



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Renata Vicente

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANA CERÂMICA DE ULTRAFILTRAÇÃO E
APLICAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE SURFACTINA OBTIDA UTILIZANDO
MANIPUEIRA COMO SUBSTRATO**

Florianópolis
2022

Renata Vicente

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANA CERÂMICA DE ULTRAFILTRAÇÃO E
APLICAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE SURFACTINA OBTIDA UTILIZANDO
MANIPUEIRA COMO SUBSTRATO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de
Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em
Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alan Ambrosi

Coorientadores: Prof. Dra. Débora de Oliveira

Prof. Dr. Cristiano José de Andrade

Florianópolis

2022

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

Vicente, Renata
DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANA CERÂMICA DE ULTRAFILTRAÇÃO
E APLICAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE SURFACTINA OBTIDA
UTILIZANDO MANIPUEIRA COMO SUBSTRATO / Renata Vicente ;
orientador, Alan Ambrosi, coorientadora, Débora de
Oliveira, coorientador, Cristiano José de Andrade, 2022.
74 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Membranas cerâmicas. 3.
Agente formador de poros. 4. Surfactina. I. Ambrosi, Alan.
II. de Oliveira, Débora. III. de Andrade, Cristiano José
IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Engenharia de Alimentos. V. Título.

Renata Vicente

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANA CERÂMICA DE ULTRAFILTRAÇÃO E
APLICAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE SURFACTINA OBTIDA UTILIZANDO
MANIPUEIRA COMO SUBSTRATO**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros por **videoconferência gravada**:

Prof. Dr. Marco Di Luccio
Membro interno - UFSC

Profa. Dra. Isabel Cristina Tessaro
Membro externo - UFRGS

Dra. Ana Paula Resende Simiqueli
Membro externo – LFDA-SP/MAPA

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Engenharia de Alimentos.

Prof. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira
Coordenadora do Programa

Prof. Dr. Alan Ambrosi
Orientador

Florianópolis, 2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pela vida e saúde.

À minha família por todo o suporte e encorajamento. Principalmente à minha irmã Bruna que está ao meu lado em todos os momentos, sejam eles bons ou ruins.

Aos meus amados orientadores, que me acolheram e deram suporte quando eu “estava perdida”. Obrigada por acreditarem no meu potencial até mesmo quando eu descreditei. Vocês foram incríveis durante todo o trabalho e certamente eu estive ao lado dos melhores! Em especial ao Alan, que foi uma grata surpresa no meu mestrado, e que além de orientador se tornou um ótimo amigo que vou levar para a vida.

À Karina e à Vanessa, que me auxiliaram e apoiaram durante o desenvolvimento do trabalho. Serei eternamente grata a vocês.

Ao Paulo, que realizou as análises de HPLC, e nos aturou diversas vezes insistindo por meses até que as análises finalmente dessem certo.

Ao Professor Sérgio Yesid González, que através do PROCER, ofereceu os aditivos e disponibilizou o forno para a produção das membranas. Além das dicas e orientações durante as inúmeras tentativas de obter tubos íntegros.

À Professora Isabel Tessaro que, ainda em meio às restrições da pandemia, forneceu materiais para os testes iniciais, ao Pedro Garcia, da Almatís, pela alumina. Muito obrigada!

Aos meus amigos Leonardo Luz, Ana Carolina, Helena, Isabella e Letícia, por todo o incentivo e torcida desde a graduação. Em especial ao Anderson, que desde o início da pós-graduação me acolheu e me deu suporte nos momentos que eu mais precisei.

Aos colegas do LABSEM, por todas as conversas e discussões positivas.

Ao Programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos e à Universidade Federal de Santa Catarina.

À FAPESC. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina.

E, por fim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e para meu crescimento pessoal e profissional.

"Durante toda a minha vida, as novas descobertas sobre a natureza me alegraram
como uma criança."

(Marie Curie)

RESUMO

O desenvolvimento de processos de separação mais econômicos e eficientes é fundamental para as indústrias que dependem desta operação unitária. Neste sentido, destaca-se a aplicação de membranas, visto a baixa demanda energética operacional, bem como a alta eficiência e seletividade, sendo assim possível substituir parcial ou integralmente as dispendiosas técnicas convencionais de purificação. As membranas podem ser desenvolvidas a partir de diferentes materiais, geometrias, e métodos de produção. Dessa forma, é possível a obtenção de membranas com alta especificidade em relação a um determinado processo. As membranas cerâmicas têm se destacado frente as membranas poliméricas, pois apresentam vantagens como maior resistência química e vida útil, além de serem menos susceptíveis à incrustação de natureza orgânica, comum em diversas áreas. A surfactina é um dos surfactantes de origem biológica de maior relevância industrial, visto a elevada atividade tensoativa (superficial e interfacial), bem como propriedades biológicas específicas. Sua produção requer diversas etapas de processamento para separação e purificação a partir do meio de cultura. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar membranas cerâmicas, usando carvão ativado como agente formador de poros, para subsequente purificação da surfactina produzida a partir da manipueira como meio de cultura alternativo. Primeiramente, foram caracterizados os materiais utilizados na produção da membrana (alumina e carvão ativado) quanto ao tamanho de partículas. Na sequência, foram preparadas suspensões com diferentes concentrações de carvão e os tubos foram moldados utilizando a técnica de *centrifugal casting*, secados e sinterizados. A influência da concentração de carvão como agente formador de poros foi avaliada em relação à retração linear e diametral, morfologia, porosidade aparente, permeância hidráulica e retenção de proteína BSA. De acordo com os resultados obtidos, a membrana sem carvão ativado foi selecionada para a purificação de surfactina. O desempenho da purificação foi avaliado por meio do fluxo de permeado e pela relação surfactina/proteína no concentrado. A análise dos resultados demonstrou que o uso de carvão ativado levou ao aumento da porosidade e da permeância hidráulica das membranas, porém houve insatisfatória (< 90%) retenção do BSA. A membrana cerâmica preparada sem carvão ativado apresentou redução do fluxo de permeado desprezível ao purificar a surfactina até um fator de redução de volume igual a 2,0, quando o processo foi finalizado. A baixa redução no fluxo de permeado indica que o processo pode ser conduzido a um fator de redução de volume maior que o obtido, até que seja necessária a sua interrupção para limpeza. A membrana cerâmica foi capaz de reter 91,5% da surfactina presente e obter pureza de 35,2%. Para maior grau de pureza da surfactina, estratégias adicionais devem ser adotadas.

Palavras-chave: Membrana inorgânica. Agente formador de poros. Biosurfactante.

ABSTRACT

Developing more cost-effective and efficient separation processes is critical for all industries. In this sense, the application of membranes stands out, given the low operational energy demand, as well as the high efficiency, making it possible to replace the expensive conventional purification techniques partially or fully. Membranes can be developed from different materials, geometries, and production methods. In this way, it is possible to obtain membranes with high specificity in relation to a given process. Regarding the base materials, membranes can be classified as organic (polymeric) or inorganic, with emphasis on ceramic membranes. Ceramic membranes have advantages such as greater chemical resistance and useful life, besides being less susceptible to fouling of organic nature when compared to polymeric membranes. Surfactin is one of the most industrially relevant surfactants of biological origin, given its high surfactant activity (surface and interfacial), as well as specific biological properties. Therefore, the objective of this work was to develop and characterize ceramic membranes incorporated with activated carbon as a pore-forming agent for subsequent purification of surfactin produced from cassava as an alternative culture medium. First, the materials used in the membrane preparation (alumina and activated carbon) were characterized in terms of particle size. Subsequently, suspensions with different concentrations of carbon were prepared and the tubes were molded using the centrifugal casting technique, dried, and sintered. The influence of carbon concentration as a pore-forming agent was evaluated in relation to linear and diametral shrinkage, morphology, apparent porosity, hydraulic permeance, and BSA protein retention. Finally, the without activated carbon membrane was selected for surfactin purification. Purification performance was evaluated through the permeate flux and the surfactin/protein ratio in the concentrate. The analysis of the results showed that the use of activated carbon led to an increase in the porosity and hydraulic permeance of the membranes, but there was unsatisfactory (< 90%) retention of BSA. The ceramic membrane prepared without activated carbon showed negligible permeate flux reduction when purifying surfactin to a volume reduction factor of 2.0. The low reduction in permeate flux indicates that the process can be carried out in longer times until it is necessary to interrupt the process for cleaning. The ceramic membrane was able to retain 91.5% of the surfactin present and obtain a purity of 35.2%. For higher surfactin purity, additional strategies must be adopted.

Keywords: Inorganic membrane. Pore former agent. Biosurfactant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema representativo de um processo de separação por membranas.	18
Figura 2 – Esquema representativo da filtração convencional (a) e tangencial (b).....	18
Figura 3 – Esquema representativo das diferentes morfologias de membranas.....	20
Figura 4 – Equipamento <i>centrifugal casting</i> e esquema representativo da configuração das partículas da pasta cerâmica antes e após a rotação.	29
Figura 5 – Esquema representativo das etapas de secagem, calcinação e sinterização do tratamento térmico no preparo de membranas cerâmicas.	30
Figura 6 – Esquema representativo do uso de agentes formadores de poros na matriz cerâmica.....	32
Figura 7 – Fluxograma das análises de retenção e grau de pureza da surfactina após a permeação.....	44
Figura 8 – Sobrenadante vertido dos moldes após rotação nas velocidades de 4.000, 6.000 e 8.000 rpm.....	46
Figura 9 – Testes de formulações com diferentes concentrações de dispersante Darvan C-N e ligante Mowilith.	47
Figura 10 – Sobrenadante vertido dos moldes após rotação de 8000 rpm, das diferentes formulações.	48
Figura 11 – Delaminação na membrana produzida com 8,5% de ligante e 1,7% de dispersante.	48
Figura 12 – Distribuição de tamanho de partícula da alumina CT3000SG.....	49
Figura 13 – Distribuição de tamanho de partícula do carvão ativado.	50
Figura 14– Interno dos tubos verdes após secagem, M00 (a), M25 (b), M50 (c) e M75 (d). ..	50
Figura 15 – Tubos verdes após desmolde, (a) M00, (b) M25, (c) M50 e (d) M75, produzidos com velocidade de rotação de 8000 rpm.	51
Figura 16 – Micrografias da seção transversal das membranas M00, M25, M50 e M75 com ampliação de 25 x.	54
Figura 17 – Micrografias da superfície interna das membranas M00, M25, M50 e M75 com ampliação de 500 x e 5000 x.	55

Figura 18 – Resultados de porosidade aparente de membranas incorporadas com carvão ativado como agente formador de poros nas concentrações de 0,0% (M00), 2,5% (M25), 5,0% (M50) e 7,5% (M75) em massa de alumina.	56
Figura 19 – Efeito na permeância hidráulica de membranas incorporadas com carvão ativado como agente formador de poros nas concentrações de 0,0% (M00), 2,5% (M25), 5,0% (M50) e 7,5% (M75).	57
Figura 20 – Efeito na retenção de BSA de membranas incorporadas com carvão ativado como agente formador de poros nas concentrações de 0,0% (M00), 2,5% (M25), 5,0% (M50) e 7,5% (M75).	59
Figura 21 - Fluxo de permeado em função do fator de redução do volume com duplicata de membrana, utilizando pressão de operação de 1 bar, temperatura de 25 °C e velocidade de escoamento de 1,5 L·min ⁻¹	60
Figura 22 - Amostras da fração de alimentação (A), concentrado (C) e permeado (P), da solução contendo surfactina produzida por <i>Bacillus subtilis</i> em manimuirá como meio de cultura, filtrada em membrana cerâmica, na temperatura de 25 °C, até fator de redução de volume igual a 2.	62
Figura 23 - Amostras da fração de concentrado (C) e permeado (P), após o processo de permeação da solução contendo surfactina produzida por <i>Bacillus subtilis</i> em manimuirá como meio de cultura, filtrada em membrana cerâmica, na temperatura de 25 °C, até fator de redução de volume igual a 2.	63

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Processos de separação por membranas, suas características e aplicações.	22
Quadro 2 – Agentes formadores de poros e a porosidade aparente obtida.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição acumulada dos diâmetros de partículas da alumina CT3000SG e do carvão ativado.....	49
Tabela 2 - Efeito da adição do carvão como agente formador de poros na retração linear e diametral das membranas durante os processos de secagem a 25 °C e sinterização a 1.275 °C.	52

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	OBJETIVO GERAL	16
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS	17
2.1.1	Classificação das membranas	19
2.1.2	Principais processos de separação por membranas e aplicações	20
2.1.3	Desempenho de membranas	23
2.1.3.1	<i>Fluxo de permeado e permeabilidade hidráulica.....</i>	23
2.1.3.2	<i>Seletividade e retenção</i>	24
2.1.3.3	<i>Polarização por concentração e fouling</i>	25
2.2	MEMBRANAS CERÂMICAS X MEMBRANAS POLIMÉRICAS	26
2.3	MEMBRANAS CERÂMICAS	27
2.3.1	Produção de membranas cerâmicas.....	28
2.3.1.1	<i>Centrifugal Casting</i>	29
2.3.1.2	<i>Tratamento térmico</i>	30
2.3.1.3	<i>Agentes formadores de poros</i>	31
2.4	APLICAÇÃO DE MEMBRANAS NA RECUPERAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE BIOSURFACTANTES	34
3	MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1	MATERIAL.....	37
3.2	MÉTODOS	37
3.2.1	Testes preliminares	37
3.2.2	Tamanho de partículas.....	38
3.2.3	Preparação das suspensões	38

3.2.4	Preparo das membranas	39
3.2.5	Retração linear e diametral	40
3.2.6	Morfologia	40
3.2.7	Porosidade aparente	41
3.2.8	Permeância hidráulica.....	41
3.2.9	Retenção à proteína BSA	42
3.2.10	Purificação de surfactina	43
3.2.11	Quantificação da surfactina.....	44
3.2.12	Análise estatística.....	45
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4.1	TESTES PRELIMINARES	46
4.2	TAMANHO DE PARTÍCULAS	48
4.3	PREPARO DAS MEMBRANAS	50
4.4	RETRAÇÃO LINEAR E DIAMETRAL	52
4.5	MORFOLOGIA.....	53
4.6	POROSIDADE APARENTE	56
4.7	PERMEÂNCIA HIDRÁULICA	57
4.8	RETENÇÃO DA PROTEÍNA BSA.....	58
4.9	PURIFICAÇÃO DA SURFACTINA.....	59
5	CONCLUSÃO.....	64
6	REFERÊNCIAS.....	65
	APÊNDICE A - Produção da surfactina	73

DIAGRAMA CONCEITUAL

Desenvolvimento de membrana cerâmica de ultrafiltração e aplicação na concentração de surfactina obtida utilizando manipueira como substrato

O quê?

- Estudo do desenvolvimento de uma membrana cerâmica via *centrifugal casting* para a concentração de surfactina produzida com manipueira como meio de cultura alternativo.
- Estudo da incorporação de carvão ativado como agente formador de poros em membrana à base de alumina.

Por quê?

- Apesar das membranas cerâmicas apresentarem vantagens em relação às membranas poliméricas, sua participação no mercado é pequena devido ao seu alto custo e complexidade no processo de produção.
- A técnica de *centrifugal casting* permite a produção de membranas assimétricas em apenas uma etapa de conformação.
- A incorporação de agentes formadores de poros na suspensão cerâmica pode melhorar o desempenho hidráulico das membranas.
- A surfactina é um dos biossurfactantes de maior relevância industrial, no entanto o elevado custo associado à recuperação e purificação ainda inviabilizam a produção em larga escala.
- Membranas cerâmicas, que ainda não foram investigadas no processo de recuperação e purificação da surfactina, são uma alternativa promissora.

O que já existe?

- Membranas cerâmicas com desempenho hidráulico melhorado com a incorporação de diferentes agentes formadores de poros.
- Membranas poliméricas de ultrafiltração aplicadas no processo de recuperação e purificação de surfactina, em uma ou duas etapas de filtração.
- Apenas um estudo sobre a aplicação da ultrafiltração no processo de recuperação e purificação de surfactina produzida em meio de cultura alternativo.

Hipóteses

- É possível desenvolver uma membrana de ultrafiltração via *centrifugal casting*, capaz de reter a surfactina.
- A incorporação de carvão ativado como agente formador de poros melhora o desempenho hidráulico de membranas obtidas via *centrifugal casting*.
- A membrana cerâmica preparada apresenta bom desempenho no processo de recuperação e purificação da surfactina produzida em meio de cultura alternativo.

1 INTRODUÇÃO

A aplicação de membranas é crescente industrialmente, particularmente na indústria química, de alimentos e farmacêutica. A separação por membranas apresenta potencial para substituição parcial e integral de processos convencionais como destilação, adsorção, absorção, extração e cristalização, pois apresenta vantagens como a baixa demanda energética operacional e alta eficiência na separação, concentração e purificação de compostos.

Um dos exemplos recentes sendo investigado é a aplicação da ultrafiltração na concentração e purificação de surfactina proveniente de processos fermentativos. A surfactina é um dos biosurfactantes de maior relevância industrial, visto a elevada atividade tensoativa (super e interfacial), bem como propriedades biológicas específicas (antiviral, antibiótica e antitumoral, por exemplo). No entanto, os custos de produção da surfactina, principalmente o processo de recuperação e purificação (60 % custo total) impedem a produção em escala industrial (ANDRADE, C. J. DE *et al.*, 2016). Diversos pesquisadores têm avaliado o uso de membranas poliméricas na purificação da surfactina, uma vez que poderia diminuir o número de etapas de purificação e tornar o processo de produção contínuo.

Atualmente, as membranas poliméricas são industrialmente predominantes, visto as etapas de produção serem mais simples e terem menor custo quando se comparam às membranas cerâmicas. Por outro lado, as membranas cerâmicas são quimicamente mais resistentes, ou seja, apresentam um número maior de ciclos operacionais (limpeza-aplicação), e por isso têm conquistado espaço em diversas aplicações.

Em relação à geometria, as membranas cerâmicas tubulares se destacam por oferecer alta facilidade de limpeza e substituição, e melhor vedação do sistema, quando comparadas às membranas planas. De forma geral, as membranas usualmente utilizadas industrialmente são do tipo assimétricas, ou seja, são compostas por camadas que desempenham funções específicas; a camada seletiva é responsável pela retenção dos compostos de tamanho maior que o tamanho dos poros, enquanto a camada suporte, geralmente com poros maiores, não influencia na seletividade e apresenta função estrutural de fornecer resistência mecânica à membrana. Tradicionalmente, a construção de membranas assimétricas por meio de técnicas como a prensagem, a extrusão e o *slip casting*, envolve a deposição de uma camada por vez, com aplicação de tratamento térmico após a deposição de cada camada, assim trata-se de um processo bastante oneroso. No entanto, a técnica de *centrifugal casting* é uma alternativa promissora, pois permite produzir membranas assimétricas a partir de uma única etapa no

processo de conformação. Neste contexto, as características das membranas cerâmicas podem ser aperfeiçoadas a partir da manipulação da formulação da suspensão cerâmica, como adicionando agentes formadores de poros ou ainda, modificando as condições de processamento.

