



ANÁLISE TÉCNICO-ECONÔMICA PRELIMINAR DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE SURFACTINA

Augusto Vieira Magalhães

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadores: Frederico de Araújo Kronemberger
Denise Maria Guimarães Freire

Rio de Janeiro
Setembro de 2019

ANÁLISE TÉCNICO-ECONÔMICA PRELIMINAR DO PROCESSO DE
PRODUÇÃO DE SURFACTINA

Augusto Vieira Magalhães

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE)
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Examinada por:

Prof. Frederico de Araújo Kronemberger, D.Sc.

Prof.^a. Denise Maria Guimarães Freire, D.Sc.

Prof. José Vitor Bomtempo Martins, D.Sc.

Prof. Amaro Gomes Barreto Jr., D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

SETEMBRO DE 2019

Magalhães, Augusto Vieira

Análise técnico-econômica preliminar do processo de produção de surfactina / Augusto Vieira Magalhães. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2019.

XIX, 141 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Frederico de Araújo Kronemberger

Denise Maria Guimarães Freire

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2019.

Referências Bibliográficas: p. 99-110.

1. Surfactina. 2. Biossurfactante. 3. Análise Técnico-Econômica. I. Kronemberger, Frederico de Araújo *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, irmão e sobrinha, pela inspiração, motivação e suporte em absolutamente tudo

À Naiara e família, pela parceria incondicional, carinho, conselhos e revisão

Aos professores Fred e Denise, pela orientação científica e conduta durante todo o projeto. Sempre disponíveis, objetivos, eficientes, e fundamentais na minha motivação

Aos professores Apostolis, José Vitor e Oroski, pelas valiosas contribuições para a construção da análise econômica

Aos professores que participaram dos seminários de acompanhamento Habert e Tito, pelos apontamentos

Aos amigos de sempre, principalmente: Michel, Washington, Rafael, Ricardo e Vitor e Felipe, pela compreensão e incentivo

A Aninha e Dário, por terem sido desde sempre grandes exemplos de conduta pessoal e científica na pesquisa

Aos amigos da COPPE, principalmente Marcos, Daniel, Luiza e Nathália pelo apoio e disponibilidade

Aos amigos da UEMP, principalmente Vanessa, Bárbara e Marjolly pelo carinho e motivação, e à professora Lina pelo apoio à minha formação

Ao grupo do PAM pelas sugestões bem pontuadas nos seminários

Ao grupo do Labim, em especial Rui e Carol, pela participação no conhecimento microbiológico e no design dos processos

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

ANÁLISE TÉCNICO-ECONÔMICA PRELIMINAR DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE SURFACTINA

Augusto Vieira Magalhães

Setembro/2019

Orientadores: Frederico de Araújo Kronemberger

Denise Maria Guimarães Freire

Programa: Engenharia Química

Surfactina é um biossurfactante e lipopeptídeo secretado pelo gênero *Bacillus subtilis*, de crescente interesse industrial devido à sua potencial aplicabilidade em diversas áreas e às suas propriedades antimicrobianas. A aplicação em cosméticos foi selecionada como mais promissora, devido ao alto valor agregado e ao destaque encontrado na literatura. O processo clássico ocorre via borbulhamento de ar e coleta da espuma, seguido de extração com solvente. Na literatura as principais alternativas tecnológicas para essas etapas são a produção com oxigenação não dispersiva usando contactores por membranas e a ultrafiltração. Foram construídos quatro fluxogramas de processo, baseados nas possibilidades de produção e purificação mencionadas. Para analisar a viabilidade econômica, 36 simulações foram realizadas no *SuperPro Designer (Intelligen, Inc)*. Os principais parâmetros do processo foram avaliados através de uma análise de sensibilidade dos resultados usando o *Crystal Ball (Oracle®)*. Foi demonstrado ser fundamental para a viabilidade dos processos que a capacidade de produção fosse igual ou superior a 5 t/ano. A flutuação dos custos dos equipamentos e o uso de meios alternativos não foram cruciais para a viabilidade, já a produtividade volumétrica foi o fator mais relevante, sendo responsável por até 80% da variabilidade da lucratividade.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

PRELIMINARY TECHNO-ECONOMIC ANALYSIS OF SURFACTION PROCESS
PRODUCTION

Augusto Vieira Magalhães

September/2019

Advisors: Frederico de Araújo Kronemberger

Denise Maria Guimarães Freire

Department: Chemical Engineering

Surfactins are lipopeptides, a class of biosurfactants, which is recently presenting substantial market growth. The molecule is a lipopeptide secreted by *Bacillus subtilis* strains and came into light as a promising industrial target due to its range of potential applicabilities and remarkable antimicrobial activity. Production for cosmetic market was selected due to its higher aggregated value and recent growing interest in literature. Classical process description is based on bubbling bioreactor, foam fractioning and solvent extraction, whereas technological alternatives rely on non-dispersive oxygenation using membrane contactors and ultrafiltration. Four process scenarios were defined based on the production and purification possibilities mentioned above. Four process flow diagrams were designed and 36 simulations were conducted in *SuperPro Designer (Intelligen, Inc)* to develop a techno-economic evaluation. A sensitivity analysis was performed using *Crystal Ball (Oracle ®)*. Results highlighted for the first time the importance to produce above 5 t/y to assure process feasibility. Furthermore, process equipment optimization for cost reduction and the use of alternative media from renewable sources revealed minor impact on the process feasibility. Volumetric productivity was by far the most significant parameter, holding up to 80% of the process costs variability.

