechnologica**, v. 15, n. 3, p. 251–267, 1995.

BANAT, I. M.; MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. S. Potential commercial applications of microbial surfactants. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 53, n. 5, p. 495–508, 2000.

BARROS, C.; PEREIRA, C.; PASTORE, M. Propriedades emulsificantes e estabilidade do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis* em manipueira. v. 2008, n. 003159, p. 979–985, 2008.

BERA, A. et al. Interfacial tension and phase behavior of surfactant-brine-oil system. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 383, n. 1–3, p. 114–119, 2011.

BERA, A.; MANDAL, A.; GUHA, B. B. Synergistic effect of surfactant and salt mixture on interfacial tension reduction between crude oil and water in enhanced oil recovery. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 59, n. 1, p. 89–96, 2014.

BOGNOLO, G. **Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons**. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. **Anais...**1999.

BUENO, G. F. Produção de biossurfactantes utilizando resíduos agroindustriais como substrato São José do Rio Preto Gisele Ferreira Bueno Produção de biossurfactantes

utilizando resíduos agroindustriais como substrato São José do Rio Preto. 2014.

CAI, B. Y.; YANG, J. T.; GUO, T. M. Interfacial tension of hydrocarbon + water/brine systems under high pressure. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 41, n. 3, p. 493–496, 1996.

CHARLES, A. et al. Characterization and optimization of a rhamnolipid from *Pseudomonas aeruginosa* C1501 with novel biosurfactant activities. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 6, n. July, p. 26–36, 2017.

COOPER, D. G. Biosurfactants. **Microbiological sciences**, v. 3, n. 5, p. 145–9, 1986.

CUI, H. et al. Effects of Various Surfactants on the Dispersion of MWCNTs–OH in Aqueous Solution. **Nanomaterials**, v. 7, n. 9, p. 262, 2017a.

CUI, Q. F. et al. Comparison of in-situ and ex-situ microbial enhanced oil recovery by strain *Pseudomonas aeruginosa* WJ-1 in laboratory sand-pack columns. **Petroleum Science and Technology**, v. 35, n. 21, p. 2044–2050, 2017b.

DALTIN, D. **Tensoativos**. [s.l: s.n.].

DAOSHAN, L. et al. The effect of biosurfactant on the interfacial tension and adsorption loss of surfactant in ASP flooding. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 244, n. 1–3, p. 53–60, 2004.

DE ARAUJO, L. V. et al. Rhamnolipid and surfactin: Anti-adhesion/antibiofilm and antimicrobial effects. **Food Control**, v. 63, p. 171–178, 2016.

DE RIENZO, M. A. D.; MARTIN, P. J. Effect of Mono and Di-rhamnolipids on Biofilms Pre-formed by *Bacillus subtilis* BBK006. **Current Microbiology**, v. 73, n. 2, p. 183–189, 2016.

DESAI, J. D.; BANAT, I. M. 97/02677 Microbial production of surfactants and their commercial potential. **Fuel and Energy Abstracts**, v. 38, n. 4, p. 221, 1997.

ELKAMEL, A.; AHMED, A. S.; KHAN, A. R. The Influence of Temperature , Pressure , Salinity , and Surfactant Concentration on the Interfacial Tension of the N-Octane- Water System. n. November 2013, p. 37–41, 2005.

FARIAS, K. V. et al. Estudo da reologia e espessura do reboco de fluidos de perfuração: influência de dispersantes e umectante aniônicos. **Cerâmica**, v. 52, n. 324, p. 307–314, 2006.

FENDLER, J. H.; TUNDO, P. Polymerized Surfactant Aggregates: Characterization and Utilization. **Accounts of Chemical Research**, v. 17, n. 1, p. 3–8, 1984.

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

FRACCHIA, L. et al. Biosurfactants and Bioemulsifiers Biomedical and Related Applications – Present Status and Future Potentials. n. May 2014, 2012.

- GODDARD, E. D. **Surfactants and interfacial phenomena**. [s.l: s.n.]. v. 40
- GRIFFIN, W. C. Calculation of HLB Values of Non-Ionic Surfactants. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 5, n. 4, p. 249–256, 1954.
- HO, M. et al. Structural and physiochemical characterization of rhamnolipids produced by *Acinetobacter calcoaceticus*, *Enterobacter asburiae* and *Pseudomonas aeruginosa* in single strain and mixed cultures. v. 193, p. 45–51, 2015.
- HOLMBERG, K. et al. **SOLUTION AND POLYMERS IN AQUEOUS**. [s.l: s.n.].
- KARCHER, V. Determinação Experimental da Energia Interfacial de Emulsões de Água em Óleo Pesado. 2008.
- KARNANDA, W.; BENZAGOUTA, M. S. Effect of temperature, pressure, salinity, and surfactant concentration on IFT for surfactant flooding optimization. p. 3535–3544, 2013.
- KRONEMBERGER, F. D. A. et al. Oxygen-controlled biosurfactant production in a bench scale bioreactor. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 147, n. 1–3, p. 33–45, 2008.
- LAN, G. et al. Rhamnolipid production from waste cooking oil using *Pseudomonas*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 101, p. 44–54, 2015.
- LILLIENBERG, L. et al. HEALTH-EFFECTS OF TANK CLEANERS. **AMERICAN INDUSTRIAL HYGIENE ASSOCIATION JOURNAL**, v. 53, n. 6, p. 375–380, 1992.
- LOVAGLIO, R. B. et al. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Rhamnolipid emulsifying activity and emulsion stability : pH rules. v. 85, p. 301–305, 2011.
- MA, K. et al. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology Effects of nutrition optimization strategy on rhamnolipid production in a *Pseudomonas aeruginosa* strain DN1 for bioremediation of crude oil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 6, p. 144–151, 2016.
- MACHADO, S. Avaliação do efeito antimicrobiano do surfactante cloreto de benzalcônio no controlo da formação de biofilmes indesejáveis. **Tese de Mestrado em Tecnologia do Ambiente**, p. 1–129, 2005.
- MARIANA, A.; KNUST, S. Remoção de metais pesados por processos de bioflotação e biossorção. 1997.
- MARMUR, A. Interfaces at equilibrium: A guide to fundamentals. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 244, p. 164–173, 2017.
- MEDINA, D. A. V. et al. Solventes supramoleculares: Uma alternativa na microextração em fase líquida para análises cromatográficas. **Scientia Chromatographica**, v. 9, n. 2, p. 83–100, 2017.