Levando em consideração o explicitado, este trabalho propôs investigar o preparo de membranas cerâmicas de ultrafiltração e a sua aplicação na purificação da surfactina produzida com manipueira como meio de cultura alternativo. Apesar de apresentar diversas vantagens sobre as membranas poliméricas, as membranas cerâmicas não haviam sido investigadas para a purificação de surfactina até o momento.

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver e caracterizar membranas cerâmicas tubulares produzidas via *centrifugal casting* para posterior purificação da surfactina produzida por *Bacillus subtilis* ATCC 6633 e manipueira como meio de cultura alternativo.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os seguintes objetivos específicos foram delineados:

- preparar membranas cerâmicas assimétricas de ultrafiltração via *centrifugal casting*;
- investigar o efeito da incorporação de carvão ativado como agente formador de poros (morfologia, porosidade, permeância hidráulica e retenção);
- avaliar a purificação da surfactina, produzida com manipueira como meio de cultura alternativo, a partir das membranas cerâmicas preparadas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

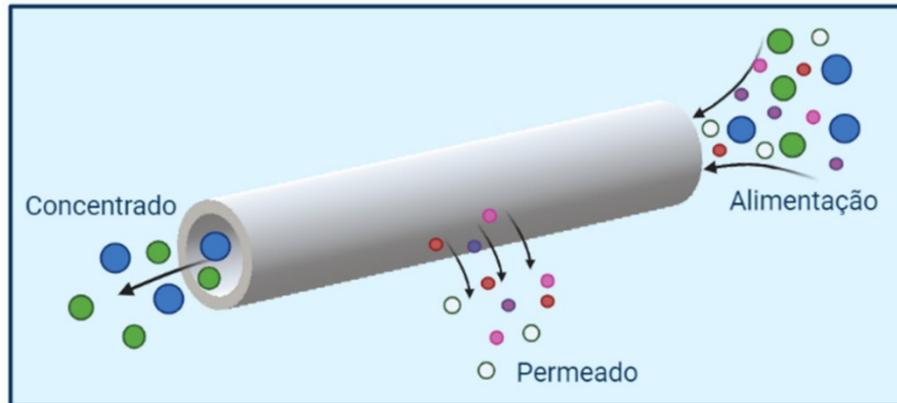
Esta seção aborda a revisão bibliográfica relacionada aos fundamentos teóricos e aos principais trabalhos relacionados ao tema desta pesquisa, incluindo os principais processos de separação por membranas e aplicações, classificação e desempenho de membranas, um comparativo entre membranas cerâmicas e poliméricas, produção de membranas cerâmicas e a aplicação de membranas no processo de recuperação e purificação de surfactina.

2.1 PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS

Conquistando cada vez mais mercado, com aplicação em diversos setores como na indústria química, de alimentos e farmacêutica, os processos de separação por membranas apresentam diversas vantagens sobre outros processos de separação convencionais como destilação, adsorção, absorção, extração e cristalização. Sua principal vantagem se deve à alta seletividade e menor demanda de energia para o processo, visto que não envolve o fenômeno de mudança de fase, tornando-os alternativas economicamente atrativas (BISSETT, 2005; GITIS; ROTHENBERG, 2016; ROCHA, 2021). Além disso, os processos que utilizam a tecnologia de membranas oferecem ainda simplicidade de operação (não necessitam de mão-de-obra intensiva) e escalonamento, e são adequados para a separação de compostos termolábeis (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

Os processos de separação por membranas são baseados no princípio de aplicar uma barreira (membrana) para restringir total ou parcialmente o transporte de uma ou mais espécies de interesse, com o objetivo de concentrar, separar e/ou purificar componentes de interesse em uma corrente de alimentação (GITIS; ROTHENBERG, 2016). Como mostrado na Figura 1, para que ocorra a separação, uma ou mais espécies presentes inicialmente na corrente de alimentação atravessam a membrana (denominado permeado ou filtrado) enquanto outra fração é retida (concentrado ou retido).

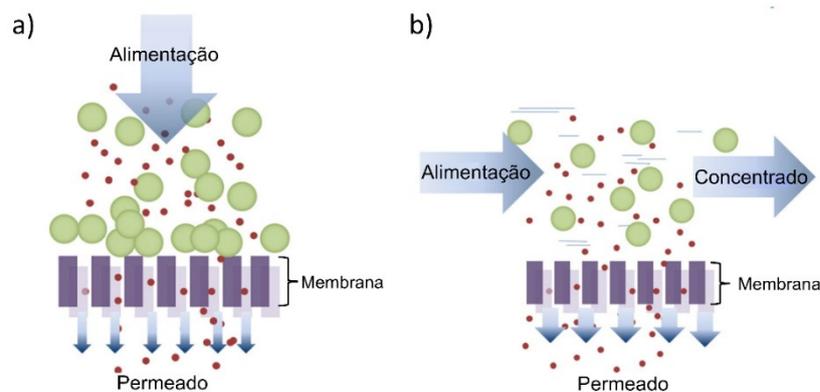
Figura 1 – Esquema representativo de um processo de separação por membranas.



Fonte: Adaptado de VICENTE *et al.* (2021)

Para que uma espécie seja transportada através da membrana, é necessária a existência de uma força motriz, como gradiente de pressão, temperatura ou de concentração (MULDER, 1991). Ainda, um processo de separação por membranas pode ser operado em duas diferentes configurações de escoamento: convencional (*dead-end*) (Figura 2.a) ou tangencial (*crossflow*) (Figura 2.b).

Figura 2 – Esquema representativo da filtração convencional (a) e tangencial (b).



Fonte: Adaptado de TSIBRANSKA e TYLKOWSKI (2013).

A operação no modo convencional ocorre de forma que a solução esco perpendicularmente à superfície da membrana, enquanto no modo tangencial esse escoamento ocorre de forma paralela. O processo realizado de modo tangencial é mais eficiente devido ao menor acúmulo de substâncias próximo à superfície da membrana (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006; MULDER, 1991).

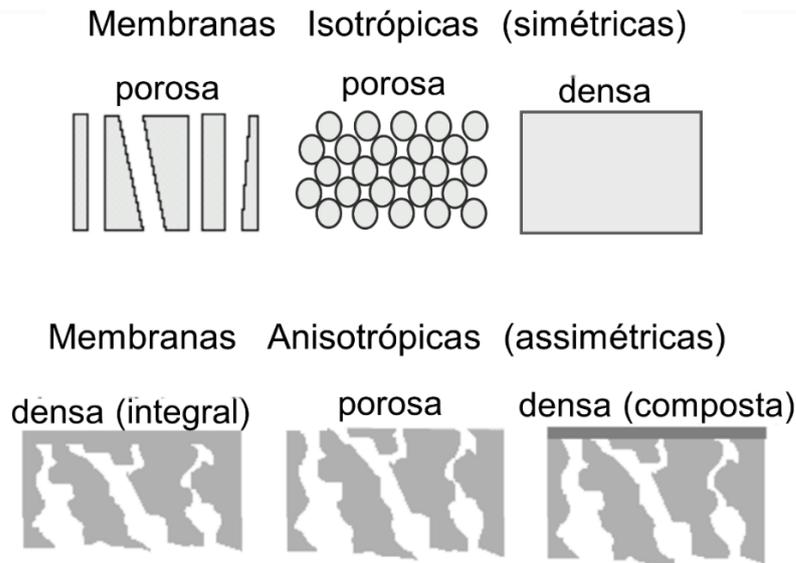
2.1.1 Classificação das membranas

Existem diversas categorias que permitem a classificação de membranas, sejam elas relacionadas ao tipo de material utilizado em sua fabricação, às características morfológicas da membrana, ou até mesmo à sua geometria.

De acordo com o material do qual as membranas são produzidas, elas podem ser classificadas como orgânicas, inorgânicas ou híbridas (matriz mista orgânica-inorgânica) (LEE; ELAM; DARLING, 2016). As membranas orgânicas são produzidas a partir de polímeros (como acetato de celulose (CA), fluoreto de polivinilideno (PVDF), polissulfona (PS), polietersulfona (PES), entre outros) e, atualmente ainda dominam o mercado de membranas, principalmente pelo seu baixo custo de produção e por serem menos frágeis no manuseio em comparação com as inorgânicas (BAKER, 2012; GITIS; ROTHENBERG, 2016; LEE; ELAM; DARLING, 2016). Por sua vez, as membranas inorgânicas (produzidas em cerâmica, vidro ou metal) vêm despertando maior interesse por apresentarem vantagens como a maior resistência térmica e química, permitindo maior número de ciclos de limpeza e vida útil mais longa (BAKER, 2012; GITIS; ROTHENBERG, 2016).

Em relação à morfologia, as membranas podem ser classificadas como densas e porosas e, ainda, dentro dessas categorias, serem divididas entre simétricas (isotrópicas) e assimétricas (anisotrópicas) (Figura 3). As membranas simétricas apresentam as mesmas características morfológicas ao longo de toda a sua seção transversal, enquanto as membranas assimétricas apresentam diferenças morfológicas na estrutura ao longo da espessura, incluindo uma fina camada de topo (ou camada seletiva) suportada por uma estrutura porosa. Se ambas as estruturas forem compostas pelo mesmo material são chamadas de integrais; se os materiais forem distintos, são denominadas de compostas (BAKER, 2012; HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006). Apresentar uma camada seletiva extremamente fina é de interesse comercial, pois o fluxo permeado é inversamente proporcional à espessura da camada seletiva, que se apresenta como uma resistência ao escoamento do fluido. No transporte das espécies através de uma membrana densa, a separação ocorre principalmente devido à diferença de afinidade com material da membrana, enquanto nas membranas porosas, a separação acontece devido à diferença de tamanho entre as espécies presentes e os poros da membrana.

Figura 3 – Esquema representativo das diferentes morfologias de membranas.



Fonte: HABERT, BORGES e NOBREGA (2006).

Quanto à geometria, as membranas podem ser divididas entre cilíndricas (como as membranas tubulares ou fibras ocas) e planas (como as membranas na forma de placas) (BAKER, 2012; GITIS; ROTHENBERG, 2016; LUQUE; GÓMEZ; ÁLVAREZ, 2008). Apesar de oferecer menor densidade de empacotamento (razão entre a área de membrana e o volume do módulo), as membranas tubulares oferecem maior facilidade de limpeza e manutenção.

2.1.2 Principais processos de separação por membranas e aplicações

Para definir o tipo de processo no qual determinada membrana poderá ser utilizada, é necessário conhecer características como porosidade, tamanho dos poros e morfologia inerentes a esta. O processo de microfiltração (MF), assim como a ultrafiltração (UF), utiliza membrana do tipo porosa (BAKER, 2012; GITIS; ROTHENBERG, 2016), enquanto a membrana utilizada na nanofiltração (NF) pode ser porosa ou com uma fina camada densa sobre um suporte poroso. Ainda, as membranas utilizadas nos processos de osmose inversa, separação de gases e pervaporação, são principalmente do tipo densa composta (BAKER, 2012).

Vale ressaltar que as membranas, especialmente as de ultrafiltração, são frequentemente caracterizadas e comercializadas em termos de sua massa molecular de corte

(MMC) (LAU *et al.*, 2019). A MMC de uma membrana é definida como a menor massa molecular de um soluto para o qual a membrana é capaz rejeitar pelo menos 90 % (BRUGGEN, 2018; LEE; ELAM; DARLING, 2016). Para um processo de separação eficiente, é recomendado que a massa molecular da menor espécie a ser retida seja o dobro da MMC da membrana utilizada no processo (por exemplo, se a menor espécie a ser retida tiver massa molar de 100 kDa, é aconselhável usar uma membrana de 50 kDa para promover o processo de separação) (LEE; ELAM; DARLING, 2016; VICENTE *et al.*, 2021).

Com relação à força motriz, a maioria dos processos de separação por membranas utiliza o gradiente de pressão, porém, dependendo do processo aplicado, essa separação ocorre devido a um gradiente de concentração, de potencial elétrico ou pressão de vapor, como descrito no Quadro 1.

Quadro 1 – Processos de separação por membranas, suas características e aplicações.

Processo	Força motriz	Material retido	Material que permeia	Aplicações
Microfiltração (MF)	ΔP (0,5 – 2 atm)	Material em suspensão, bactérias. Massa molar > 500 kDa (0,01 μm).	Água e sólidos dissolvidos	Esterilização bacteriana; clarificação de vinhos e cervejas; concentração de células; oxigenação de sangue.
Ultrafiltração (UF)	ΔP (1 – 7 atm)	Coloides, macromoléculas. Massa molar > 5 kDa	Água (solvente), sais solúveis de baixa massa molar	Fracionamento/concentração de proteínas, recuperação de pigmentos/óleos.
Nanofiltração (NF)	ΔP (5 – 25 atm)	Moléculas de massa molar média $500 < MM < 2 \text{ kDa}$	Água, sais e moléculas de baixa massa molar	Purificação de enzimas; biorreatores a membrana.
Osmose inversa (OI)	ΔP (15 – 80 atm)	Todo material solúvel ou em suspensão	Água (solvente)	Dessalinização de águas; concentração de suco de frutas; desmineralização de águas
Diálise (D)	ΔC	Moléculas de massa molar > 5 kDa	Íons e orgânicos de baixa massa molar	Hemodiálise; rim artificial; recuperação de NaOH.
Eletrodiálise (ED)	ΔE	Macromoléculas e compostos não iônicos	Íons	Concentração de soluções salinas; purificação de águas.
Permeação de gases (PG)	$\Delta P \rightarrow \Delta C$	Gás menos permeável	Gás mais permeável	Recuperação de hidrogênio; separação CO_2/CH_4 ; fracionamento do ar.
Pervaporação (PV)	Pressão de vapor	Líquido menos permeável	Líquido mais permeável	Desidratação de álcoois; eliminação de VOC da água.

Fonte: HABERT, BORGES e NOBREGA (2006).

Apesar de já serem aplicados em muitos processos industriais, os processos como a eletrodialise, a pervaporação e a permeação de gases ainda se encontram em constante desenvolvimento (BERTOTTO, 2019).

2.1.3 Desempenho de membranas

O desempenho de uma membrana é determinado principalmente pelos parâmetros fluxo permeado ou permeabilidade, e rejeição a um dado soluto. O primeiro determina quantitativamente o quão rápido o permeado atravessa a membrana, enquanto o segundo representa a seletividade da membrana quantificando o quão bem determinados compostos são rejeitados. É necessário que a incrustação (*fouling*) da membrana seja minimizada, para que seja mantida sua permeabilidade e rejeição satisfatórias durante o processo. Além disso, parâmetros como temperatura, velocidade de escoamento, fator de concentração ou grau de purificação, força motriz, e viscosidade também afetam o transporte através da membrana (BILAD; ARAFAT; VANKELECOM, 2014).

2.1.3.1 Fluxo de permeado e permeabilidade hidráulica

O fluxo volumétrico de permeado (J) da membrana é descrito pela vazão de permeado (Q) por unidade de área de permeação (A), como apresentado na Equação 1, sendo usualmente representado nas unidades [$L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$] ou [$m \cdot s^{-1}$].

$$J = \frac{Q}{A} \quad (1)$$

Em processos de separação por membranas que utilizam a diferença de pressão como força motriz em membranas porosas, é comum aplicar a lei de Darcy, que determina o fluxo em meios porosos pelo modelo das resistências, resultando na expressão matemática dada pela Equação 2:

$$J = L_p \cdot \frac{\Delta P}{l} \quad (2)$$

sendo J ($L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$) o fluxo de permeado, L_p ($L \cdot m^{-1} \cdot h^{-1} \cdot bar^{-1}$) o coeficiente de permeabilidade hidráulica, ΔP a pressão transmembrana (bar) e l a espessura da membrana (m).

Uma vez que dificilmente a espessura da camada seletiva de membranas assimétricas é conhecida com exatidão, a razão entre o coeficiente de permeabilidade hidráulica e a espessura da membrana pode ser expressa como permeância hidráulica (K , em $L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1} \cdot bar^{-1}$), conforme a Equação 3:

$$K = \frac{L_p}{l} \quad (3)$$

Substituindo a Equação 2 na Equação 3, obtém-se a permeância hidráulica como o coeficiente angular da reta obtida pela relação do fluxo de permeado em função da pressão, como representado na Equação 4:

$$J = K \cdot \Delta P \quad (4)$$

2.1.3.2 Seletividade e retenção

Em soluções aquosas, a seletividade de uma membrana está diretamente relacionada à sua capacidade em reter determinado soluto presente inicialmente na solução de alimentação.

No cálculo de retenção da membrana, são relacionadas as concentrações do soluto de interesse na alimentação (C_a) e no permeado (C_p). Logo, existe um obstáculo para o cálculo da retenção real da membrana (R_{real}), que é a dificuldade de obtenção da concentração do soluto na região de camada limite próximo à superfície da membrana (C_m) em ambos os lados (fração de alimentação e fração de permeado), uma vez que é inerente do processo um ligeiro aumento na concentração imediatamente nas superfícies. Então, a retenção da membrana é dada em termos de retenção observada (R_{obs}), como apresentado na Equação 5. Sendo assim, para que a R_{obs} seja o mais próximo possível da R_{real} , adota-se a técnica de aumentar a velocidade de escoamento do fluido no sistema e operar em baixas pressões para que a diferença entre a concentração na superfície da membrana e no volume total da fração seja minimizada (BERTOTTO, 2019; CAUSSERAND *et al.*, 2004).

$$R_{obs} = 1 - \frac{C_p}{C_a} \quad (5)$$

Desta forma, se $R_{obs}=0$, a concentração do soluto de interesse no permeado é igual na alimentação, quer dizer que a membrana não apresenta capacidade seletiva para a espécie em questão. Por outro lado, se $R_{obs}=1$, significa que toda a espécie de interesse ficou retida na

membrana, demonstrando alta seletividade para esta substância (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

2.1.3.3 Polarização por concentração e fouling

O principal problema associado ao uso de membranas nos processos de separação é a redução do fluxo de permeado ao longo do tempo, e que pode ser ocasionado por diversos fatores. Dentre estes fatores, destacam-se a polarização por concentração e a incrustação (*fouling*) que geram uma maior resistência ao transporte de fluidos através da membrana. Ainda, esses fatores estão diretamente relacionados ao tipo de processo e da solução de alimentação empregada (MULDER, 1991).