Sumário

Capítulo I – Introdução	1
1.1 Contextualização	1
1.2 Produto	3
1.3 Estado da arte	7
1.4 Objetivo da dissertação	10
1.4.1 Objetivo geral	10
1.4.2 Objetivos específicos.....	10
Capítulo II - Revisão bibliográfica.....	11
2.1 Produto e aplicações.....	11
2.1.1 Biopesticidas	12
2.1.2 Biorremediação	13
2.1.3 Cosméticos	13
2.1.4 Biomédica e farmacêutica	14
2.1.5 Panorama geral	14
2.2 Processo.....	15
2.2.1 Meio de cultura.....	21
2.2.2 Condições de cultivo	24
2.2.3 Propagação do inóculo	25
2.2.4 Fermentação com borbulhamento	25
2.2.5 Fermentação com membranas contactoras.....	26
2.2.6 Fracionamento por coleta de espuma	28
2.2.7 Microfiltração.....	29
2.2.8 Precipitação ácida.....	29
2.2.9 Extração com solvente.....	30
2.2.10 Ultrafiltração	31
2.3 Simulação	33

2.4	Análise técnico-econômica preliminar.....	34
2.4.1	Análise do mercado.....	36
2.4.2	Custo dos equipamentos.....	39
2.4.3	Custos fixos de investimento.....	40
2.4.4	Custos de manufatura.....	41
2.4.5	Análise de sensibilidade.....	41
Capítulo III –Metodologia.....		43
3.1	Simulação.....	43
3.1.1	Parâmetros globais.....	46
3.1.2	Tanques e silos.....	46
3.1.3	CIPs e SIPs.....	46
3.1.4	Scheduling.....	47
3.1.5	Meio de cultura.....	47
3.1.6	Esterilização do meio.....	47
3.1.7	Condições de cultivo.....	47
3.1.8	Propagação do inóculo.....	48
3.1.9	Fermentação com borbulhamento.....	48
3.1.10	Fermentação com contactoras.....	49
3.1.11	Fracionamento por coleta da espuma.....	50
3.1.12	Microfiltração.....	50
3.1.13	Precipitação ácida.....	50
3.1.14	Extração com solvente.....	50
3.1.15	Ultrafiltração.....	51
3.2	Análise Econômica.....	52
3.2.1	Custo de investimento fixo.....	52
3.2.2	Matérias-primas.....	53
3.2.3	Custo de mão-de-obra.....	53

3.2.4	Custo de utilidades	53
3.2.5	Custo de manufatura.....	53
3.2.6	Análise técnico-econômica.....	53
3.2.7	Análise de sensibilidade	54
Capítulo IV– Resultados e discussão		56
4.1	Diagrama de blocos	56
4.2	Fluxogramas de processo	57
4.1	Simulações	59
4.2	Análise técnico-econômica.....	71
4.3	Análise de sensibilidade	75
Capítulo V– Conclusões.....		95
5.1	Considerações finais.....	95
5.2	Perspectivas.....	97
Capítulo VI –Referências bibliográficas		99
Capítulo VII– Anexos		111
7.1	Cálculos Preliminares.....	111
7.1.1	Estequiometria da reação.....	111
7.1.2	Concentração final de biomassa e surfactina	114
7.1.3	Meio de cultivo.....	115
7.1.4	Coleta de espuma	116
7.1.5	Aeração por contactores	118
7.1.6	Tanques e vasos.....	121
7.1.7	Extração com solvente.....	121
7.1.8	Filtros	122
7.1.9	Scheduling dos biorreatores	123
7.2	Fluxogramas no simulador	124
7.3	Lista de equipamentos.....	125

7.4	Lista de OPEX.....	125
7.5	Lista de EVTE.....	138

Lista de Figuras

Figura 1: Classificação de surfactantes (Chen; Juang; Wei ,2015) (Santos <i>et al.</i> , 2016).....	2
Figura 2: Estrutura genérica das surfactinas.....	4
Figura 3: Estrutura química da principal surfactina	5
Figura 4: Publicações de Documentos na Base Scopus (Elsevier)	6
Figura 5: Cenários de produção selecionados	44
Figura 6: Fluxo de informação das variáveis de saída do SPD	46
Figura 7: Diagrama de blocos	56
Figura 8: Fluxogramas de processos: áreas 100 (A) e 200 (B)	60
Figura 9: Fluxogramas de processos: área 300 - cenários 1 e 2 (A), 3 e 4 (B)	61
Figura 10: Fluxogramas de processos: área 400 - cenários 1 e 3 (A), 2 e 4 (B)	62
Figura 11: Exemplo de processamento do EVTE – Cenário 1 a 5 t/ano 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹	73
Figura 12: VPL dos 4 cenários base (5 t/ano a 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	73
Figura 13: Distribuição de probabilidade do VPL – cenário 1.....	80
Figura 14 : Distribuição de probabilidade do VPL – cenário 2.....	80
Figura 15 : Distribuição de probabilidade do VPL – cenário 3.....	81
Figura 16 : Distribuição de probabilidade do VPL – cenário 4.....	81
Figura 17: Resumo das distribuições de VPL	84
Figura 18 : Distribuição de probabilidade do VPL – 1 t/ano ; * = p < 0,05.....	85
Figura 19 : Distribuição de probabilidade do VPL – 5 t/ano ; * = p < 0,05.....	85
Figura 20 : Distribuição de probabilidade do VPL – 10 t/ano ; * = p < 0,05.....	86
Figura 21: Variação da média do VPL com a capacidade da planta.....	89
Figura 22: Índice de lucratividade para rp=18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹	89
Figura 23: Análise de sensibilidade – 1 t	91
Figura 24: Análise de sensibilidade – 5 t	91
Figura 25: Análise de sensibilidade – 10 t	92
Figura 26 : Curva de crescimento típica de <i>Bacillus subtilis</i> (YEH; WEI; CHANG, 2005)	113
Figura 27: Layout do processo do cenário 1 e principais equipamentos simulado no SPD... ..	126
Figura 28: Layout do processo do cenário 2 e principais equipamentos simulado no SPD... ..	127
Figura 29: Layout do processo do cenário 3 e principais equipamentos simulado no SPD... ..	128
Figura 30: Layout do processo do cenário 4 e principais equipamentos simulado no SPD... ..	129