MORIKAWA, M. et al. A new lipopeptide biosurfactant produced by *Arthrobacter* sp. strain MIS38. **Journal of Bacteriology**, v. 175, n. 20, p. 6459–6466, 1993.

MORIKAWA, M.; HIRATA, Y.; IMANAKA, T. A study on the structure-function relationship of lipopeptide biosurfactants. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1488, n. 3, p. 211–218, 2000.

MOUSSA, T. A. A.; MOHAMED, M. S.; SAMAK, N. PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF DI-RHAMNOLIPID PRODUCED BY *Pseudomonas aeruginosa* TMN. v. 31, n. 04, p. 867–880, 2014.

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

MYERS, D. **Surfaces, interfaces, and colloids**. [s.l: s.n.]. v. 4
NITSCHKE, M.; COSTA, S. G. V. A. O. **Biosurfactants in food industry** **Trends in Food Science and Technology**, 2007.

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

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. **Biossurfactantes: Propriedades e aplicações** **Quimica Nova**, 2002b.

PEREIRA, A. G. et al. Optimization of biosurfactant production using waste from biodiesel industry in a new membrane assisted bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 48, n. 9, p. 1271–1278, 2013.

PINTO, M. H.; MARTINS, R. G.; COSTA, J. A. V. AVALIAÇÃO CINÉTICA DA PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTES BACTERIANOS. v. 32, n. 8, p. 2104–2108, 2009.

PUGH, R. J. Foaming, foam films, antifoaming and defoaming. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 64, n. 95, p. 67–142, 1996.

RAUPP, G. ESTABILIZAÇÃO DA TENSÃO SUPERFICIAL DE SOLUÇÕES DE POLI(OXIETILENO) (PEO) EM PRESENÇA E NA AUSÊNCIA DOS SURFACTANTES DODECILSULFATO DE SÓDIO (SDS) E COLATO DE SÓDIO (NaC). 2004.

REIS, R. S. et al. **Biosurfactants : Production and Applications**. 2013.

RODRIGUES, I.; EMMA, A. F.; PRESS, C. R. C. Experimental Design and Process Optimization. v. 94, n. December 2015, p. 22379, 2016.

ROMERO, O. J.; FEJOLI, R. F. Revista Internacional de Métodos Numéricos para Cálculo y Diseño en Ingeniería Utilização de espuma como mecanismo de controle da mobilidade em rochas-reservatório. **Revista Internacional de Métodos Numéricos para Cálculo y Diseño en Ingeniería**, v. 31, n. 4, p. 218–227, 2015.

- ROSENBERG, E.; RON, E. Z. **High- and low-molecular-mass microbial surfactants** *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1999.
- SAFDEL, M. et al. Microbial enhanced oil recovery, a critical review on worldwide implemented field trials in different countries. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 74, p. 159–172, jul. 2017.
- SANTA ANA, L. M. et al. Use of biosurfactant in the removal of oil from contaminated sandy oil. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 82, n. 7, p. 687–691, 2007.
- SANTA ANNA, L. M. et al. Production of biosurfactants from *Pseudomonas aeruginosa* PA1 isolated in oil environments. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 19, n. 2, p. 159–166, 2002.
- SANTA ANNA, L. M. **Produção e utilização de biossurfactantes na biorremediação de solos impactados com petróleo**. [s.l.] Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.
- SANTOS, A. S. et al. Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of rhamnolipids by a strain of *Pseudomonas aeruginosa*. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 98–100, p. 1025–1035, 2002.
- SHARMA, R.; SINGH, J.; VERMA, N. Optimization of rhamnolipid production from *Pseudomonas aeruginosa* PBS towards application for microbial enhanced oil recovery. **3 Biotech**, n. 0123456789, 2017.
- SHENG, J. J. **Modern Chemical Enhanced Oil Recovery**. [s.l: s.n.].
- SHEPPARD, J. D.; MULLIGAN, C. N. The production of surfactin by *Bacillus subtilis* grown on peat hydrolysate. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 110–116, 1987.
- SINGH, A.; VAN HAMME, J. D.; WARD, O. P. **Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects** *Biotechnology Advances*, 2007.
- SONG, B.; SPRINGER, J. Determination of Interfacial Tension from the Profile of a Pendant Drop Using Computer-Aided Image Processing². Experimental. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 184, p. 77–91, 1996.
- THOMAS, J. E. **Fundamentos da Engenharia do Petróleo**, 2001.
- WILLIAM A. GODDARD III et al. Screening Methods for Selection of Surfactant Formulations for Ior From Fractured Carbonate Reservoirs. 2005.
- WITTHAYAPANYANON, A.; HARWELL, J. H.; SABATINI, D. A. Journal of Colloid and Interface Science Hydrophilic – lipophilic deviation (HLD) method for characterizing conventional and extended surfactants. v. 325, p. 259–266, 2008.
- WU, Y. et al. An Experimental Study of Wetting Behavior and Surfactant EOR in Carbonates With Model Compounds. **SPE Journal**, v. 13, n. 01, p. 26–34, 2008.