A polarização por concentração é um fenômeno reversível e ocorre devido ao acúmulo de espécies rejeitadas pela membrana próximo à superfície desta, formando um gradiente de concentração, que por sua vez promove a difusão dos solutos no sentido oposto ao permeado; como resultado desta ação, o fluxo de permeado é reduzido. Este efeito pode ser reduzido com o aumento da velocidade de escoamento tangencial da corrente de alimentação, evitando o acúmulo destas espécies sobre a superfície da membrana (BAKER, 2012; HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006; MULDER, 1991).

O *fouling*, assim como a polarização por concentração, também reduz o fluxo de permeado. No entanto, este é um fenômeno total ou parcialmente irreversível, gerado pelas interações físicas e químicas entre os componentes da solução e a membrana (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006). O *fouling* pode ser dividido em quatro categorias: inorgânico, coloidal, orgânico e biológico (*biofouling*).

A incrustação inorgânica ocorre quando há excesso de espécies inorgânicas (como sais) em solução ao ponto de extrapolar o limite de solubilidade, o que faz com que precipitem na superfície da membrana. Apesar de ser o tipo de incrustação menos comum, pode ocorrer também pela interação entre íons e outros materiais incrustantes como os polímeros orgânicos. A incrustação coloidal ocorre pelo acúmulo de partículas e coloides, como argilas, na superfície da membrana causando um declínio no fluxo de permeado; porém, neste tipo de incrustação, boa parte deste fluxo pode ser recuperado com limpeza hidráulica. O *fouling* orgânico é causado por solutos orgânicos, como as proteínas, que representam significativa preocupação na biopurificação e na indústria de alimentos. Esta classe de incrustantes causa danos por meio de interações complexas soluto-solvente-membrana, através de ligação eletrostática,

liofílica/liofóbica, estérica e covalente. A incrustação biológica resulta da fixação de microrganismos na membrana, que se multiplicam e produzem substâncias poliméricas extracelulares (um gel viscoso), dando origem aos biofilmes nas superfícies das membranas (BAKER, 2012; GITIS; ROTHENBERG, 2016).

Segundo Lee *et al.* (2013), a natureza inorgânica das membranas cerâmicas (principal representante da classe das membranas inorgânicas), confere a elas menor interação com a matéria orgânica em comparação com as membranas poliméricas, sendo então menos afetadas pela incrustação irreversível.

2.2 MEMBRANAS CERÂMICAS X MEMBRANAS POLIMÉRICAS

Atualmente, as membranas poliméricas ainda dominam o mercado de separação por membranas, principalmente por seu processo de fabricação ser mais simples e mais barato em comparação com aquelas produzidas em cerâmica (GITIS; ROTHENBERG, 2016). Essas discrepâncias nos custos e na complexidade dos processos de produção ainda podem ser justificadas devido ao desenvolvimento recente das membranas cerâmicas. Logo, é muito provável que o custo de produção destas diminua à medida que a demanda por membranas mais robustas aumenta e o seu processo de fabricação seja otimizado. Essa trajetória é muito semelhante à observada para as membranas poliméricas no passado (HOTZA *et al.*, 2020; ZHENG; GALJAARD; SHORNEY-DARBY, 2015), nas quais, ao longo dos anos, as membranas foram capazes de substituir ou complementar técnicas tradicionais como o uso de terra diatomácea na clarificação de cerveja e vinho (DAUFIN *et al.*, 2020; RAYESS *et al.*, 2020), ganhando participação no mercado gradativamente.

Comparadas às membranas poliméricas, as membranas cerâmicas são quimicamente mais resistentes, toleram ampla faixa de pH, permitem limpezas mais severas e maior número de ciclos de limpeza, o que resulta em maior vida útil (GITIS; ROTHENBERG, 2016); isso as torna mais atrativas economicamente, pois exigem menor frequência de substituição e, conseqüentemente, menores custos de desconexão (HOTZA *et al.*, 2020).

Outro ponto essencial a ser considerado é a incrustação das membranas e, como citado na *Seção 2.1.3.3*, devido à natureza inorgânica das membranas cerâmicas, elas interagem menos com a matéria orgânica do que as membranas poliméricas, sendo menos afetadas pela incrustação irreversível (LEE *et al.*, 2013). No estudo de Lee e Kim (2014), foi comparada a

eficiência da limpeza física e química de membranas cerâmicas e poliméricas submetidas à incrustação de material orgânico. Os autores obtiveram recuperação do desempenho de 70% para a membrana cerâmica e 25% para a membrana polimérica.

Atualmente, existe um crescente consenso sobre as vantagens das membranas cerâmicas, o que contribui para maior adesão por parte das indústrias para implementação em instalações em grandes escalas. Elas são tecnologias estabelecidas em indústrias de alimentos e bebidas, e estão sendo aplicadas de forma expressiva no tratamento de água e esgoto no Japão, sendo os Estados Unidos um novo adepto desta tecnologia para a mesma finalidade. Além disso, representam soluções definitivas no processo de separação de gases, e gradualmente entram no mercado de tratamento de efluentes (GITIS; ROTHENBERG, 2016).

Corroborando com isto, o *Research and Markets* publicou um relatório em junho de 2021, que tem o título “*Global Ceramic Membrane Market 2021-2025*”, em que indicam, com base nos últimos anos e nas tendências de mercado, que o mercado de membranas cerâmicas deve crescer em US \$ 3,09 bilhões no período compreendido entre 2021 e 2025, com uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de mais de 11% durante o período de previsão; reforçando as perspectivas para este mercado (RESEARCH MARKETS, 2021).

2.3 MEMBRANAS CERÂMICAS

As membranas cerâmicas são compostas por óxidos metálicos como alumina, sílica, titânia e zircônia, e dispostas em módulos na forma de folha plana, tubular (mono/multicanal e fibra oca), ou favo de mel (BAKER, 2012; GITIS; ROTHENBERG, 2016; LUQUE; GÓMEZ; ÁLVAREZ, 2008).

A estrutura da membrana pode apresentar uma ou mais camadas, produzidas ainda com um ou mais materiais cerâmicos, que conferem diferentes porosidades e tamanhos de poros. Essas camadas são chamadas de camada suporte (estrutura macroporosa que fornece resistência mecânica), intermediária (mesoporosa) e seletiva (microporosa ou densa), sendo que essas duas últimas são responsáveis pela separação das espécies de interesse; essas camadas dão origem a uma estrutura assimétrica que também podem ser chamadas de gradual ou hierárquica (BIRON; SANTOS; ZENI, 2018; PABBY; RIZVI; SASTRE, 2015). Logo, essas características estruturais, como tamanho e distribuição dos poros, forma, tortuosidade,

interconectividade e densidade, afetam diretamente o fluxo de permeado e seletividade da membrana (BERTOTTO, 2019), conferindo maior ou menor resistência ao transporte de massa.

Segundo Caro (2016), em membranas assimétricas, o aumento do tamanho dos poros ao longo da seção transversal minimiza a resistência à transferência de massa no fluxo de permeado, o que requer menor pressão para manter o mesmo fluxo de permeado. Por vezes, a produção dessas membranas assimétricas é realizada pela deposição de camada a camada e isso exige controle rígido para evitar o bloqueio de poros ativos.

Dentre as geometrias disponíveis para as membranas cerâmicas, a mais usual é a geometria tubular, pois oferecem maior facilidade de limpeza e substituição, e melhor vedação do sistema, quando comparadas àquelas de geometria plana (GITIS; ROTHENBERG, 2016).

2.3.1 Produção de membranas cerâmicas

O desenvolvimento e aprimoramento dos processos de produção de membranas cerâmicas tem sido o objetivo de muitas pesquisas ao longo dos últimos anos, visando a redução dos custos de produção dessa barreira seletiva para que sua implementação em grandes instalações seja cada vez mais viável.

O processo de produção de uma membrana cerâmica é dividido, basicamente, em três etapas: o preparo da suspensão ou pasta cerâmica, a moldagem na geometria desejada e o tratamento térmico. A seguir, dependendo das características desejadas da membrana, pode ser feita a deposição de outra camada de material, seguida por outro processo térmico (WESCHENFELDER, 2015).

Existem diversas técnicas que podem ser utilizadas para produzir uma membrana (GITIS; ROTHENBERG, 2016). Porém, as técnicas convencionais mais citadas na literatura são a prensagem, a extrusão e o *slip casting* (BERTOTTO, 2019). No entanto, o uso destas técnicas para produzir membranas hierárquicas requer o processo de deposição de camada por camada, e necessita uma etapa de tratamento térmico após cada deposição para que possa ser feito o próximo revestimento. O custo energético desse processo é responsável por boa parcela do custo total de produção (CARO, 2016; CARO; NOACK, 2010).

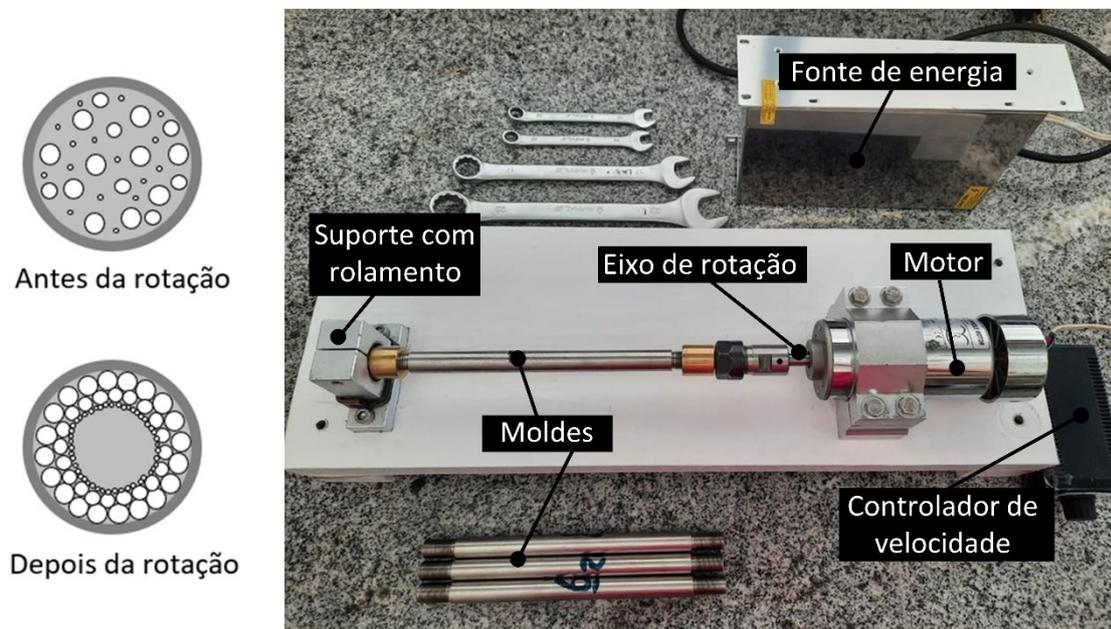
Uma forma de contornar este problema é utilizar a técnica de *centrifugal casting*. O método é baseado no processo geralmente usado para moldar cilindros metálicos de paredes finas, onde o metal fundido é centrifugado contra a parede interna do molde em alta velocidade

e se solidifica após o resfriamento. O mesmo processo pode ser aplicado para moldar membranas tubulares assimétricas em uma única etapa (BIESHEUVEL *et al.*, 2001; CARO, 2016; MERTINS; KRUIDHOF; BOUWMEESTER, 2005).

2.3.1.1 *Centrifugal Casting*

A técnica consiste na introdução de uma suspensão ou pasta cerâmica em um molde tubular, sendo este rotacionado para formar um campo de força centrífuga que favorece a separação sólido-líquido (como representado na Figura 4), a fim de produzir uma estrutura relativamente densa. A principal característica do método de *centrifugal casting* é a alta densidade de empacotamento das partículas e segregação por tamanho de partícula ou densidade formando um gradiente no tamanho de partículas, e conseqüentemente no tamanho de poros, ao longo da seção transversal (MERTINS; KRUIDHOF; BOUWMEESTER, 2005).

Figura 4 – Equipamento *centrifugal casting* e esquema representativo da configuração das partículas da pasta cerâmica antes e após a rotação.



Fonte: Autor (2022)

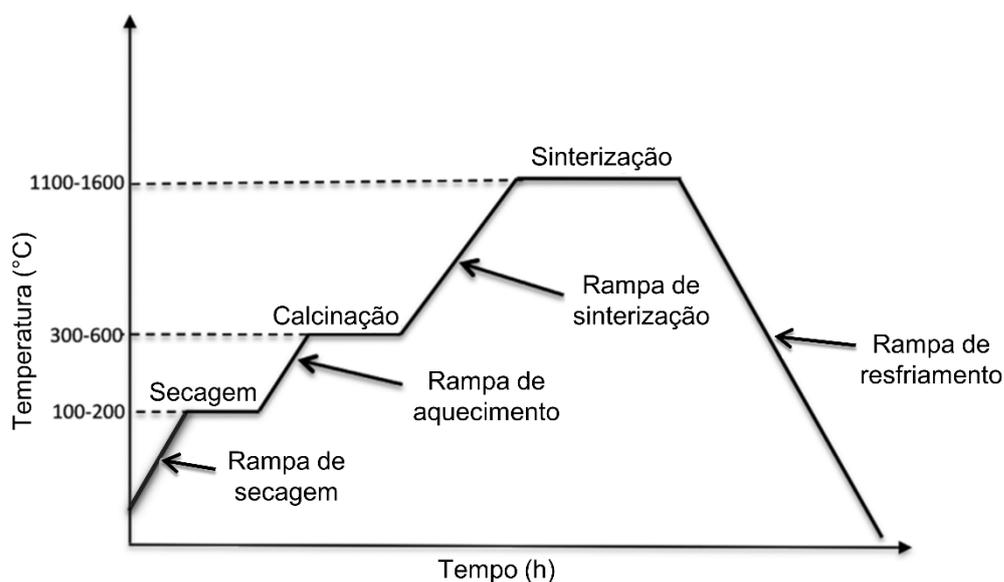
Após a rotação, o líquido que se separa da massa cerâmica, agora chamado de sobrenadante, é vertido e descartado. Na sequência, o tubo segue para o processo de secagem onde ocorrerá uma leve retração do material cerâmico e o tubo (agora denominado de corpo

verde) se desprende do molde e segue para a etapa de pirólise e sinterização (NIJMEIJER, 1999).

2.3.1.2 Tratamento térmico

Após o processo de moldagem e obtenção do corpo verde, é necessário realizar o tratamento térmico, no qual serão atribuídas as propriedades finais da membrana ou da camada depositada quando o processo é feito camada por camada. O tratamento térmico é dividido em três etapas – secagem, calcinação e sinterização – as quais são realizadas em temperaturas diferentes e com rampas de aquecimento para evitar defeitos e para que a etapa ocorra por completo, como apresentado na Figura 5, (GITIS; ROTHENBERG, 2016).

Figura 5 – Esquema representativo das etapas de secagem, calcinação e sinterização do tratamento térmico no preparo de membranas cerâmicas.



Fonte: Adaptado de GITIS e ROTHENBERG (2016).

A secagem é a etapa em que ocorre a evaporação do solvente, enquanto a rede de grãos é mantida em ordem, apenas os aproximando pela perda do solvente. Esta etapa pode ser em temperatura ambiente ou em temperaturas mais elevadas, no entanto, quando realizada da primeira forma, requer um tempo muito maior. Na sequência, passa-se para a etapa de calcinação, na qual serão removidos os aditivos orgânicos, como ligantes, dispersantes e

agentes formadores de poros. A remoção incompleta ou incorreta destes aditivos pode gerar defeitos na membrana. A última etapa, é a sinterização, e este é o último estágio em que a microestrutura final pode ser alterada. Nesta última etapa, ocorre a consolidação do material cerâmico através do aquecimento do corpo verde a temperaturas por volta de 50 a 90% da temperatura de fusão dos grãos na ausência de um líquido (GITIS; ROTHENBERG, 2016).

Na sinterização, inicialmente dois grãos vizinhos começam a formar um pescoço entre eles e se tornam um novo aglomerado; esse processo inicia a densificação, causa retração e diminui a porosidade. O crescimento dos grãos causa o encolhimento dos poros, que podem chegar a desaparecer (GITIS; ROTHENBERG, 2016; LI, 2007).

Logo, como citado anteriormente, a etapa de sinterização é o último estágio em que a microestrutura final pode ser alterada, e os parâmetros utilizados durante esta etapa, como tempo e temperatura de sinterização, são fatores determinantes das características do produto. A influência da temperatura de sinterização sobre a porosidade de membrana de alumina preparadas por *centrifugal casting* foi estudada por Bertotto *et al.* (2019), que sinterizaram as membranas nas temperaturas de 1450 °C e 1500 °C e perceberam que esse incremento de 50 °C na temperatura foi suficiente para reduzir a porosidade aparente de 7% para 2,6%. Em um estudo conduzido por Bissett, Zah e Krieg (2008), foram produzidas membranas de alumina AKP-15, também pela técnica de *centrifugal casting*, sinterizadas nas temperaturas de 1050 e 1400 °C; como resultado, obtiveram uma redução no tamanho dos poros de 100 nm para 70 nm com o aumento da temperatura.

2.3.1.3 Agentes formadores de poros

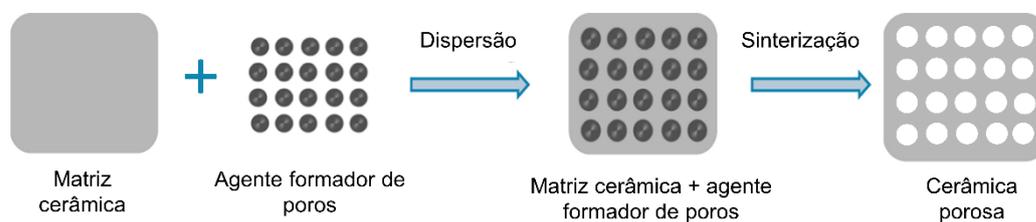
O processo de sinterização promove o encolhimento dos poros devido à diminuição da área superficial da cerâmica, e em materiais cerâmicos, esses poros podem ser do tipo aberto ou fechado. Os poros abertos ou interligados apresentam contato com a superfície externa do material, enquanto os poros fechados ficam isolados no interior da matriz (DUTRA; PONTES, 2002).

Além dos poros naturalmente presentes, formados entre as partículas do material que compõe a estrutura da membrana, é possível adicionar agentes formadores de poros, para aumentar a porosidade e conseqüentemente gerar um ganho na permeabilidade. Porém, esse aumento na porosidade pode gerar menor resistência mecânica, chegando até na inutilização da

membrana (ZHU *et al.*, 2015). Portanto, o uso desses agentes porogênicos deve ser feito de forma bastante controlada.

Os agentes porogênicos são geralmente compostos de natureza orgânica, que quando submetidos ao tratamento térmico (etapa de calcinação) em temperatura entre 200 e 600 °C, se decompõem. Portanto, os espaços antes ocupados por estes agentes, dão origem a uma rede de poros (LORENTE-AYZA *et al.*, 2016; STUART *et al.*, 2006), como mostrado na Figura 6.