Lista de Tabelas

Tabela 1 : Resumo do estado da arte sobre surfactinas	9
Tabela 2: Patentes para o uso de surfactina até 2014 (GHRIBI <i>et al</i> 2015).....	16
Tabela 3: Patentes recentes (2015 a 2017) utilizando surfactina	17
Tabela 4 : Processos de produção de surfactina (COUTTE et al., 2017).....	20
Tabela 5 : Principais processos de produção de surfactina	22
Tabela 6: Tipos de <i>designs</i> de processo	35
Tabela 7 : Principais parâmetros da simulação.	45
Tabela 8: Parâmetros para análise de sensibilidade	55
Tabela 9: Resumo dos PFDs dos cenários	59
Tabela 10 : Dimensão dos equipamentos para o cenário 1 caso base no SPD.....	64
Tabela 11 : Consumo de utilidades, matérias-primas, e número total de equipamentos para cenário 1 caso base no SPD.....	65
Tabela 12 : Dimensão dos equipamentos para o cenário 2 caso base no SPD.....	66
Tabela 13 : Consumo de utilidades, matérias-primas, e número total de equipamentos para cenário 2 caso base no SPD.....	67
Tabela 14 : Dimensão dos equipamentos para o cenário 3 caso base no SPD.....	68
Tabela 15 : Consumo de utilidades, matérias-primas, e número total de equipamentos para cenário 3 caso base no SPD.....	69
Tabela 16 : Dimensão dos equipamentos para o cenário 4 caso base no SPD.....	70
Tabela 17: Consumo de utilidades, matérias-primas, e número total de equipamentos para cenário 4 caso base no SPD.....	71
Tabela 18: Parâmetros econômicos dos cenários base (5 t/ano a 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹).....	72
Tabela 19 : Matriz de simulações.....	77
Tabela 20: Fatores multiplicadores variáveis.....	77
Tabela 21: Fatores multiplicadores constantes.....	78
Tabela 22: Exemplo de 10 combinações para o cenário 4 e capacidade de 10 t.....	79
Tabela 23: Parâmetros de ajustes das distribuições lognormal	86
Tabela 24 : Composição do meio de cultura	115
Tabela 25: Dados de (COUTTE et al., 2010) para as membranas contactoras.....	120
Tabela 26: Custos fixos do cenário 1 (5 t/ano e 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	130
Tabela 27: Custos fixos do cenário 2 (5 t/ano e 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	131
Tabela 28: Custos fixos do cenário 3 (5 t/ano e 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	132

Tabela 29: Custos fixos do cenário 4 (5 t/ano e 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	133
Tabela 30: Custos variáveis do cenário 1 (5 t/ano e 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹).....	134
Tabela 31: Custos variáveis do cenário 2 (5 t/ano e 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹).....	135
Tabela 32: Custos variáveis do cenário 3 (5 t/ano e 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹).....	136
Tabela 33: Custos variáveis do cenário 4 (5 t/ano e 18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹).....	137
Tabela 34: Resumo do EVTE das simulações do cenário 1	138
Tabela 35 : Resumo do EVTE das simulações do cenário 2.....	139
Tabela 36: Resumo do EVTE das simulações do cenário 3.....	140
Tabela 37 : Resumo do EVTE das simulações do cenário 4.....	141

Abreviações

SPD – *SuperProDesigner (Software)*

PFD – Fluxograma de processo (*Process Flow Diagram*)

SIP – Esterilização *in situ* (*Sterilization In Place*)

CIP – Limpeza *in situ* (*Cleaning In Place*)

EVTE – Estudo de viabilidade técnico-econômica

FCI – Custo fixo de investimento

COM – Custo de manufatura

CAPEX – Custos de capital

OPEX – Custos de operação

CEP - *Chemical engineering plant cost index*

FCC – Fluxo de caixa acumulado

VPL – Valor presente líquido

PBT – *payback time*

PBDT – *Payback discounted time*

MSP – Mínimo preço de venda (*Minimum selling price*)

TIR – Taxa interna de retorno

UF – Ultrafiltração

MF – Microfiltração

DF – Diafiltração

MM – Massa Molar

vvm – Unidade de aeração (volume de ar por minuto por volume de biorreator)

L/D - Razão altura por diâmetro de um vaso

MES – Escala mínima eficiente (*Minimum efficient scale*)

rp_OPEX – Influência da produtividade volumétrica sobre o OPEX

rp_CAPEX – Influência da produtividade volumétrica sobre o CAPEX

Lista de Símbolos

L – Lucro

p – Produção anual da planta

pv – Preço de venda

cg – Capital de giro

fcg – Fração do FCI para o capital de giro

t – Taxa de impostos (%)

d – Depreciação (%)

t,i – Tempo de projeto no ano i

Cr_m – Custo de matéria-prima (*Raw Material*)

C_{ul} – Custo de utilidades

C_{ol} – Custo de mão de obra (*Operating Labour*)

C_{meio} – Custo do meio

C_i – Consumo da matéria prima i

P_i – Preço de compra da matéria prima i

CF_i – Fluxo de caixa no ano i

PV_i – Valor presente no ano i

IR – Taxa interna de retorno de interesse

C_{eq} – Custo do equipamento do projeto

C_{eq,old} – Custo do equipamento usado como referência

C_{inst} – Custo do equipamento do projeto incluindo instalação

$\frac{CEP,new}{CEP,old}$ — Razão de conversão do valor do equipamento para o ano do projeto

$\frac{X,new}{X,old}$ -- Razão de conversão do valor do equipamento para a dimensão do projeto

a – Fator exponencial de custo

Re – Número de Reynolds

Sh – Número de Sherwood

Sc – Número de Schmidt

qp – Produtividade volumétrica específica de surfactina

Xv – Concentração de células viáveis

rp – Produtividade volumétrica de surfactina

μ_x – Taxa específica de crescimento celular

Y p/s – Fator de rendimento de glicose em surfactina

Y x/s – Fator de rendimento de glicose em surfactina

Csrf – Concentração de surfactina

Xo – Concentração de células no início da reação

X – Concentração de células

Srf, rec – Recuperação de surfactina na espuma após fermentação

m,srf,espuma – Massa de surfactina na espuma após fermentação

m,srf,reator – Massa de surfactina no reator após fermentação

c,srf,espuma – Concentração de surfactina na espuma após fermentação

c,srf,reator – Concentração de surfactina no reator após fermentação

C BM espuma – Concentração de biomassa na espuma após fermentação

C BM reator – Concentração de biomassa no reator após fermentação

BM enr – Enriquecimento de biomassa na espuma

Srf enr – Enriquecimento de surfactina na espuma

Vfu – Volume útil após a fermentação

V,espuma – Volume de líquido no coletor de espuma após a fermentação

V,reator – Volume no reator ao final da fermentação

A – Área total das membranas contactoras

sOUR – Taxa específica de consumo de oxigênio

V – Volume útil do biorreator antes da fermentação

k – Coeficiente de transferência de massa na aeração

de – Diâmetro externo das fibras

Vl – *Velocidade* do meio passando pelas contactoras

ν – Viscosidade cinemática da água

λt – Ocupação percentual do biorreator

tf – Tempo de fermentação

tu – Tempo de processamento depois do reator

tl – Tempo de processamento antes do reator

tb – Tempo da batelada do biorreator

t – tempo

tlag – tempo de fase lag

Vfr – Ocupação percentual do biorreator ao final da fermentação

Nb – Número de biorreatores em paralelo

R – Retenção em processo de filtração genérico

Cp – Concentração no permeado em processo de filtração genérico

Cf – Concentração na alimentação em processo de filtração genérico

Δp – Gradiente de pressão em processo de filtração genérico

K – Permeabilidade em processo de filtração genérico

J – Fluxo volumétrico em processo de filtração genérico

Q – Vazão volumétrica em processo de filtração genérico

K_i – Coeficiente de partição em processo genérico de extração líquido-líquido

y_i – Fração molar do componente i na fase leve em processo genérico de extração líquido-líquido

x_i – Fração molar do componente i na fase pesada em processo genérico de extração líquido-líquido

D – Difusividade do oxigênio no meio de aeração

d – diâmetro interno das fibras da membrana contactora

d_e – diâmetro externo das fibras da membrana contactora

ν – viscosidade cinemática do meio nas condições de aeração

MT_v – Volume do vaso de mistura

T_r – Tempo de residência (ou autonomia para tanques)

$V_{fr,s}$ – Vazão volumétrica de saída do vaso/tanque

λ_t – Fração de ocupação do vaso/tanque

μ – Média da distribuição do VPL

σ – Desvio padrão da distribuição do VPL

Capítulo I – Introdução

1.1 Contextualização

Surfactantes são moléculas de caráter anfifílico, isto é, possuem uma parte polar e outra apolar. A nomenclatura vem do termo em inglês *surfactant*, condensado de *surface active agent* (agente ativo de superfície), e possui como sinônimo a designação de tensoativos, por essas moléculas serem capazes de diminuir a tensão superficial de um fluido ou de alterar as propriedades interfaciais entre dois fluidos distintos (MILTON J ROSEN; KUNJAPPU, 2012).

A concentração micelar crítica é a concentração na qual o tensoativo se encontra em excesso no meio, após ter estabilizado toda interface polar/apolar. Surfactantes possuem caráter anfifílico e podem estabilizar compostos apolares em meio polar, formando micelas em concentrações acima da concentração micelar crítica. Justamente como decorrência dessa propriedade são bastante usados como agentes de natureza emulsificantes, estabilizando dispersões em sistemas coloidais de vários tipos: líquido-líquido, sólido-líquido e gás-líquido; com aplicações principais na indústria de cosméticos, farmacêutica, alimentícia e de petróleo (MILTON J ROSEN; KUNJAPPU, 2012).