Figura 6 – Esquema representativo do uso de agentes formadores de poros na matriz cerâmica.



Fonte: Adaptado de Dele-Afolabi *et al.* (2017).

Quadro 2 – Agentes formadores de poros e a porosidade aparente obtida.

Agente formador de poros	Quantidade do formador de poros (%)	Temperatura de sinterização (°C)	Porosidade aparente (%)	Material da matriz cerâmica	Referência
Fibras de polipropileno	0 5 10 20 (*)	1200	0,7 5,2 13,2 21,6	Alumina	PRADO, 2014
Casca de arroz (< 75 µm)	5 10 15 20 30 40 (**)	1700	14,00 16,00 20,00 33,00 40,27 46,55	Alumina	MOHANTA <i>et al.</i> , 2014
Fosfato natural (< 150 µm)	10* 20* 40* (***)	1100	4,1 14,6 28,1	Argila vermelha	MOUIYA <i>et al.</i> , 2018
Controle Carvão de bambu Grafite Amido	0* 5* 5* 5* (***)	1650	27,55 28,52 28,96 34,87	Alumina	YANG <i>et al.</i> , 2018
Amido	0* 3* 5* 8* (***)	1650	27,55 28,58 34,87 38,48	Alumina	YANG <i>et al.</i> , 2018
Carvão ativado (≈ 300 nm)	0 5 10 15 20 (***)	1000	44,1 47,0 48,8 51,8 57,0	Carbeto de silício e zeólita	JIANG <i>et al.</i> , 2020

* - % em volume de sólidos totais

** - % em massa do material da matriz cerâmica

*** - % em massa total

Yang et al. (2018) relataram que em membranas produzidas com 8% de amido como formador de poros, a diminuição na resistência mecânica foi muito mais expressiva do que o aumento na porosidade, em comparação com as formulações com menor quantidade do formador de poros. Em outro estudo, Prado (2014) relatou que a amostra que continha em sua composição quantidade de formador de poros (fibras de polipropileno) acima de 10%, resultou em amostras quebradiças e com aspecto esfarelado.

Logo, é importante salientar que outros aspectos, além do aumento de porosidade, devem ser considerados para avaliar a viabilidade do processo de produção e quão adequadas são as membranas obtidas para o processo de separação ao qual serão destinadas.

2.4 APLICAÇÃO DE MEMBRANAS NA RECUPERAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE BIOSSURFACTANTES

Os surfactantes são compostos que podem ser de origem sintética (produzidos a partir do petróleo) ou biológica (produzido por organismos animais, plantas e principalmente por microrganismos), sendo este último conhecido como biossurfactante. Os tensoativos apresentam em sua estrutura uma fração polar (hidrofílica) e uma fração apolar (hidrofóbica), que permite a interação com fluidos imiscíveis, reduzindo as tensões superficial e interfacial. Tal característica lhes permite atuar em uma ampla gama de aplicações em diversos setores industriais, como emulsificantes, detergentes, lubrificantes, espumantes, biopesticidas, solubilizantes, entre outros (BOGNOLO, 1999; HENKEL; HAUSMANN, 2019; JAUREGI; KOURMENTZA, 2019; JOY; RAHMAN; SHARMA, 2017).

O mercado de biossurfactantes vem crescendo sendo a principal justificativa para este crescimento a gradual conscientização do consumidor, que busca cada vez mais alternativas ecologicamente corretas, menos tóxicas e com maior biodegradabilidade. Assim, os fabricantes são estimulados a buscarem alternativas de processos e ingredientes mais ecológicos ao produzirem seus produtos. Além disso, leis ambientais cada vez mais rígidas favorecem o crescimento do mercado de biossurfactantes (AHUJA; SINGH, 2020; VICENTE *et al.*, 2021). A exemplo disto, tem-se o Regulamento nº 648/2004 da Comissão Europeia, que estabelece que somente tensoativos que apresentem pelo menos 60% de biodegradabilidade em 28 dias, serão permitidos em detergentes (EUROPEAN COMMISSION, 2000).

Recentemente, com a pandemia do coronavírus, houve imposições de fechamento de unidades fabris em todo o mundo, o que prejudicou o abastecimento de matéria-prima em diversos setores industriais, incluindo o de biossurfactantes. Com isso, os biossurfactantes podem ter seu uso reduzido em defensivos agrícolas, campos petrolíferos ou indústrias têxteis até que tudo se estabilize novamente. No entanto, para conter o surto do vírus, a estratégia de *lockdown* foi adotada, e as pessoas passaram a permanecer mais tempo em casa, o que aumentou o uso de produtos de higiene e cuidados pessoais e de limpeza doméstica. Sendo assim, a busca por versões mais verdes nesses tipos de produtos também aumentou consideravelmente (AHUJA; SINGH, 2020).

Em relação aos biossurfactantes, os lipopeptídeos, principalmente os produzidos por *Bacillus* sp., se destacam por suas propriedades antibióticas e de atividade superficial (MAIER, 2003). Entre estes, a surfactina é considerada a principal representante do grupo dos lipopeptídeos e atualmente é conhecido por ser um dos biossurfactantes mais eficazes na redução da tensão superficial (CHEN *et al.*, 2020). Além disso, a surfactina possui ação antibiótica (*E. coli*, *S. marcescens*, entre outros) (DAS; MUKHERJEE; SEN, 2008), antiviral (*Rhabdoviridae*, *Herpesviridae*, *Togaviridae*) (KRACHT *et al.*, 1999), anticâncer (leucemia, mama, cólon, pele e câncer de fígado) (MEENA; SHARMA, A.; KANWAR, 2020; WU *et al.*, 2017), antifúngica (*Mucor* sp., *Aspergillus niger*, entre outros) (MEENA *et al.*, 2020), e anti-inflamatória (CAMEOTRA; MAKKAR, 2004; ZHAO *et al.*, 2017), comprovando seu potencial para uso como agentes farmacêuticos (MEENA; KANWAR, 2015).

Apesar do seu potencial, o alto custo de produção e a baixa produtividade da surfactina dificultam sua produção em escala industrial. Ao longo das últimas décadas, diversos estudos foram realizados com foco em estratégias de redução de custos de produção como o uso de resíduos agroindustriais como substrato (ANDRADE *et al.*, 2016; BARROS; PONEZI; PASTORE, 2008; GURJAR; SENGUPTA, 2015; ROCHA *et al.*, 2020; SCHMIDT *et al.*, 2021) e/ou desenvolvimento e otimização de métodos de recuperação e purificação de surfactina (ANDRADE *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2008; CHEN; CHEN; JUANG, 2007; MUKHERJEE; DAS; SEN, 2006; NAJMI *et al.*, 2018; SEN; SWAMINATHAN, 2005).

Apenas um artigo focado em mais de uma dessas estratégias no mesmo trabalho foi encontrado. No trabalho, é associado o emprego de um processo com membrana polimérica diretamente ao uso de um meio de cultura complexo (resíduos agroindustriais) para produzir a surfactina. O principal obstáculo encontrado foi o excesso de proteínas proveniente do caldo

complexo, que acarretou um baixo grau de pureza da surfactina obtida (ANDRADE *et al.*, 2016).

Para promover a separação da surfactina do caldo de fermentação é necessário utilizar técnicas que a diferenciem das demais moléculas presentes. Neste caso, as propriedades dos biossurfactantes, como a formação de micelas, são úteis para a separação (DESAI; BANAT, 1997; LIN; JIANG, 1997), principalmente quando esta for feita através do uso de membranas. Estudos recentes provaram que a ultrafiltração (UF) pode recuperar de forma eficiente (>59%) utilizando membranas de PES com MMC ≤ 300 kDa (JAUREGI *et al.*, 2013) e purificar surfactina (até 96%) com membranas de PES ou de celulose regenerada com MMC ≥ 10 kDa (ISA; FRAZIER; JAUREGI, 2008). As membranas de UF possuem faixa de tamanho de poros adequados para a retenção de micelas de surfactina, que são estruturas esféricas estáveis que possuem diâmetros entre 0,005 e 0,105 μm (JAUREGI *et al.*, 2013; ZANOTTO *et al.*, 2019).

Apesar de as membranas cerâmicas apresentarem vantagens sobre as membranas poliméricas, como dito nas seções anteriores, apenas dois estudos que utilizam membranas cerâmicas na purificação de biossurfactantes foram encontrados. O primeiro estudo foi realizado por Boyd *et al.* (1999), que fez o isolamento de fosfolipídios de soro de queijo Cheddar utilizando membranas cerâmicas; no entanto, o foco do trabalho foi a caracterização do produto isolado e a comparação com fosfolipídios isolados de soro comercial, e não o processo de membrana. Hsu *et al.* (2013) usaram com sucesso uma membrana de aerogel de carbono para remover fosfolipídios do óleo de *Jatropha curcas*.

Mais detalhes sobre o processo de purificação de surfactina utilizando membranas, o estado da arte e as perspectivas futuras podem ser encontradas no artigo de revisão científica escrito pela autora desse trabalho e publicado em 2021:

- VICENTE, R.; DE ANDRADE, C. J.; DE OLIVEIRA, D. A prospection on membrane-based strategies for downstream processing of surfactin. *Chemical Engineering Journal*. (2021) 415.129067. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.129067>.

Considerando o exposto, este trabalho visa desenvolver uma membrana de matriz cerâmica para a purificação de surfactina proveniente de um caldo complexo, onde a manipuladora foi utilizada como meio de cultura.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esta seção aborda os materiais e métodos utilizados na produção e caracterização das membranas cerâmicas, bem como os materiais e métodos utilizados no ensaio de permeação e caracterização da surfactina obtida.

3.1 MATERIAL

Os tubos cerâmicos foram produzidos utilizando α -alumina comercial CT3000SG com tamanho de partícula de 0,3-0,6 μm ($> 99\%$ de Al_2O_3 , Almatis GmbH, GER), dispersante polimetacrilato de amônio (Darvan C-N, Vanderbilt, USA), ligante acrílico (Mowilith LDM 6138, Clariant, BRA), antiespumante à base de polímero silicone (Antifoam Y-30 Emulsion, Sigma-Aldrich, USA), carvão ativado (MV Química, BRA) e água destilada.

Como desmoldante, foi utilizada vaselina sólida (Sigma-Aldrich, USA) e éter de petróleo 30-60 P.A (Êxodo científica – BRA).

O teste de retenção foi realizado com albumina de soro bovino (BSA) ($\geq 96\%$, Sigma-Aldrich, USA). Foi adquirida surfactina com grau de pureza $\geq 98\%$ (Sigma-Aldrich, USA) para calibração do sistema na análise de quantificação de surfactina.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Testes preliminares

Inicialmente, foram testados diferentes desmoldantes para a produção das membranas, recobrando o interior dos moldes com os diferentes produtos. Os testes foram realizados com os desmoldantes sem silicone KR (Implastec - BRA), silicone aerossol (Implastec – BRA), *Dry lube spray* com PTFE (WD-40 Company - USA) e solução de éter de petróleo com 10% (m/m) de vaselina. A solução de éter de petróleo e vaselina foi preparada misturando os dois componentes sob agitação magnética por 10 minutos para completa solubilização da vaselina.

Além disso, foram analisadas também diferentes velocidades de rotação a fim de definir a velocidade mais adequada para a conformação e com menor perda de material no sobrenadante vertido. Foram avaliadas as velocidades de 4.000, 6.000 e 8.000 rpm.

Ainda, devido à fragilidade dos tubos cerâmicos e com o objetivo de evitar trincas causadas por aglomerados de alumina, foi testado o uso de ligante nas concentrações de 1,5 e

8,5% (em massa de alumina) e dispersante nas concentrações de 0,3 e 1,7% (em massa de alumina), fazendo combinações entre eles, resultando em quatro experimentos:

Experimento 1: 1,5% de ligante e 0,3% de dispersante

Experimento 2: 8,5% de ligante e 0,3% de dispersante

Experimento 3: 1,5% de ligante e 1,7% de dispersante

Experimento 4: 8,5% de ligante e 1,7% de dispersante

3.2.2 Tamanho de partículas

As análises de distribuição de tamanho de partículas da α -alumina CT3000SG e do carvão ativado foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas (LINDEN - UFSC), utilizando uma centrífuga analítica LUMiSizer® (LUM GmbH, GER) e empregando o método por sedimentação líquida centrífuga, com capacidade de detecção de tamanhos de partículas na faixa de 0,010 – 1000 μm . A técnica consiste em medir a luz transmitida em função do tempo e da posição radial (em relação ao centro de rotação) em toda a extensão da amostra. Os perfis de transmissão em função da posição obtidos caracterizam a cinética de sedimentação da amostra e, com base nesses dados, a distribuição do tamanho de partícula é calculada com o *software* SEPView.

Para a realização da análise, as amostras de α -alumina e de carvão ativado foram dispersas em água destilada na concentração de 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, e submetidas ao banho de ultrassom por 15 minutos. Durante as análises foram obtidos 200 perfis com os parâmetros fixados em temperatura de 25 °C, velocidade de rotação de 1000 rpm e intervalo de tempo de 10 segundos entre as medidas.

3.2.3 Preparação das suspensões

As suspensões foram preparadas com 25% em volume de alfa-alumina, 1,5% (em massa de alumina) de ligante Mowilith LDM 6138, 0,3% (em massa de alumina) de dispersante Darvan C-N, 0,5% (em massa de alumina) de antiespumante, 2,5, 5,0 e 7,5% (em massa de alumina) de carvão ativado e água deionizada. Uma suspensão controle, sem carvão, também foi preparada. As membranas produzidas receberam as seguintes denominações: M00

(membrana controle), M25 (membrana com 2,5% de carvão), M50 (membrana com 5,0% de carvão) e M75 (membrana com 7,5% de carvão). As quantidades de carvão foram determinadas em testes prévios.

Inicialmente, as suspensões foram preparadas misturando o dispersante e a água deionizada, com agitação mecânica a aproximadamente 100 rpm, durante 10 minutos. Ainda mantida sob agitação, foi acrescentada a alumina pouco a pouco à mistura e mantida por 30 minutos. Então, foi acrescentado o carvão e agitado por mais 10 minutos. Após, foi acrescentado o ligante, e na sequência o antiespumante. A mistura foi mantida sob agitação por 8 horas, deixada em repouso por aproximadamente 14 horas, e agitada novamente por 2 horas, antes de iniciar o processo de moldagem. Todo o processo de preparo da suspensão foi realizado em temperatura ambiente.

3.2.4 Preparo das membranas

Inicialmente, foi preparada solução de éter de petróleo com 10% (m/m) de vaselina sólida, e mantida sob agitação magnética por 10 minutos para completa solubilização da vaselina. Na sequência, a solução foi vertida em uma das extremidades do molde cilíndrico e este foi girado manualmente para espalhar a solução por toda a superfície interna.

A suspensão preparada foi adicionada aos moldes preenchendo aproximadamente 85% do volume interior do molde cilíndrico (moldes com 12 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro), que foram rotacionados a 8.000 rpm por 15 minutos, em seguida o sobrenadante foi vertido. A secagem dos tubos foi realizada durante 3 dias a aproximadamente 70% de umidade e 25 °C. A umidade foi controlada utilizando solução salina saturada de NaCl.

Após o desmolde, os tubos verdes (não sinterizados) foram tratados termicamente em forno mufla, utilizando taxa de aquecimento de 1 °C·min⁻¹ até 100 °C e mantido nesta temperatura por 60 minutos para secagem completa. Na sequência a eliminação de orgânicos foi realizada a uma taxa de 5 °C·min⁻¹ até 600 °C, sendo mantido por 60 minutos, e por fim, procedeu-se o aquecimento de 600 °C até 1.275 °C a 5 °C·min⁻¹ para sinterização, com permanência de 90 minutos no patamar de 1.275 °C.

3.2.5 Retração linear e diametral

As retrações linear e diametral foram obtidas relacionando as dimensões, antes e após a secagem, e antes e após a sinterização das membranas cerâmicas produzidas com diferentes concentrações agente porogênico (carvão ativado). Para a obtenção das medidas, foi utilizado paquímetro digital modelo 100.170 (Digimess, CHN).

A retração linear (R_l) foi obtida, em termos percentuais, através da Equação 6,

$$R_l(\%) = \frac{L_i - L_f}{L_i} \cdot 100 \quad (6)$$

sendo L_i o comprimento inicial da amostra, e L_f o comprimento da amostra após os processos de secagem ou sinterização. Para o cálculo da retração linear causada pela secagem, foi considerado como L_i o comprimento do molde metálico, reduzido das tampas de vedação que diminuem seu comprimento em 1,5 mm em cada extremidade; e para as medidas antes da sinterização, o L_i foi considerado como sendo o comprimento do tubo após a secagem.

A retração diametral (R_d) foi obtida, também em termos percentuais, pela Equação 7,

$$R_d(\%) = \frac{d_i - d_f}{d_i} \cdot 100 \quad (7)$$

sendo d_i o diâmetro externo inicial da amostra e d_f o diâmetro externo após o processo de secagem ou sinterização. Para o cálculo da retração diametral causada pela secagem, foi considerado como d_i (diâmetro externo inicial) o diâmetro interno do molde metálico; e para as medidas antes da sinterização, o d_i foi considerado como sendo o diâmetro do tubo após a secagem. O experimento foi realizado com triplicata de membranas.

3.2.6 Morfologia

A morfologia da seção transversal e da superfície interna (camada seletiva) das membranas cerâmicas, preparadas nas diferentes concentrações do agente formador de poros (0,0%, 2,5%, 5,0% e 7,5%), foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os corpos de prova foram fraturados manualmente, acomodados em *stubs* com uma fita de carbono e receberam recobrimento de ouro. As análises foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), utilizando

um microscópio eletrônico de varredura modelo JSM-6390LV (JEOL, JPN), e energia aplicada de 10 kV.

3.2.7 Porosidade aparente

Após a sinterização dos tubos, foi feita a análise de porosidade aparente das amostras para avaliar o efeito do uso do carvão ativado como formador de poros nos tubos produzidos, comparando com a membrana controle (sem carvão). A análise foi realizada utilizando o método de Arquimedes, baseado na norma ISO 10545-3 (Bertotto et al., 2019).

As amostras foram preparadas com aproximadamente 2 cm de comprimento e imersas em água destilada a 100 °C por 2 horas para a remoção máxima de ar presente nos poros. Após o resfriamento, o excesso de água foi removido rapidamente em papel toalha e a massa da amostra úmida foi obtida. Na sequência, a massa imersa foi obtida pesando-se a amostra imersa em água destilada no aparato de Arquimedes. Por fim, as amostras foram secas em estufa na temperatura de 100 °C por 24 horas e, após o resfriamento, foram pesadas novamente obtendo-se a massa da amostra seca. A partir destes dados de massas, a porosidade aparente foi determinada com a Equação 8:

$$PA (\%) = \frac{MU-MS}{MU-MI} \cdot 100 \quad (8)$$

sendo PA a porosidade aparente, dada em porcentagem, MU a massa da amostra úmida, MI a massa da amostra imersa, e MS a massa da amostra seca.