Surfactantes possuem as mais variadas composições químicas, pois os dois grupos de diferentes polaridades podem ser constituídos de uma grande variedade de estruturas químicas. Os surfactantes convencionais e amplamente difundidos são oriundos da indústria petroquímica, sendo os de maior destaque os alquilbenzeno sulfonato lineares, e os alquilfenol etoxilados. Entretanto, pela origem não renovável da matéria-prima e pela complicada biodegradação desses tensoativos, a demanda pelo desenvolvimento de produtos e processos de novos tensoativos persiste (SCOTT; JONES, 2000).

Biossurfactantes (surfactantes com origem biológica) inicialmente foram estudados em sua forma nativa, e moléculas extraídas de plantas surgiram como uma alternativa aos tensoativos provenientes da indústria de petroquímicos. Com a vantagem de serem mais ambientalmente compatíveis, moléculas naturais, como a saponina, tiveram sua tecnologia de produção e caracterização desenvolvida (YANG et al., 2013). Entretanto, biossurfactantes de origem vegetal podem causar irritação à pele, e demandam uma considerável área de plantação e colheita; portanto, sua associação com processos de baixo impacto é discutível.

Por outro lado, biossurfactantes de origem microbiana surgiram como outra alternativa aos tensoativos tradicionais. São também produzidos a partir de fontes renováveis, e apresentam as vantagens de serem menos danosos ao meio ambiente (BANAT; MAKKAR; CAMEOTRA, 2000), além do fato de que suas várias atividades biológicas sugerem uma gama de aplicações desde o uso doméstico em produtos de limpeza, até na melhoria do processo de extração de petróleo (MARCHANT; BANAT, 2012).

O desenvolvimento desses biossurfactantes está atrelado a uma perspectiva futura de substituir, em uma parcela razoável das aplicações atuais, os surfactantes convencionais (SANTOS et al., 2016).

Biossurfactantes podem ser classificados de diversas formas, mas são comumente organizados em 5 grupos: glicolipídios; fosfolipídios e ácidos graxos; particulados; poliméricos; lipopeptídeos e lipoproteínas (CHEN; JUANG; WEI, 2015) (SANTOS et al., 2016) (Figura 1).

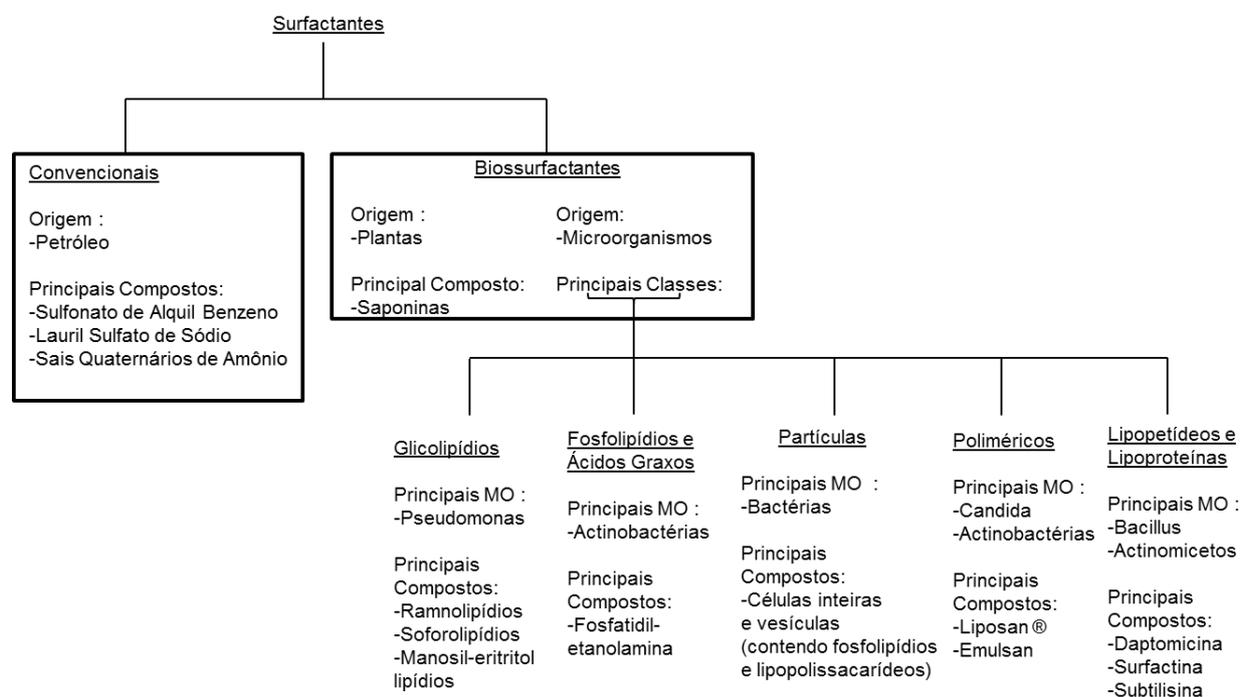


Figura 1: Classificação de surfactantes (Chen; Juang; Wei ,2015) (Santos *et al.*, 2016)

Dos biossurfactantes, os glicolipídios (destacadamente os ramnolipídios e soforolipídios), estão em estágio mais avançado de desenvolvimento tecnológico

(MARCHANT; BANAT, 2012), liderando a produção industrial com pelo menos 13 empresas produtoras (RANDHAWA; RAHMAN, 2014).

Lipopeptídeos, por outro lado, têm se destacado pelas superiores atividades antimicrobianas (MEENA; KANWAR, 2015)(COUTTE *et al.*, 2017). São moléculas caracterizadas por conter uma parte peptídica polar e uma cadeia lipídica apolar, conferindo o caráter anfifílico do biossurfactante. Cerca de 30 lipopeptídeos distintos já foram identificados, destacando-se: viscosina; pseudofactina; lichensina; iturinas; e surfactinas; produzidos basicamente em *Bacillus* ou em *Pseudomonas* (MNIF; GHRIBI, 2015).

Lipopeptídeos foram aprovados em 2003 como antibióticos nos Estados Unidos. Atualmente a comercialização está autorizada em cerca de 70 países, com movimentação anual estimada da ordem de 1 bilhão de dólares (MEENA; KANWAR, 2015). Dos lipopeptídeos, a daptomicina é a mais conhecida, sendo inclusive iniciada sua comercialização nos Estados Unidos da América sob o nome de Cubicin®. A Daptomicina é um peptídeo cíclico, cujas propriedades antibióticas podem ser aplicadas no tratamento de infecções sanguíneas e de pele, por apresentar atividade contra patógenos resistentes e clinicamente relevantes (MANDAL; BARBOSA; FRANCO, 2013).

Bacillus subtilis é uma bactéria gram-positiva esporulada e não patogênica, capaz de produzir três dos principais lipopeptídeos: iturinas, fengicinas e surfactinas (KIM et al., 2010), sendo a última, descoberta em 1968, a de maior destaque (ARIMA; KAKINUMA; TAMURA, 1968).

A variação na composição desses três lipopeptídeos (iturina, surfactina e fengicina) secretados pode variar para diferentes cepas de *Bacillus subtilis*, alterando as propriedades antimicrobianas moduladas por diferenciações nas rotas biossintéticas dos genes envolvidos na secreção dessas moléculas (MORA; CABREFIGA; MONTESINOS, 2015).

1.2 Produto

As surfactinas são uma classe de moléculas composta de um heptapeptídeo cíclico com um β -hidroxi-ácido graxo conectado às duas extremidades da cadeia peptídica (

Figura 2). A extensão da cadeia de lipídio pode variar de 12 a 17 carbonos e apresentar terminação com um.

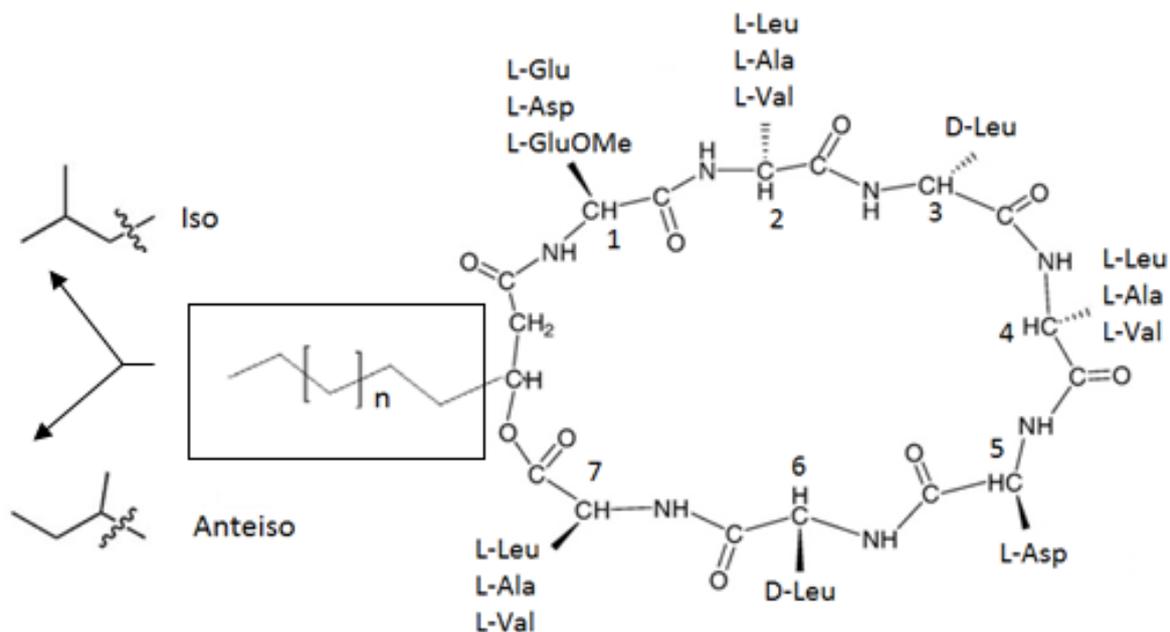


Figura 2: Estrutura genérica das surfactinas

Leu= Leucina, Ala=Alanina, Val=Valina, Asp=Ácido Aspártico, Glu=Ácido Glutâmico, GluOMe=Ácido Glutâmico orto metilado

carbono secundário, ou terciário (estruturas iso ou anteiso) (BINIARZ; ŁUKASZEWICZ, 2017) (CHEN; JUANG; WEI, 2015).

Variações nos aminoácidos 2,4 ou 7 por alanina (Ala), valina (Val) ou leucina (Leu) também foram identificadas (GORDILLO; MALDONADO, 2012), assim como variações no aminoácido 1 por ácido aspártico (Asp), ácido glutâmico (Glu) ou ácido glutâmico o-metilado (GluOMe) (LIU; YANG; MU, 2009).