O experimento foi realizado com duplicata de amostras de cada membrana e duplicata de membrana, totalizando quatro análises para cada formulação.

3.2.8 Permeância hidráulica

O ensaio de permeância hidráulica foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da adição do carvão ativado como agente formador de poros no desempenho hidráulico das membranas produzidas.

Previamente aos ensaios, as membranas foram condicionadas imergindo-as completamente em água deionizada por 24 horas. Na sequência, uma unidade de permeação de bancada, estruturada para operações com membranas de geometria tubular, foi utilizada na

realização do experimento, que por sua vez foi conduzido no modo de reciclo total, no qual as correntes de concentrado e permeado retornam para o tanque de alimentação. Durante a análise, a vazão de água deionizada na corrente de retorno foi mantida a $1 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ e a pressão foi variada até 1 bar. O ensaio foi conduzido da maior pressão para a menor.

Para cada pressão, antes de iniciar a coleta de amostras de permeado, o sistema foi mantido em circulação por 30 minutos para garantir a estabilização. Depois de estabilizado, realizou-se 3 coletas de permeado, durante 1 minuto, com intervalo de 15 minutos entre as coletas.

O volume de água coletado em função do tempo, constitui a vazão de permeado, que quando dividida pela área útil da membrana (considerada a área interna do tubo), resulta no fluxo volumétrico de permeado ($\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$). A permeância hidráulica ($\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{bar}^{-1}$) corresponde ao coeficiente angular da reta obtida no gráfico do fluxo permeado em função da pressão de operação. A análise foi realizada em duplicata de membrana.

3.2.9 Retenção à proteína BSA

O teste de rejeição foi realizado com as membranas cerâmicas produzidas com carvão e membrana controle, seguindo o método adaptado de Wang *et. al.*, (2015). Inicialmente, foi preparada uma solução com água deionizada e a proteína albumina de soro bovino (BSA), que apresenta tamanho de aproximadamente 66 kDa, na concentração de $0,9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (dentro do intervalo da curva de calibração). O sistema de permeação foi operado com fração de concentrado retornando para o tanque de alimentação a uma vazão de $1,5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, e pressão de 1 bar. Após um tempo para estabilização do sistema, foram coletadas amostras da alimentação e de permeado, e posteriormente a proteína foi quantificada através da técnica de Bradford, em espectrofotômetro modelo Q898U2M5 (Quimis, BRA), e posterior avaliação da retenção através da Equação 5. O sistema foi calibrado com albumina de soro bovino ($\geq 96\%$) obtida da Sigma-Aldrich, sendo que a curva padrão foi preparada em concentrações de proteína variando de $0,1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ a $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. A análise foi realizada em duplicata de membrana e triplicata de amostra de cada membrana para quantificação de proteína.

3.2.10 Purificação de surfactina

A surfactina produzida com manipueira como meio de cultura alternativo foi gentilmente doada pela mestrandia (PósENQ) Eng. Vanessa Kristine de Oliveira Schmidt. O processo de produção é brevemente descrito no Apêndice A.

Primeiramente foi realizada a quantificação da surfactina presente no sobrenadante, conforme descrito na *Seção 3.2.11* a seguir.

Após a quantificação, foi preparada uma solução contendo o sobrenadante e água deionizada, a fim de ajustar a concentração de surfactina pura em solução, em aproximadamente $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Segundo Jauregi *et al.* (2013), o tamanho das micelas diminui com o aumento da concentração de surfactina, sendo que em concentrações entre $50\text{-}100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ são formadas micelas com diâmetro médio de 105 nm, o que demonstra que nessa concentração são formadas micelas com tamanho adequado para a membrana utilizada no trabalho (a ser apresentado na seção de Resultados e Discussão).

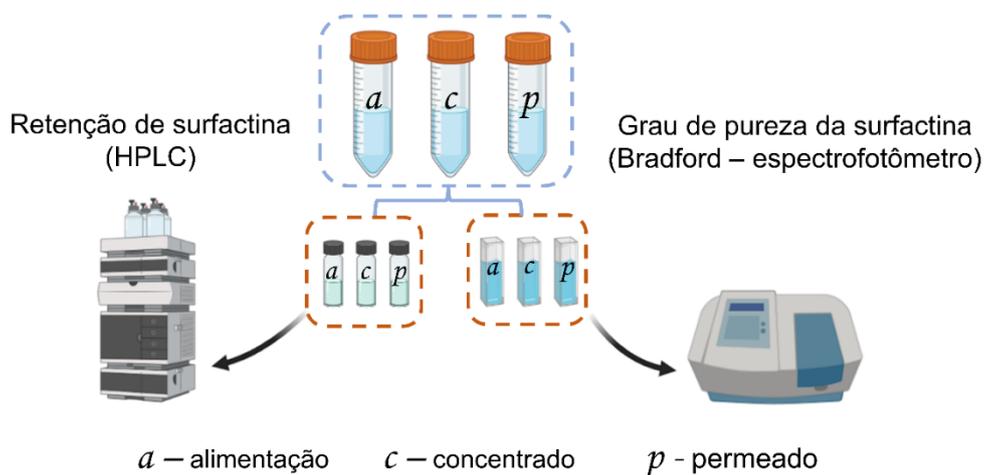
Na sequência, a solução foi utilizada na alimentação do sistema de permeação. Inicialmente, o sistema foi operado em reciclo total para homogeneização da solução por 5 minutos, e uma amostra da alimentação foi retirada. Após, apenas a fração de concentrado permaneceu retornando para o tanque de alimentação e o permeado começou a ser coletado. A solução foi concentrada em duas vezes, ou seja, o volume no tanque de alimentação foi reduzido até metade do volume inicial. A membrana utilizada foi aquela que apresentou melhor rejeição de proteínas (BSA). O sistema foi operado com fração de concentrado retornando para o tanque de alimentação a uma vazão de $1,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, pressão de 1 bar, e mantida temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ na alimentação. As condições foram determinadas em testes prévios, a fim de manter baixa pressão e alta velocidade de escoamento para evitar a formação de polarização por concentração na superfície da membrana, mas ao mesmo tempo evitando a formação de espuma causada pela presença da surfactina e proteínas na corrente de retorno (concentrado). O fluxo de permeado foi medido a cada 15 minutos nas duas primeiras horas e a cada 30 minutos nas horas seguintes até o fim do processo a fim de identificar quedas no fluxo que indicassem polarização por concentração ou *fouling* na membrana. Além disso, a condutividade elétrica também foi acompanhada como um indicativo da passagem de sais da alimentação para o permeado. Ao final do processo, foram coletadas amostras de concentrado e permeado.

Para o cálculo de retenção (Equação 5), as concentrações de surfactina nas amostras da fração de alimentação e permeado foram obtidas por análise em HPLC (Seção 3.2.11). Além disso, considerando as proteínas como principais contaminantes, como relatado por Andrade et al. (2016), as proteínas foram quantificadas na fração de concentrado pelo método de Bradford. O grau de pureza da surfactina no final do processo foi calculado com a Equação 9,

$$\text{Grau de pureza (\%)} = \left(\frac{C_s}{C_s + C_p} \right) \cdot 100 \quad (9)$$

sendo C_s a concentração de surfactina e C_p a concentração de proteína. Para melhor compreensão, a Figura 7, ilustra de forma didática as análises realizadas após o processo de filtração.

Figura 7 – Fluxograma das análises de retenção e grau de pureza da surfactina após a permeação.



A análise foi realizada em duplicata de membranas, duplicata de amostras de alimentação e permeado para quantificação em HPLC e triplicata de amostras de concentrado para quantificação de proteína.

3.2.11 Quantificação da surfactina

Para a quantificação da surfactina, a amostra foi filtrada em membrana de acetato de celulose com tamanho de poro nominal de 0,22 μm , acomodada em *vial*, e submetidos à análise de HPLC. O sistema consiste em um LCMS-2020 (Shimadzu Corp., JPN), equipado com

bomba binária, amostrador automático, forno detector PDA. A fase estacionária foi uma coluna C18 Kromasil® (tamanho de poro 100 Å, e dimensões de 300 mm x 4,6 mm), enquanto a fase móvel consistiu em água ultrapura e uma solução de ácido trifluoroacético (TFA) em acetonitrila (MeCN) a 0,1% (v/v). Foi usada eluição em gradiente como relatado por Andrade *et al.* (2016), iniciando de 50% para 80% da solução de TFA-MeCN nos primeiros 15 minutos, mantido em 80% por 20 min, e aumentado para 100% por 5 min como etapa de lavagem, e por fim, retornando a 50% mais uma vez, totalizando 60 minutos de análise. A vazão da fase móvel foi de 0,9 mL·min⁻¹. O volume de injeção foi de 50 µL, enquanto a temperatura do forno permaneceu em 30 °C durante toda a análise. A absorbância do eluente foi monitorada a 214 nm. A análise do cromatograma e o cálculo da área foram realizados com o software LabSolutions (v.5.75, Shimadzu Corp.). O sistema foi calibrado com surfactina pura (≥ 98%) obtida da Sigma-Aldrich, sendo que a curva padrão foi preparada em concentrações de surfactina variando de 25 mg·L⁻¹ a 1.600 mg·L⁻¹.

3.2.12 Análise estatística

Os resultados foram avaliados estatisticamente utilizando o software Statistica 10.0 (StatSoft Inc, Tulsa, USA), pela análise de variância ANOVA, utilizando o teste de Tukey, com nível de confiança de 95%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

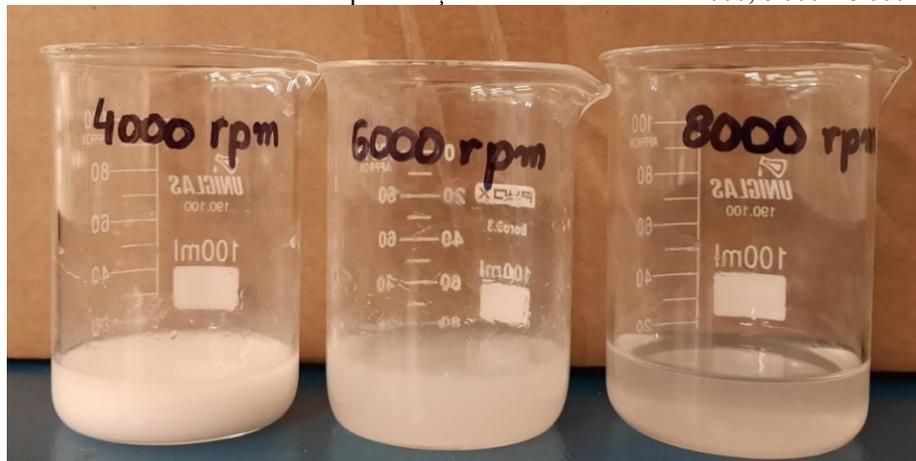
Nesta seção são apresentados e discutidos os resultados obtidos durante a pesquisa, como a morfologia das membranas preparadas, porosidade aparente, permeância hidráulica, retenção de proteína, desempenho da membrana durante a permeação, e retenção e purificação de surfactina produzida em meio de cultura alternativo.

4.1 TESTES PRELIMINARES

Ao testar os diferentes desmoldantes, foi verificado que os tubos verdes ficaram aderidos no molde diversas vezes quando utilizados os desmoldantes sem silicone KR, silicone aerossol e *Dry lube spray* com PTFE, enquanto a solução de éter de petróleo com vaselina resultou em maior facilidade no desmolde, evitando quebras nessa etapa, uma vez que as peças são muito frágeis antes da sinterização.

Avaliando a velocidade de rotação mais adequada foi percebido que a moldagem em 8.000 rpm resulta em menor perda de material (como mostrado na Figura 8).

Figura 8 – Sobrenadante vertido dos moldes após rotação nas velocidades de 4.000, 6.000 e 8.000 rpm.



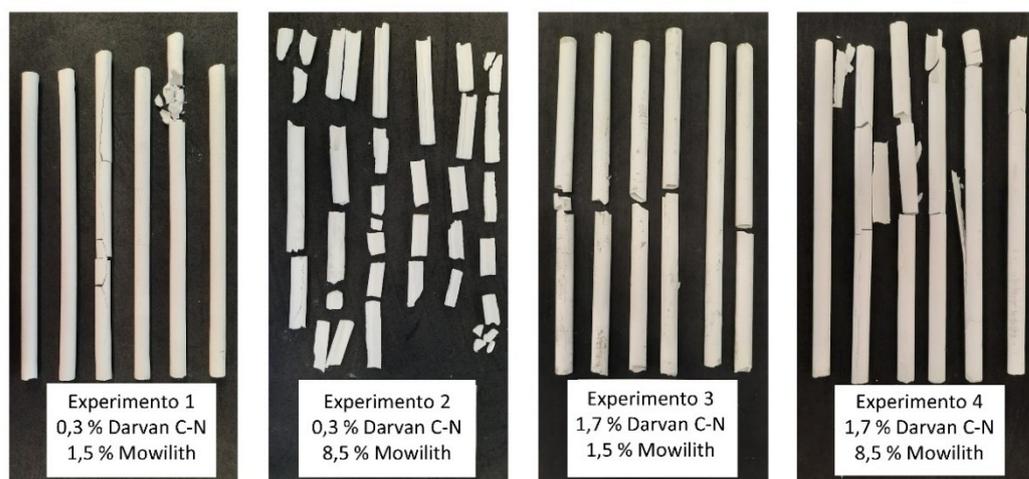
Fonte: Autor (2022).

Apesar da solução desmoldante de éter de petróleo e vaselina proporcionarem melhor desmolde, as membranas ainda apresentavam muita fragilidade e trincas associadas a má dispersão da alumina, sendo perceptível visualmente a presença de aglomerados. Logo, o uso de agentes dispersante e ligante foi testado. O experimento foi realizado variando a

concentração dos aditivos e mantendo a alumina em 25 % em volume para todas as formulações.

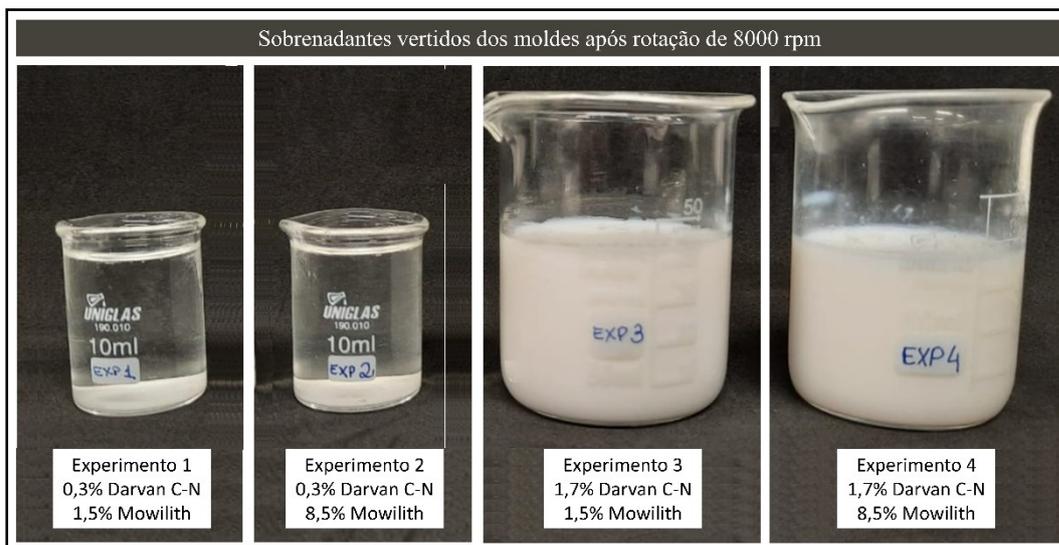
Como resposta, o Experimento 1 (1,5% de ligante e 0,3% de dispersante) se mostrou o mais promissor, ao resultar em tubos mais íntegros, como pode ser visto na Figura 9. Além disso, as formulações com dispersante em maior quantidade (1,7%) tornaram a suspensão muito estável, o que dificultou a separação entre as fases sólida e líquida, fazendo com que muito material fosse perdido no sobrenadante vertido, como mostrado na Figura 10. Ainda, a formulação com maior concentração de dispersante e ligante gerou amostras com delaminação, como pode ser visto na Figura 11.

Figura 9 – Testes de formulações com diferentes concentrações de dispersante Darvan C-N e ligante Mowilith.



Fonte: Autor (2022).

Figura 10 – Sobrenadante vertido dos moldes após rotação de 8000 rpm, das diferentes formulações.



Fonte: Autor (2022).

Figura 11 – Delaminação na membrana produzida com 8,5% de ligante e 1,7% de dispersante.



Fonte: Autor (2022).

A etapa de testes preliminares foi imprescindível para dar sequência ao projeto com a obtenção de uma formulação e parâmetros de processo adequados. Somente a partir da produção de tubos íntegros foi possível seguir para a incorporação do agente formador de poros.

4.2 TAMANHO DE PARTÍCULAS

Na análise de tamanho de partículas pela técnica de sedimentação utilizando o LUMiSizer® são reportados três diferentes valores: D_{10} que representa o diâmetro de partícula correspondente a 10% da distribuição acumulada, D_{50} que determina o diâmetro de partícula correspondente a 50% da distribuição acumulada e o D_{90} que representa o diâmetro de partícula

correspondente a 90% da distribuição acumulada. Sendo assim, o D_{50} representa a mediana do diâmetro médio das partículas.

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos para a distribuição acumulada dos diâmetros das partículas de alumina CT3000SG e do carvão ativado, enquanto as Figuras 12 e 13 ilustram a varredura completa com os gráficos de volume acumulado em função do tamanho de partículas para a alumina CT3000SG e o carvão ativado respectivamente.

Tabela 1 – Distribuição acumulada dos diâmetros de partículas da alumina CT3000SG e do carvão ativado.

	D₁₀ (nm)	D₅₀ (nm)	D₉₀ (nm)
Alumina CT3000SG	286	475	1.198
Carvão ativado	549	2.081	4.826

O diâmetro médio das partículas de alumina de $0,475 \mu\text{m}$, corrobora o indicado pelo fornecedor, o qual informa que as partículas de alumina CT3000SG apresentam tamanho médio entre $0,3$ e $0,6 \mu\text{m}$. Bertotto (2019) também caracterizou a alumina comercial CT3000SG de mesmo fornecedor, utilizando a técnica de sedimentação, e encontrou resultados também dentro da faixa reportada, obtendo D_{50} igual a $0,58 \mu\text{m}$.

Figura 12 – Distribuição de tamanho de partícula da alumina CT3000SG.

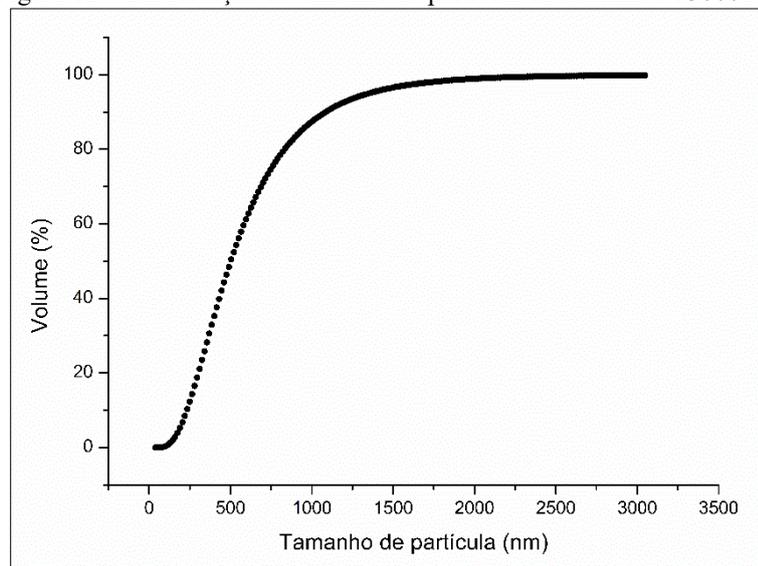
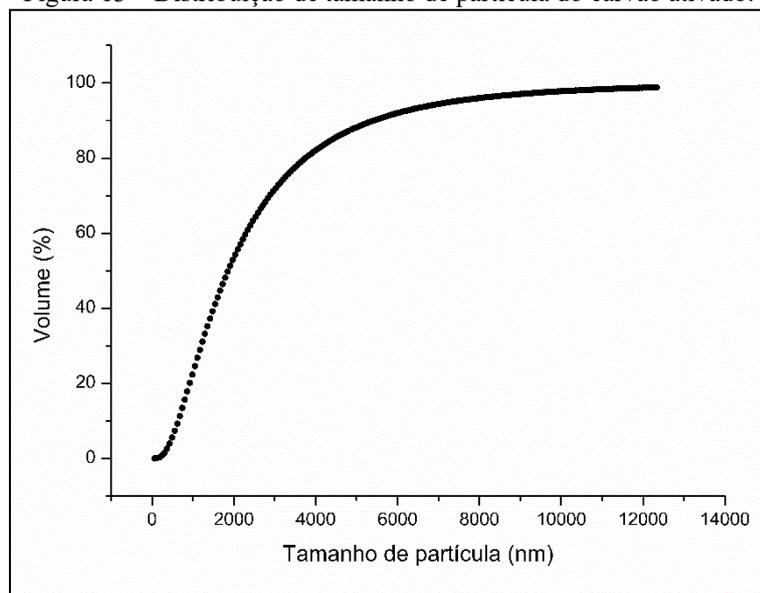


Figura 13 – Distribuição de tamanho de partícula do carvão ativado.

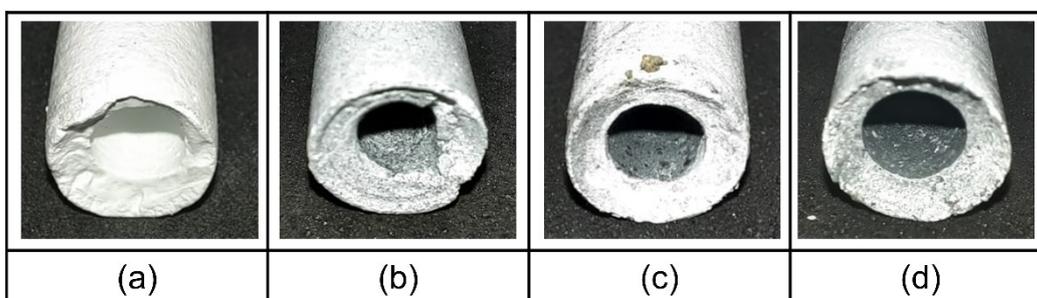


No certificado de análises fornecido juntamente com o carvão ativado é indicado que na análise granulométrica, 67,42% das partículas do produto são passantes em peneira com abertura de 325 mesh (aproximadamente 44 μm). No entanto, o diâmetro médio encontrado com a técnica de sedimentação foi de 2,081 μm .

4.3 PREPARO DAS MEMBRANAS

Na Figura 14 estão apresentadas imagens dos tubos verdes obtidos após o desmolde, antes de serem sinterizados. É possível notar que a cor no interior do tubo, resultante da presença de carvão, fica mais escura à medida que a concentração de carvão aumenta.

Figura 14– Interno dos tubos verdes após secagem, M00 (a), M25 (b), M50 (c) e M75 (d).



Embora o carvão tenha uma densidade consideravelmente menor ($0,52 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) que a alumina ($3,95 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$), seria esperado que boa parte das partículas ficassem depositadas na parte interna do tubo cerâmico; porém, pode-se notar que ele se distribuiu pela seção transversal, sendo perceptível a intensificação da cor escura também na parte externa da membrana (Figura 15). A presença do carvão até mesmo na parte externa da membrana, apesar de apresentar densidade menor do que a alumina, é justificada pelo maior tamanho das partículas de carvão em comparação com a alumina como visto na *Seção 4.2*. De acordo com Rocha *et al.* (2021), a velocidade com que as partículas se movem através de um fluido é dependente tanto da densidade do material quanto do tamanho da partícula. Além disso, a velocidade de sedimentação também depende da distância que a partícula está do centro (eixo de rotação) do molde (menor velocidade se está na região central, maior velocidade se está mais afastada, ou seja, mais próxima da parede do molde). Logo, algumas partículas maiores de carvão se depositaram mais rapidamente na parede do molde, juntamente com partículas maiores de alumina.

Figura 15 – Tubos verdes após desmolde, (a) M00, (b) M25, (c) M50 e (d) M75, produzidos com velocidade de rotação de 8000 rpm.



4.4 RETRAÇÃO LINEAR E DIAMETRAL

Como visto na *Seção 2.3.1.2*, os processos de secagem (mesmo em temperatura ambiente) e sinterização aproximam as partículas pela perda do solvente e densificam o corpo cerâmico, causando a retração do material. Esses processos, quando realizados de forma controlada, facilitam o desmolde e evitam defeitos, como as trincas.

Na Tabela 1 está mostrado o efeito da concentração de agente porogênico sobre os resultados obtidos de retração linear e diametral, resultante do processo de secagem em temperatura de 25 °C e umidade relativa de $\approx 70\%$, e sinterização das membranas a 1275 °C.

De acordo com os resultados, observa-se que há uma retração diametral durante a secagem, de aproximadamente 9%, independentemente da quantidade de carvão. Esta retração é causada pela perda de solvente, neste caso a água, fazendo com que as partículas que compõem o tubo se aproximem. Esta retração é suficiente para que o tubo se desprenda do molde metálico, permitindo sua remoção.

Tabela 2 - Efeito da adição do carvão como agente formador de poros na retração linear e diametral das membranas durante os processos de secagem a 25 °C e sinterização a 1.275 °C.

Membrana	Retração linear (%)		Retração diametral (%)	
	Secagem	Sinterização	Secagem	Sinterização
M00	8,67 ± 0,73 ^a	7,12 ± 0,66 ^a	9,20 ± 0,28 ^a	5,73 ± 0,64 ^a
M25	8,76 ± 0,06 ^a	6,91 ± 0,62 ^a	9,50 ± 0,42 ^a	5,62 ± 0,25 ^a
M50	8,79 ± 0,17 ^a	6,83 ± 1,04 ^a	9,25 ± 0,35 ^a	6,50 ± 0,44 ^a
M75	8,92 ± 1,07 ^a	7,46 ± 0,08 ^a	9,05 ± 0,07 ^a	6,05 ± 0,01 ^a

* Números sobrescritos por letras diferentes em cada coluna são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Ao realizar a análise estatística, foi percebido que as quantidades utilizadas do agente formador de poros não foram suficientes para causar diferença significativa nas retrações linear e diametral das membranas. Rocha *et al.* (2021) produziram membranas de alumina incorporadas com diferentes quantidades de cinzas volantes de carvão, além de uma membrana controle sem as cinzas. Ao realizar a análise de retração linear, os autores perceberam que ocorreu uma diminuição significativa na retração apenas nas membranas produzidas com quantidades de cinzas acima de 10%.

Além disso, foi possível perceber que as retrações ocorridas durante a secagem e a sinterização, quando somadas, apresentam total de aproximadamente 15%, tanto na retração linear, quanto na diametral. Resultado semelhante foi reportado no estudo realizado por Bertotto (2019), onde foi avaliado o efeito da temperatura de sinterização na retração das membranas produzidas a base de alumina, percebendo-se um aumento na retração conforme a temperatura de sinterização foi aumentada. O estudo relata que aquelas membranas sinterizadas na temperatura de 1300 °C (25 °C acima da temperatura de sinterização utilizada no presente trabalho) apresentaram retração linear de 15,6% e retração diametral de 17%.

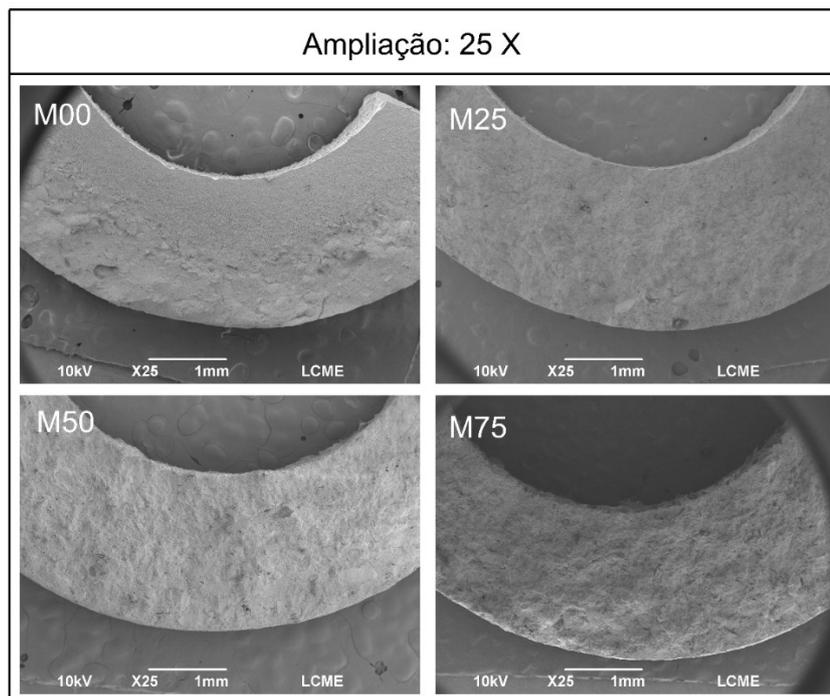
4.5 MORFOLOGIA

A análise de microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para caracterizar a morfologia da seção transversal e superfície interna (camada seletiva) das membranas preparadas pela técnica de *centrifugal casting*, a base de alumina, incorporadas com diferentes concentrações de agente formador de poros (carvão ativado).

Na Figura 16 são apresentadas as micrografias da seção transversal das membranas M00, M25, M50 e M75, com aumento de 25 vezes. É possível perceber, na imagem da seção transversal da membrana produzida sem carvão (M00), a diferença nas camadas produzidas pela técnica de *centrifugal casting*. Como a membrana sem carvão (M00) é composta majoritariamente por alumina, todas as partículas presentes apresentam a mesma densidade. Então, a variação na velocidade de sedimentação ocorre apenas pela diferença de tamanho, formando um gradiente na distribuição de tamanho de partículas bem definido.

Ao adicionarmos o carvão ativado com menor densidade, mas com tamanho de partícula maior, em comparação com a alumina, a sedimentação passa a ocorrer com influência tanto do tamanho de partícula quanto da densidade. Sendo assim, duas partículas de tamanhos diferentes podem atingir a mesma velocidade de sedimentação porque as diferentes densidades podem fazer essa compensação. Desta forma, as camadas que antes eram bem definidas ao serem formadas apenas por diferença no tamanho de partículas na membrana sem carvão, não podem mais ser percebidas.

Figura 16 – Micrografias da seção transversal das membranas M00, M25, M50 e M75 com ampliação de 25 x.



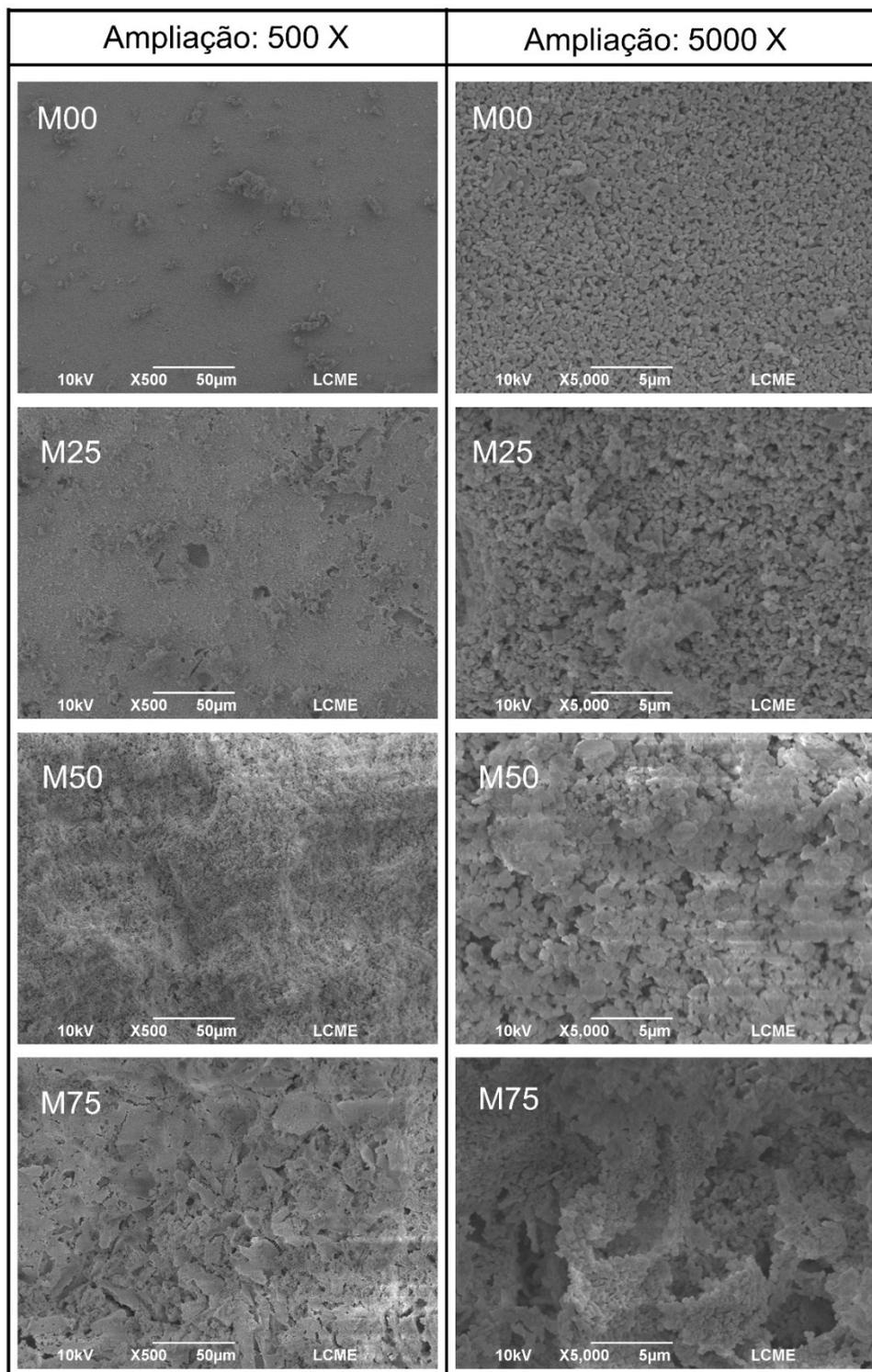
A Figura 17 apresenta as micrografias da superfície interna das membranas M00, M25, M50 e M75, com aumento de 500 e 5000 vezes. Nelas é possível perceber a diminuição da homogeneidade da camada seletiva à medida que a concentração de carvão aumenta. Além disso, também é possível perceber um aumento no tamanho dos poros presentes na superfície, principalmente nas membranas M50 e M75.

Ao realizar o tratamento térmico, o carvão ativado é removido, deixando poros no espaço inicialmente ocupado por ele. Apesar de estar presente, até mesmo na parte externa da membrana, por apresentar densidade menor do que a alumina, o carvão se concentrou mais no interior do tubo (como visto na *Seção 4.3*), assim influenciando diretamente na morfologia da camada seletiva. A presença de poros maiores nessa região permite que moléculas maiores passem pela membrana, afetando diretamente a retenção e seletividade da membrana.

De acordo com Bertotto (2019) e Rocha (2021), ao produzir membranas majoritariamente de alumina, a análise das micrografias revelou morfologia densa e homogênea no interno das membranas, semelhantes às apresentadas no presente trabalho. Porém, as micrografias da seção transversal não apresentam tão nitidamente a formação de camadas pela diferença de tamanhos de partículas, como as obtidas e apresentadas neste estudo. Uma das

hipóteses é que os aditivos utilizados neste trabalho tenham auxiliado na separação, além do tempo maior de rotação no CC.

Figura 17 – Micrografias da superfície interna das membranas M00, M25, M50 e M75 com ampliação de 500 x e 5000 x.



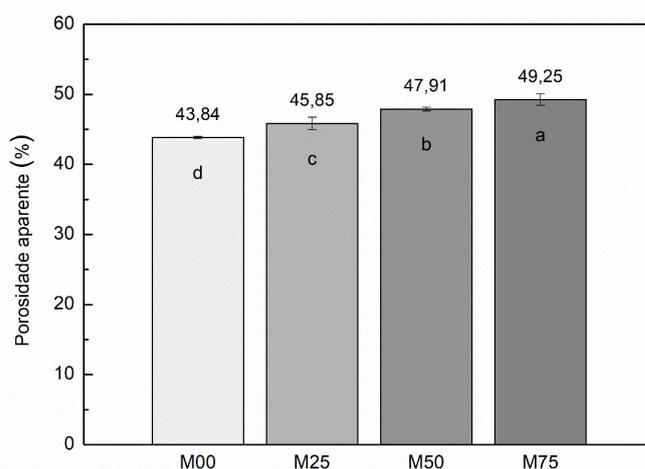
4.6 POROSIDADE APARENTE

A porosidade aparente foi medida pela técnica de Arquimedes, avaliando a massa dos corpos de prova seco, úmido e imerso. Na Figura 18 são apresentados os resultados de porosidade aparente obtidos para as membranas incorporadas com carvão ativado como agente formador de poros, nas concentrações de 0,0% (M00), 2,5% (M25), 5,0% (M50) e 7,5% (M75).