Embora a secreção de surfactinas esteja associada a produção de moléculas com distintas estruturas e concentrações, o composto mais comum da classe é muitas vezes mencionada apenas como surfactina, e é composta pela estrutura da Figura 3 e pode ser expresso por extenso como (C12|N-Term L-Glu|L-Leu|D-Leu|L-Val|L-Asp|D-Leu|L-Leu C-term|) (HUE; SERANI; LAPRVOTE, 2001) .

Showa Denko K.K. (SDK) foi a primeira empresa a iniciar a produção de surfactina, para aplicações em uso cosmético em 2001 sob o nome comercial de Aminofect®, conforme trabalho publicado por grupo de pesquisa da empresa (Yoneda *et al*, 2001) e processo patentado sob o número CN1466626.

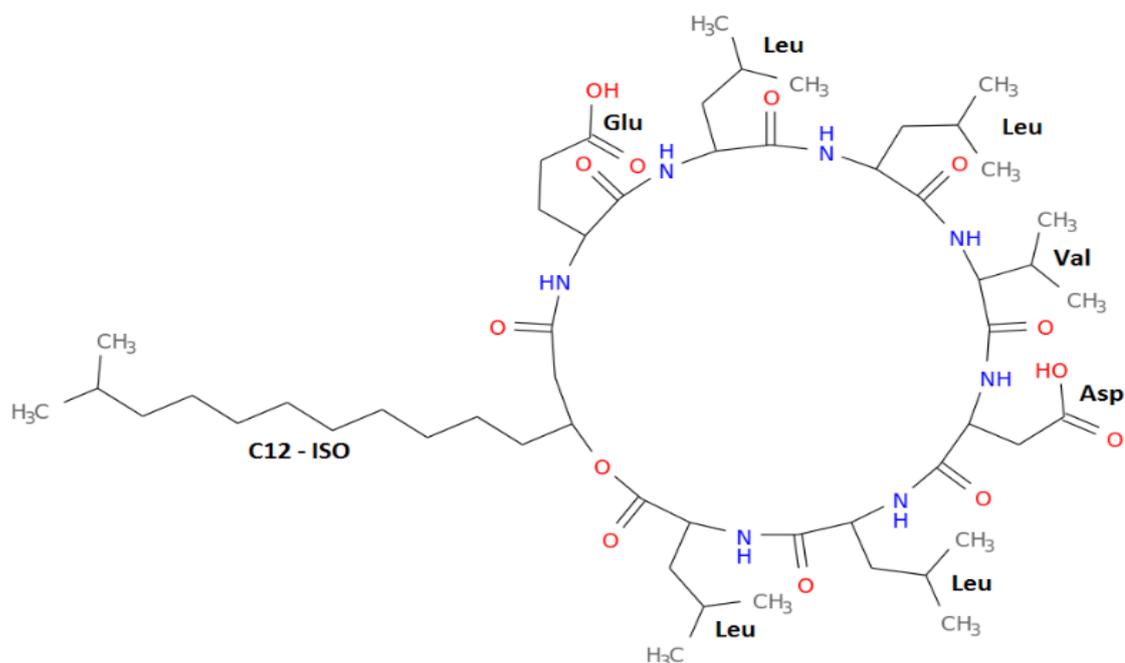


Figura 3: Estrutura química da principal surfactina

As vendas eram esperadas de movimentar cerca de ¥ 1 bilhão após estabelecimento no mercado, com as aplicabilidades de compor cremes e loções de limpeza para uso cosmético, sendo compatível e agradável à pele humana. Existem várias patentes que protegem o uso de surfactina em formulações, inclusive a própria Showa Denko patenteou um produto cosmético utilizando surfactina como emulsificante do tocoferol (SHOWA DENKO K.K, 2005).

Atualmente a surfactina sódica é comercializada pela empresa de cosméticos sul-coreana Kaneko Co (IZUMIDA; KAWASAKI; MOROSHIMA, 2013). Em 2016, inclusive, a companhia estabeleceu acordo com a empresa Sabo S.p.A para produção e aplicação do lipopeptídeo em compostos com aplicação cosmética, dentre eles uma formulação de nome comercial SABO[®] SOL RF.

A comercialização atual de surfactina ocorre através do número de registro de compostos químicos (CAS) 302933-83-1 na forma sódica, ou 24730-31-2 na forma neutra. A agência de proteção ambiental americana (EPA) regulamentou o produto em 2014, e a agência de produtos químicos europeia (ECHA) o fez em 2013. Atualmente o produto também consta em catálogos de empresas fornecedores de reagentes para pesquisa, como a Sigma Aldrich ou a Angenechemica.

O crescimento das publicações em artigos científicos sobre surfactinas (Figura 4) é associado ao crescimento de pesquisas sobre biossurfactantes e lipopeptídeos, o que sugere que o interesse por surfactinas pode estar atrelado às propriedades típicas de biossurfactantes. O interesse em surfactinas tem sido menor que o de ramnolipídios, o que é natural pois o último parece estar em um maior nível de maturidade tecnológica com cerca de 15 empresas produtoras (RANDHAWA; RAHMAN, 2014).