Como esperado, os resultados mostram que a porosidade aparente aumenta significativamente à medida que maiores quantidades do agente formador de poros são acrescentadas. Este resultado corrobora dados encontrados na literatura e os resultados obtidos na análise de morfologia (JIANG *et al.*, 2020; MOHANTA *et al.*, 2014; MOUIYA *et al.*, 2018; PRADO, 2014; YANG, *et al.*, 2018).

No estudo realizado por Jiang *et al.* (2020) foram produzidas membranas de carvão de silício e zeólitas incorporadas com carvão ativado como agente formador de poros. Os autores relatam que quando utilizado na concentração de 5% são produzidas membranas com porosidade aparente de 47%. Esse resultado é semelhante ao obtido no presente trabalho, em que quando o agente formador de poros foi utilizado na concentração de 5%, foram obtidas membranas com porosidade aparente de 47,91%.

Figura 18 – Resultados de porosidade aparente de membranas incorporadas com carvão ativado como agente formador de poros nas concentrações de 0,0% (M00), 2,5% (M25), 5,0% (M50) e 7,5% (M75) em massa de alumina.



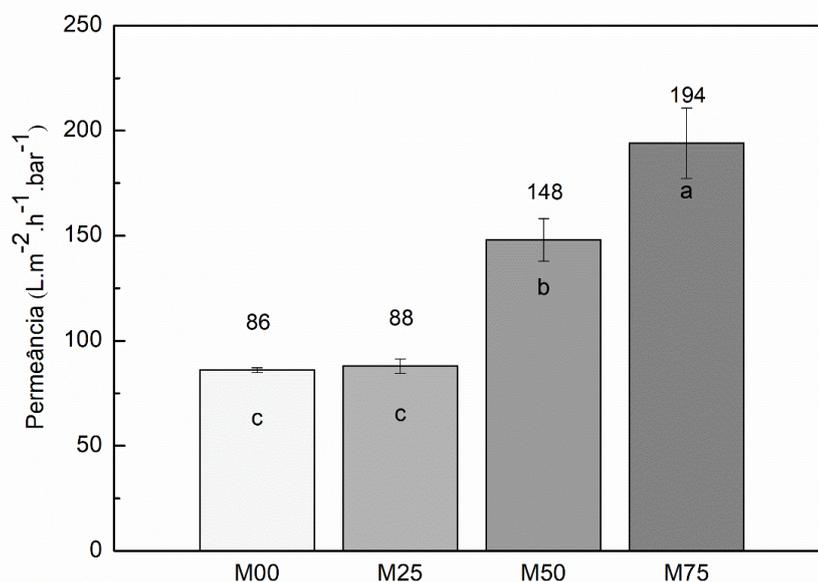
* Números acompanhados por letras diferentes em cada coluna são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4.7 PERMEÂNCIA HIDRÁULICA

A análise de permeância hidráulica das membranas foi realizada a fim de caracterizar e avaliar o efeito da incorporação de carvão ativado como agente formador de poros em diferentes concentrações no desempenho da membrana.

Na Figura 19 são apresentados os resultados de permeância hidráulica obtidos para as membranas produzidas com carvão ativado nas concentrações de 0,0% (M00), 2,5% (M25), 5,0% (M50) e 7,5% (M75).

Figura 19 – Efeito na permeância hidráulica de membranas incorporadas com carvão ativado como agente formador de poros nas concentrações de 0,0% (M00), 2,5% (M25), 5,0% (M50) e 7,5% (M75).



* Números acompanhados por letras diferentes em cada coluna são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Conforme o esperado, as membranas apresentaram aumento significativo na permeância hidráulica com o aumento da concentração do agente formador de poros entre as membranas M25, M50 e M75, corroborando os resultados de porosidade aparente e a análise das micrografias, pois poros maiores permitem maior vazão da água (STEENKAMP *et al.*, 2001).

No entanto, a quantidade de 2,5% de carvão não foi suficiente para resultar em um aumento significativo na permeância hidráulica em comparação com a membrana sem o agente porogênico.

Na pesquisa de Bertotto *et al.* (2019) não foi incorporado nenhum agente formador de poros nas membranas e, quando sinterizadas a 1200 e 1300 °C, foram obtidas permeâncias hidráulicas de 79 e 59 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$, respectivamente. Os resultados relatados pelo autor são menores do que os obtidos no presente trabalho, mesmo quando comparados com a permeância hidráulica da membrana preparada sem a adição do agente formador de poros, em que a permeância foi de 86 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$.

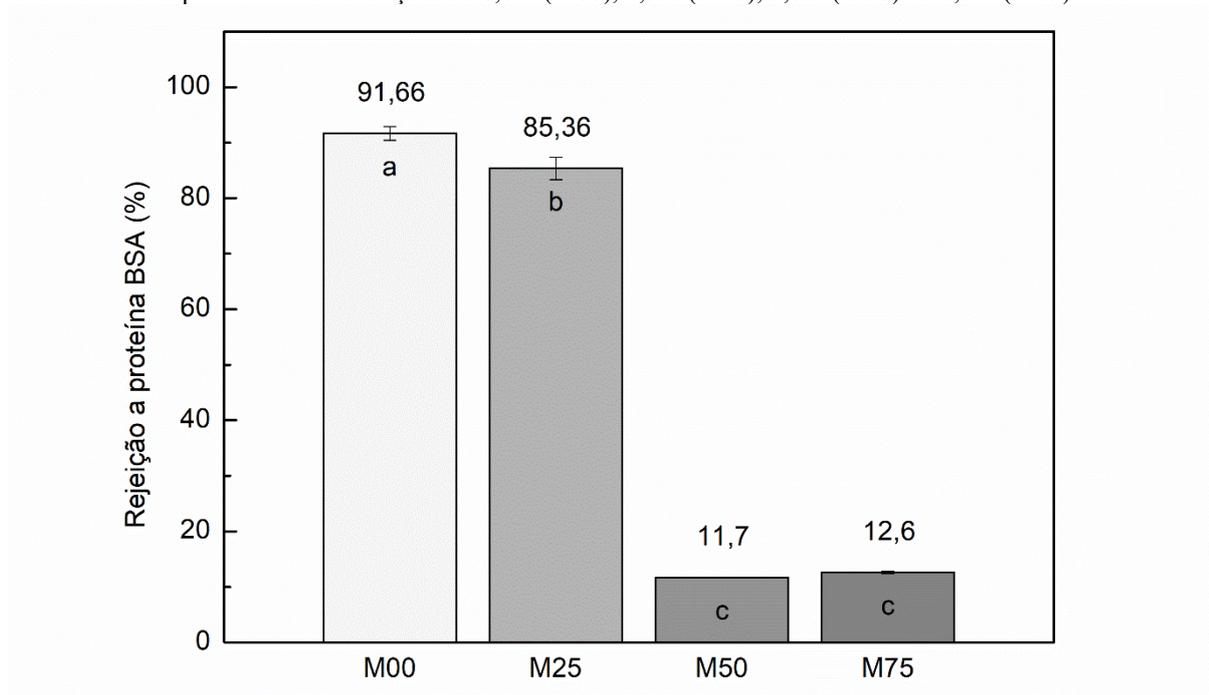
4.8 RETENÇÃO DA PROTEÍNA BSA

O teste de retenção de BSA foi realizado utilizando solução de alimentação com concentração de 0,9 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para as membranas incorporadas com diferentes quantidades de agente formador de poros. O cálculo de retenção foi obtido a partir da Equação 5, a qual relaciona as concentrações de BSA na alimentação e no permeado.

A Figura 20 apresenta os resultados de retenção obtidos para as diferentes membranas. Vale ressaltar que ao caracterizar uma membrana quanto à sua massa molar de corte, é esperado no mínimo 90% de retenção para a molécula padrão testada. Neste caso a molécula utilizada para caracterização foi a de proteína albumina de soro bovino (BSA), a qual apresenta massa molar de aproximadamente 66 kDa. Tal espécie foi escolhida devido a geometria globular das proteínas, que mais se assemelha à estrutura ramificada da surfactina. Uma solução contendo essa substância será utilizada com as membranas produzidas para fins de purificação.

Ao analisar os dados, foi verificado que as membranas produzidas com carvão apresentaram resultados insatisfatórios para a retenção de BSA, não atingindo os 90% de retenção desejados. Este resultado está de acordo com o que foi visto na análise de morfologia, quando foi percebido a presença de poros maiores com o aumento da concentração de agente formador de poros. Logo, os poros formados pelo carvão não apresentam tamanho suficientemente pequenos para reter as moléculas de BSA. No entanto, isso não impede que estas membranas sejam usadas para a separação ou purificação de compostos com tamanhos de partículas maiores. Para tal, seriam necessários mais testes com moléculas de tamanhos distintos.

Figura 20 – Efeito na retenção de BSA de membranas incorporadas com carvão ativado como agente formador de poros nas concentrações de 0,0% (M00), 2,5% (M25), 5,0% (M50) e 7,5% (M75).



* Números acompanhados por letras diferentes em cada coluna são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

De acordo com os resultados, apenas a membrana produzida sem o uso de carvão como agente formador de poros apresentou retenção satisfatória para a proteína BSA (> 90%), indicando que ela é capaz de rejeitar moléculas com tamanhos maiores que 66 kDa. Assim, ela foi selecionada para o processo de separação e purificação da surfactina.

4.9 PURIFICAÇÃO DA SURFACTINA

A análise da quantificação da surfactina produzida (HPLC) indicou a concentração de surfactina no meio de aproximadamente $600 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Sendo assim, para preparar a solução inicial de alimentação (filtração) em cerca de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, foi realizada a diluição em 6 vezes. Segundo Jauregi *et al.* (2013), concentrações maiores de surfactina resultam em micelas de tamanhos menores. Na concentração de surfactina entre 50 e $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, são formadas micelas com aproximadamente 105 nm , enquanto na concentração de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ são formadas micelas de 5 nm . Como a membrana foi caracterizada com BSA (66 kDa) que apresenta moléculas com 7 nm de diâmetro (SOME *et al.*, 2019), escolheu-se utilizar a concentração de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

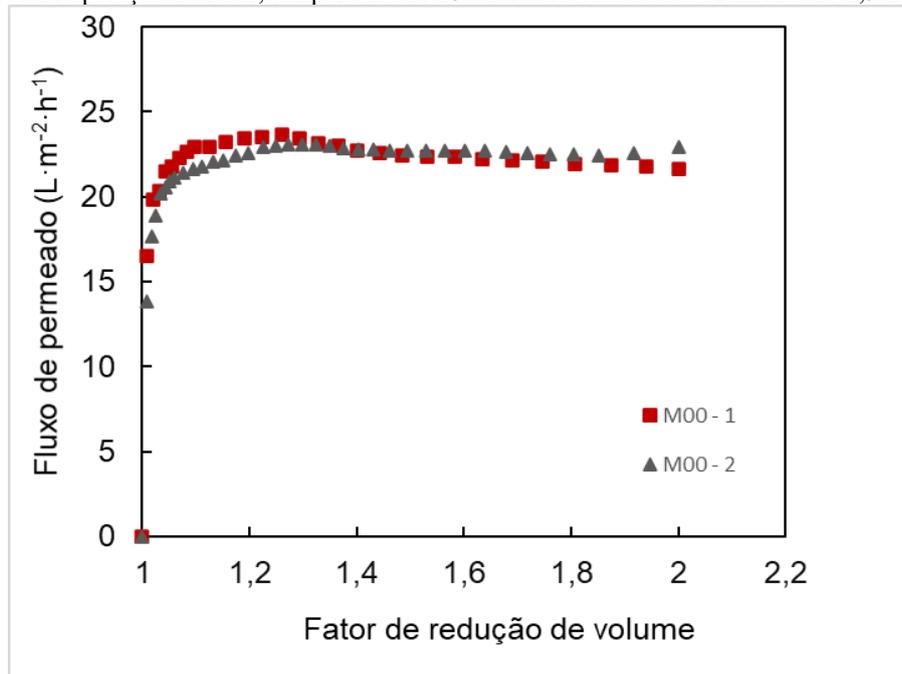
O experimento foi conduzido até fator de redução de volume (FRV) igual a 2, ou seja, até que o volume da alimentação reduzir em duas vezes. O cálculo do fator de redução de volume é feito através da Equação 9.

$$\text{Fator de redução de volume} = \frac{V_i}{V_i - V_p} \quad (9)$$

sendo V_i o volume inicial da solução de alimentação e V_p o volume de permeado.

Durante o experimento de permeação, não foi percebida queda significativa no fluxo de permeado em nenhuma das duas amostras de membranas, como demonstrado na Figura 21. Chen; Chen e Juang (2008) estudaram a ultrafiltração da surfactina em escoamento cruzado com membranas de geometria plana (PES 100 kDa), associada ao pré-tratamento do caldo com precipitação ácida, em que utilizaram concentrações de surfactina na alimentação de 1,5 a 4,6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (> 15 vezes a concentração utilizada no presente trabalho), 0,6 bar de pressão, temperatura de 25 °C e velocidade de escoamento do 0,32 m/s. Os autores relataram significativa queda no fluxo de permeado, reduzindo de $\approx 900 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ para $\approx 300 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ nos primeiros 5 minutos de operação; diferente do ocorrido no presente trabalho.

Figura 21 - Fluxo de permeado em função do fator de redução do volume com duplicata de membrana, utilizando pressão de operação de 1 bar, temperatura de 25 °C e velocidade de escoamento de 1,5 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$.



De maneira interessante, é possível notar um aumento do fluxo permeado nas primeiras horas de operação, até fator de redução de volume próximo de 1,26. Embora seja bastante incomum em processos de separação por membranas, esse efeito pode estar relacionado à deposição de partículas de tamanho maior que o tamanho dos poros (proteínas e micelas de surfactina) sobre a superfície das membranas, formando uma película altamente porosa que impede a passagem de partículas pequenas para dentro dos poros da membrana, evitando o *fouling*, e facilitando a permeação da água (GREEN; BELFORT, 1980; VAILLANT *et al.*, 1999). Ainda, como citado anteriormente, com o aumento da concentração de surfactina, micelas menores começam a ser formadas, tornando o fluxo estável e posteriormente uma pequena queda de fluxo começa a ocorrer, atingindo aproximadamente 5% quando o processo atinge fator de redução de volume igual a 2. Diante disto, é possível e indicado dar continuidade ao processo, porém, devido à limitação de tempo e equipamento, o processo foi encerrado ao atingir fator de redução de volume igual a 2.

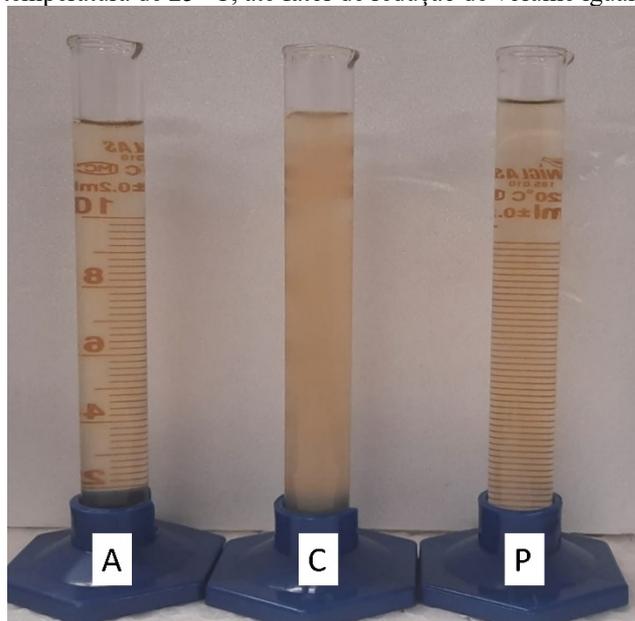
A condutividade elétrica da solução de concentrado e permeado, acompanhada durante a permeação como um indicativo da passagem de sais através da membrana, foram iguais a $2,23 \pm 0,04$ e $2,25 \pm 0,05$ $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$, respectivamente, ao final do processo, indicando que os sais passaram livremente pela membrana (a concentração de sais foi distribuída de forma semelhante entre concentrado e permeado, corroborando o volume total que foi distribuído igualmente entre as duas frações).

Como ilustrado nas Figuras 22 e 23, a fração de concentrado após o processo de permeação apresenta quantidades elevadas de sólidos em suspensão que causam turbidez da amostra. Na Figura 22, é possível perceber a turbidez pela impossibilidade de visualização das marcações na proveta, ao contrário do que é apresentado para as frações de alimentação e permeado.

A análise de HPLC para determinar a porcentagem de retenção da surfactina presente na solução resultou em recuperação de $91,5 \pm 8,8\%$ da surfactina presente no caldo complexo. No entanto, a análise do grau de pureza através da técnica de Bradford revelou baixo grau de pureza ($35,2 \pm 7,3\%$), devido à alta concentração de proteínas provenientes da manipueira e como produto do processo fermentativo. Andrade *et al.* (2016) sugerem que a técnica de purificação de surfactina a partir de caldo de fermentação complexo deve ser realizada em duas etapas, com membranas de PES de 100 e 50 kDa. Quando utilizada a purificação em duas

etapas, o primeiro passo consiste na retenção de proteína e surfactina, permitindo a passagem de sais e outras moléculas pequenas. A seguir, é adicionado etanol ou metanol na concentração de 75% para quebrar as micelas de surfactina que passarão para o permeado e as proteínas ficarão retidas. Seguindo este método, os autores obtiveram retenção de surfactina de 87,18% ao final da primeira etapa e 86,23% no total ao final da segunda etapa, com grau de pureza de surfactina no concentrado de 43% na primeira etapa e de 59% no permeado na segunda etapa. Logo, ao compararmos os resultados obtidos na primeira etapa de purificação com os resultados obtidos no presente trabalho, é percebida semelhança.

Figura 22 - Amostras da fração de alimentação (A), concentrado (C) e permeado (P), da solução contendo surfactina produzida por *Bacillus subtilis* em manimuiira como meio de cultura, filtrada em membrana cerâmica, na temperatura de 25 °C, até fator de redução de volume igual a 2.



Apesar da obtenção de resultados semelhantes de recuperação e pureza da surfactina para a membrana cerâmica e a membrana polimérica de PES utilizada por Andrade *et al.* (2016), é importante salientar que, como discutido anteriormente, as membranas cerâmicas oferecem vantagens quanto à menor susceptibilidade ao *fouling* de natureza orgânica (uma vez que o caldo complexo é rico em compostos desta natureza) e, provavelmente, maior vida útil.

Figura 23 - Amostras da fração de concentrado (C) e permeado (P), após o processo de permeação da solução contendo surfactina produzida por *Bacillus subtilis* em manimuirá como meio de cultura, filtrada em membrana cerâmica, na temperatura de 25 °C, até fator de redução de volume igual a 2.



5 CONCLUSÃO

Utilizando a técnica de *centrifugal casting* foi possível preparar uma membrana cerâmica de ultrafiltração, assimétrica, em apenas uma etapa de conformação. O carvão ativado como agente formador de poros proporcionou membranas com maior porosidade e permeância hidráulica, porém, com baixa retenção de BSA. Por outro lado, a membrana preparada sem o carvão apresentou rejeição satisfatória para a BSA (> 90%), sendo esta utilizada na purificação de surfactina. A membrana cerâmica reteve 91,5% da surfactina presente em um meio de cultura complexo, com grau de pureza de 35,2%, demonstrando a necessidade da segunda etapa de ultrafiltração ou desenvolvimento de novas estratégias de purificação. É válido mencionar que a membrana cerâmica operou com fator de redução de volume igual a 2,0, sem perda considerável no fluxo permeado, o que indica que o processo poderia ser realizado por mais tempo e conseqüentemente maior fator de redução de volume.

6 REFERÊNCIAS

AHUJA, K.; SINGH, S. **Biosurfactants market size by product (sophorolipids, rhamnolipids, alkyl polyglucosides [APG], methyl ethyl sulfonates [MES], sucrose esters, sorbitan esters, lipopeptides), by application (household detergents, personal care, industrial cleaners, Global Market Insights Inc. [S.l.]: [s.n.], 2020.**

ANDRADE, C. J. DE *et al.* Ultrafiltration based purification strategies for surfactin produced by *Bacillus subtilis* LB5A using cassava wastewater as substrate. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 2016. v. 91, n. 12, p. 3018–3027.

BAKER, R. W. **Membrane technology and applications**. 3rd. ed. Chichester, England: John Wiley & Sons, Ltd, 2012.

BARROS, F. F. C.; PONEZI, A. N.; PASTORE, G. M. Production of biosurfactant by *Bacillus subtilis* LB5a on a pilot scale using cassava wastewater as substrate. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 2008. v. 35, n. 9, p. 1071–1078.

BERTOTTO, R. C. T. **MEMBRANAS TUBULARES À BASE DE ALUMINA PREPARADAS POR CENTRIFUGAL CASTING**. Porto Alegre: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, 2019. Tese (doutorado).

BERTOTTO, R. C. T. *et al.* Influence of sintering temperature on the development of alumina membrane shaped by centrifugal casting for gas separation. 2019. v. 65, p. 99–103.

BIESHEUVEL, P. M. *et al.* Graded membrane supports produced by centrifugal casting of a slightly polydisperse suspension. **Chemical Engineering Science**, 2001. v. 56, n. 11, p. 3517–3525.

BILAD, M. R.; ARAFAT, H. A.; VANKELECOM, I. F. J. Membrane technology in microalgae cultivation and harvesting: A review. **Biotechnology Advances**, 2014. v. 32, n. 7, p. 1283–1300.

BIRON, D. Da S.; SANTOS, V. Dos; ZENI, M. **Ceramic membranes applied in separation processes**. [S.l.]: [s.n.], 2018.

BISSETT, H. **Manufacture and optimization of tubular ceramic membrane supports**. [S.l.]: North-west University, 2005. Dissertação (mestrado).

BISSETT, H.; ZAH, J.; KRIEG, H. M. Manufacture and optimization of tubular ceramic membrane supports. **Powder Technology**, 2008. v. 181, n. 1, p. 57–66.

BOGNOLO, G. Biosurfactants as emulsifying agents for hydrocarbons. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 1999. v. 152, n. 1–2, p. 41–52.

BOYD, L. C.; DRYE, N. C.; HANSEN, A. P. Isolation and characterization of whey phospholipids. **Journal of Dairy Science**, 1999. v. 82, n. 12, p. 2550–2557.

BRUGGEN, B. VAN DER. **Microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration, reverse osmosis, and forward osmosis**. [S.l.]: Elsevier Inc., 2018.

CAMEOTRA, S. S.; MAKKAR, R. S. Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules. **Current Opinion in Microbiology**, 2004. v. 7, n. 3, p. 262–266.

CARO, J. Hierarchy in inorganic membranes. **Chemical Society Reviews**, 2016. v. 45, n. 12, p. 3468–3478.

CARO, J.; NOACK, M. **Zeolite membranes - Status and prospective**. [S.l.]: Elsevier, 2010. V. 1.

CAUSSERAND, C. *et al.* Improvement of a method for the characterization of ultrafiltration membranes by measurements of tracers retention. **Journal of Membrane Science**, 2004. v. 238, n. 1–2, p. 177–190.

CHEN, H. L. *et al.* Purification of surfactin in pretreated fermentation broths by adsorptive removal of impurities. **Biochemical Engineering Journal**, 2008. v. 40, n. 3, p. 452–459.

CHEN, H. L.; CHEN, Y. S.; JUANG, R. S. Separation of surfactin from fermentation broths by acid precipitation and two-stage dead-end ultrafiltration processes. **Journal of Membrane Science**, 2007. v. 299, n. 1–2, p. 114–121.

CHEN, H. L.; CHEN, Y. S.; JUANG, R. S. Flux decline and membrane cleaning in cross-flow ultrafiltration of treated fermentation broths for surfactin recovery. **Separation and Purification Technology**, 2008. v. 62, n. 1, p. 47–55.

CHEN, J. *et al.* Microstructure and mechanical properties of ZrB₂-SiC composites fabricated by the centrifugal gel casting. 2020. p. 1–15.

CHEN, L. *et al.* Genome Shuffling of *Bacillus velezensis* for Enhanced Surfactin Production and Variation Analysis. **Current Microbiology**, 2020. v. 77, n. 1, p. 71–78.

DAS, P.; MUKHERJEE, S.; SEN, R. Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. 2008. v. 104, n. July 2007, p. 1675–1684.

DAUFIN, G. *et al.* in food and dairy industry To cite this version : 2020.

DELE-AFOLABI, T. T. *et al.* Research trend in the development of macroporous ceramic components by pore forming additives from natural organic matters: A short review. **Ceramics International**, 2017. v. 43, n. 2, p. 1633–1649.

DESAI, J. D.; BANAT, I M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. **Microbiology and molecular biology reviews**, 1997. v. 61, n. 1, p. 47–64.

DUTRA, R. P. S.; ARAÚJO PONTES, L. R. DE. Obtenção e análise de cerâmicas porosas com a incorporação de produtos orgânicos ao corpo cerâmico. **Cerâmica**, 2002. v. 48, n. 308, p. 223–230.

EUROPEAN COMMISSION. Regulamento n°648/2004. **Official Journal of the European Communities**, 2000. v. L 269, n. September 2000, p. 1–15.

GITIS, V.; ROTHENBERG, G. **Ceramic Membranes: New Opportunities and Practical Applications**. Weinheim, Germany: John Wiley & Sons (2016), 2016.

GREEN, G.; BELFORT, G. Fouling of ultrafiltration membranes: lateral migration and the particle trajectory model. **Desalination**, 1980. v. 35, p. 129–147.

GURJAR, J.; SENGUPTA, B. Production of surfactin from rice mill polishing residue by submerged fermentation using *Bacillus subtilis* MTCC 2423. **Bioresource Technology**, 2015. v. 189, p. 243–249.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processos de separação por membranas**. 1. ed. Rio de Janeiro: e-papers, 2006.

HENKEL, M.; HAUSMANN, R. **Diversity and Classification of Microbial Surfactants**. Second Edi ed. [S.l.]: Elsevier Inc., 2019.

HOTZA, D. *et al.* Silicon carbide filters and porous membranes : A review of processing , properties , performance and application. **Journal of Membrane Science**, 2020. v. 610, n. May,

p. 118193.

HSU, S. H. *et al.* Mesoporous carbon aerogel membrane for phospholipid removal from *Jatropha curcas* oil. **Separation and Purification Technology**, 2013. v. 109, p. 129–134.

ISA, M. H. M.; FRAZIER, R. A.; JAUREGI, P. A further study of the recovery and purification of surfactin from fermentation broth by membrane filtration. **Separation and Purification Technology**, 2008. v. 64, n. 2, p. 176–182.

JAUREGI, P. *et al.* Micelle size characterization of lipopeptides produced by *B. subtilis* and their recovery by the two-step ultrafiltration process. **Separation and Purification Technology**, 2013. v. 104, p. 175–182.

JAUREGI, P.; KOURMENTZA, K. **Membrane Filtration of Biosurfactants**. [S.l.]: Elsevier Inc., 2019. V. 5.

JIANG, Q. *et al.* Lower-temperature preparation of SiC ceramic membrane using zeolite residue as sintering aid for oil-in-water separation. **Journal of Membrane Science**, 2020. v. 610, n. March, p. 118238.

JOY, S.; RAHMAN, P. K. S. M.; SHARMA, S. Biosurfactant production and concomitant hydrocarbon degradation potentials of bacteria isolated from extreme and hydrocarbon contaminated environments. **Chemical Engineering Journal**, 2017. v. 317, p. 232–241.

KRACHT, M. *et al.* Antiviral and Hemolytic Activities of Surfactin Isoforms and Their Methyl Ester Derivatives and a hydrophobic / J-hydroxy fatty acid varying in length. 1999. v. 52, n. 7, p. 613–619.

LAU, W.-J. *et al.* (Org.). **Advanced Nanomaterials for Membrane Synthesis and its Applications**. [S.l.]: Elsevier Inc., 2019.

LEE, A.; ELAM, J. W.; DARLING, S. B. Membrane materials for water purification: Design, development, and application. **Environmental Science: Water Research and Technology**, 2016. v. 2, n. 1, p. 17–42.

LEE, S. J. *et al.* Comparative analysis of fouling characteristics of ceramic and polymeric microfiltration membranes using filtration models. **Journal of Membrane Science**, 2013. v. 432, p. 97–105.

LI, K. **Ceramic Membranes for Separation and Reaction**. 1. ed. Londres: John Wiley & Sons, Ltd, 2007.

LIN, S. C.; JIANG, H. J. Recovery and purification of the lipopeptide biosurfactant of *Bacillus subtilis* by ultrafiltration. **Biotechnology Techniques**, 1997. v. 11, n. 6, p. 413–416.

LORENTE-AYZA, M. M. *et al.* On the underestimated effect of the starch ash on the characteristics of low cost ceramic membranes. **Ceramics International**, 2016. v. 42, n. 16, p. 18944–18954.

LUQUE, S.; GÓMEZ, D.; ÁLVAREZ, J. R. Industrial Applications of Porous Ceramic Membranes (Pressure-Driven Processes). **Membrane Science and Technology**, 2008. v. 13, n. 07, p. 177–216.

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

MEENA, K. R. *et al.* Two factor at a time approach by response surface methodology to aggrandize the *Bacillus subtilis* KLP2015 surfactin lipopeptide to use as antifungal agent. **Journal of King Saud University - Science**, 2020. v. 32, n. 1, p. 337–348.

MEENA, K. R.; KANWAR, S. S. Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: Applications in food safety and therapeutics. **BioMed Research International**, 2015. v. 2015.

MEENA, K. R.; SHARMA, A.; KANWAR, S. S. Antitumoral and Antimicrobial Activity of Surfactin Extracted from *Bacillus subtilis* KLP2015. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, 2020. v. 26, n. 1, p. 423–433.

MERTINS, F. H. B.; KRUIDHOF, H.; BOUWMEESTER, H. J. M. Centrifugal casting of tubular perovskite membranes. **Journal of the American Ceramic Society**, 2005. v. 88, n. 11, p. 3003–3007.

MOHANTA, K. *et al.* Processing and properties of low cost macroporous alumina ceramics with tailored porosity and pore size fabricated using rice husk and sucrose. **Journal of the European Ceramic Society**, 2014. v. 34, n. 10, p. 2401–2412.

MOUIYA, M. *et al.* Flat ceramic microfiltration membrane based on natural clay and Moroccan phosphate for desalination and industrial wastewater treatment. **Desalination**, 2018.

v. 427, n. October 2017, p. 42–50.

MUKHERJEE, S.; DAS, P.; SEN, R. Towards commercial production of microbial surfactants. **Trends in Biotechnology**, 2006. v. 24, n. 11, p. 509–515.

MULDER, M. **Basic principles of membrane technology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990.

NAJMI, Z. *et al.* In situ downstream strategies for cost-effective bio/surfactant recovery. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, 1 jul. 2018. v. 65, n. 4, p. 523–532.

NIJMEIJER, A. **Hydrogen-selective Silica Membranes for Use in Membrane Steam Reforming**. Enschede: Universidade de Twente, 1999. Tese (Doutorado). ISBN 9036513863.

PABBY, A. K.; RIZVI, S. S. H.; SASTRE, A. M. **Handbook of Membrane Separations: Chemical, Pharmaceutical, Food, and Biotechnological Applications**. 2 ed. ed. [S.l.]: CRC Press, 2015.

PRADO, G. G. **PROJETO E CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS CERÂMICAS UTILIZANDO MICROFIBRAS COMO PRECURSORAS DE POROSIDADE**. São Carlos: Universidade de São Paulo, 2014. Dissertação (mestrado).

RAYESS, Youssef; MIETTON-PEUCHOT, Martine. Membrane technologies in wine industry: An overview. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 56, n. 12, p. 2005–2020, 2016.

RESEARCH MARKETS. **Global Ceramic Membrane Market 2021-2025**. 2021. Disponível em: <<https://www.researchandmarkets.com/reports/5019128/global-ceramic-membrane-market-2021-2025>>. Acesso em: 20 fev. 2022.

ROCHA, M. R. D. La *et al.* Preparation of alumina based tubular asymmetric membranes incorporated with coal fly ash by centrifugal casting. **Ceramics International**, 2021. v. 47, n. 3, p. 4187–4196.

ROCHA, M. R. L. **PREPARATION OF TUBULAR ALUMINA-BASED MEMBRANES INCORPORATED WITH COAL FLY ASH AND APPLICATION AS SUPPORT TO ZSM-5 MEMBRANES**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2021. Tese (doutorado).

ROCHA, P. M. *et al.* Kinetic study and characterization of surfactin production by *Bacillus subtilis* UFPEDA 438 using sugarcane molasses as carbon source. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, 11 set. 2020. p. 1–9.

SCHMIDT, V. Kristine De O. *et al.* Biosurfactant inducers for enhanced production of surfactin and rhamnolipids: an overview. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 2021. v. 37, n. 3, p. 21.

SEN, R.; SWAMINATHAN, T. Characterization of concentration and purification parameters and operating conditions for the small-scale recovery of surfactin. **Process Biochemistry**, 2005. v. 40, n. 9, p. 2953–2958.

SOME, D. *et al.* Characterization of proteins by size-exclusion chromatography coupled to multi-angle light scattering (Sec-mals). **Journal of Visualized Experiments**, 2019. v. 2019, n. 148, p. 1–9.

STEENKAMP, G. C. *et al.* Centrifugal casting of ceramic membrane tubes and the coating with chitosan. **Separation and Purification Technology**, 2001. v. 25, n. 1–3, p. 407–413.

STUDART, A. R. *et al.* Processing routes to macroporous ceramics: A review. **Journal of the American Ceramic Society**, 2006. v. 89, n. 6, p. 1771–1789.

TSIBRANSKA, I. H.; TYLKOWSKI, B. Concentration of ethanolic extracts from *Sideritis* ssp. L. by nanofiltration: Comparison of dead-end and cross-flow modes. **Food and Bioproducts Processing**, 2013. v. 91, n. 2, p. 169–174.

VAILLANT, F. *et al.* Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction. **Journal of Food Engineering**, 1999. v. 42, n. 4, p. 215–224.

VICENTE, R. *et al.* A prospection on membrane-based strategies for downstream processing of surfactin. **Chemical Engineering Journal**, jul. 2021. v. 415, p. 129067.

WANG, W. Y. *et al.* Preparation and characterization of PEG-g-MWCNTs/PSf nano-hybrid membranes with hydrophilicity and antifouling properties. **RSC Advances**, 2015. v. 5, n. 103, p. 84746–84753.

WESCHENFELDER, S. E. **Aplicação de membranas cerâmicas para o tratamento de água produzida em unidades marítimas de produção de petróleo**. Rio de Janeiro: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, 2015. Tese (doutorado).

WU, Y. S. *et al.* Anticancer activities of surfactin potential application of nanotechnology assisted surfactin delivery. **Frontiers in Pharmacology**, 26 out. 2017. v. 8, n. OCT, p. 761.

YANG, Y. *et al.* Effect of Type and Content of Pore-forming Agents on Properties of Porous Alumina Membrane Support. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, 2018. v. 452, n. 2.

ZANOTTO, A. W. *et al.* New sustainable alternatives to reduce the production costs for surfactin 50 years after the discovery. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2019. v. 103, n. 21–22, p. 8647–8656.

ZHAO, H. *et al.* Biological activity of lipopeptides from Bacillus. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2017. v. 101, n. 15, p. 5951–5960.

ZHENG, J.; GALJAARD, G.; SHORNEY-DARBY, H. Ceramic microfiltration – influence of pretreatment on operational performance. **Water Practice and Technology**, 2015. v. 10, n. 4, p. 747–760.

ZHU, L. *et al.* Waste-to-resource preparation of a porous ceramic membrane support featuring elongated mullite whiskers with enhanced porosity and permeance. **Journal of the European Ceramic Society**, 2015. v. 35, n. 2, p. 711–721.

APÊNDICE A - Produção da surfactina

A manipueira foi coletada em uma indústria farinheira (Rocha & Filho Ltda - SC - Brasil) e transportada sob refrigeração. A manipueira foi fervida e centrifugada para remoção do material sólido insolúvel (amido). O sobrenadante foi armazenado a -22 °C (ANDRADE *et al.*, 2016). O pH do meio (5,8) não foi ajustado.

O inóculo foi preparado a partir da cultura de *Bacillus subtilis* ATCC6633, inoculada em placa de Petri com caldo infusão cérebro coração (BHIB), transferido para Erlenmeyer contendo 50 mL de BHIB e incubado em shaker a 30 °C, 150 rpm por 12 h (ANDRADE *et al.*, 2016; BARROS; PONEZI; PASTORE, 2008).

A cultura foi inoculada em 150 mL de meio de cultura (manipueira), previamente esterilizada a 120 °C, 1 atm por 20 min, na concentração de 7% (v/v).

Após 72 horas de fermentação, foi realizada a remoção de biomassa utilizando centrífuga de bancada modelo SL-700 (Solab, BRA) a 5.000 rpm por 10 minutos, sendo o sobrenadante armazenado para posterior etapa de purificação da surfactina, e o precipitado descartado.