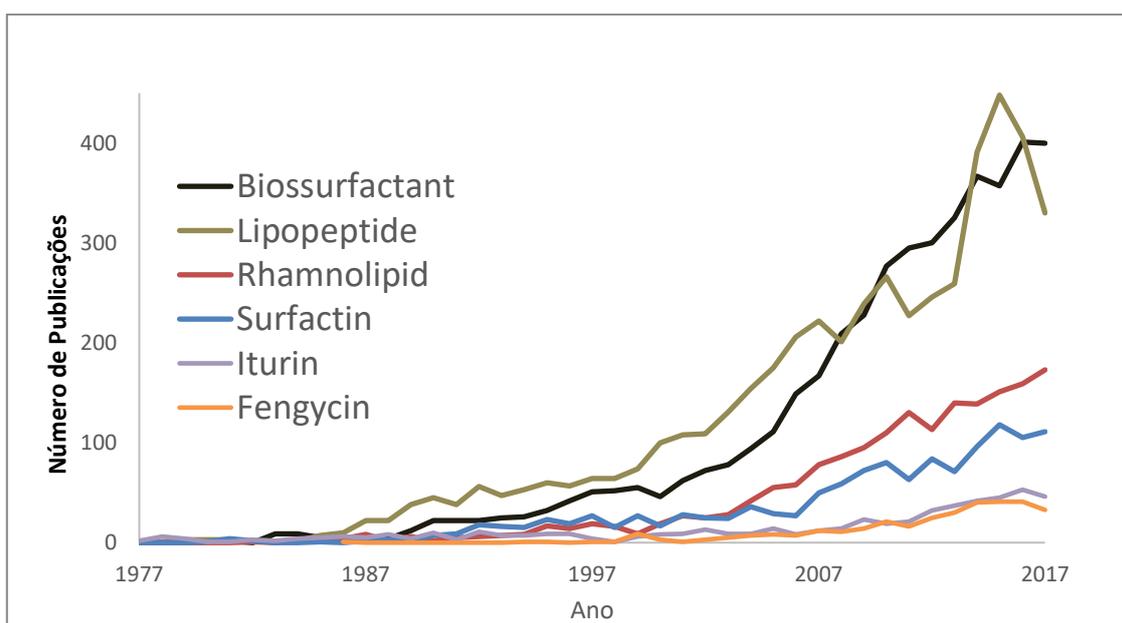


Figura 4: Publicações de Documentos na Base Scopus (Elsevier)

Presença da palavra no título, resumo ou palavra-chave; busca realizada em 20/11/2017

Além disso, dentre os três lipopeptídeos clássicos de *Bacillus subtilis* é notável que a frequência de documentos com surfactina seja em média maior que o dobro com iturinas ou fengicinas, o que pode ser resultado de sua maior produtividade e maior diversidade de propriedades (LIU et al., 2015).

O menor número de publicações de surfactinas frente aos ramnolipídios e soforolipídios pode decorrer do fato de a produção de surfactina ser baixa e normalmente a concentração final não ultrapassar 1 g/L (CHEN; JUANG; WEI, 2015). Por outro lado, a surfactina têm a vantagem de ser produzida por um microrganismo não patogênico, já os ramnolipídios são produzidos pelo gênero patogênico *Pseudomonas*, cujos processos requerem cuidado especial com saúde do trabalhador e segurança de processo.

A amplitude de aplicações para a surfactina, certamente é um dos motivos pelo qual ela é muito estudada. Nas áreas farmacêutica e biomédica importantes artigos de revisão já foram escritos sobre as questões dessas aplicações (MANDAL; BARBOSA; FRANCO, 2013), (SEYDLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008), (INÈS; DHOuha, 2015); sendo as principais aplicações: antibactericida, antifúngico, antimicoplasma, antiviral, antitumoral, anti alzheimer, trombolítico, e antiadesivo de biofilme.

Na área cosmética, uma revisão feita por (KANLAYAVATTANAKUL; LOURITH, 2010) descreve as potencialidades para a área e detalha aplicações envolvendo propriedades como: anti rugas, umectante, dispersante e espumante.

A aplicação como biopesticida foi detalhada em artigo de revisão por (MEENA; KANWAR, 2015), destacando como principais aplicações: anti parasita e larva de mosquito, anti fitopatógenos e biorremediação de solo.

1.3 Estado da arte

Embora haja o interesse de que biossurfactantes sejam competitivos frente a surfactantes químicos, os ramnolipídios podem estar mais próximos de uma maturidade tecnológica devido às maiores concentrações alcançadas ao final da fermentação, atingindo até 20 g/L (MARCHANT; BANAT, 2012). Mesmo considerando que essa quantidade deva estar subestimada devido a proteção e omissão de informações detalhadas das empresas produtoras, sua concentração alta decorre de razoáveis produtividades volumétricas (BHARAL; KONWAR, 2011).

Surfactinas por sua vez, dificilmente alcançam concentrações maiores que 2 g/L em biorreator, mesmo com todas as tentativas de otimização disponíveis (CHEN; JUANG; WEI, 2015). Devido à baixa produtividade, e aos altos custos típicos de processos biotecnológicos com baixo rendimento, é que se justifica o distanciamento da produção em larga escala de surfactinas.

Por outro lado, existe a expectativa de que se forem vendidos como produtos de maior valor agregado, visando principalmente aplicações nas área biomédicas e de cosméticos, os altos custos possam ser compensados (CHEN; JUANG; WEI, 2015). Dessa forma, o conhecimento das propriedades e aplicações da surfactina, bem como o estudo da otimização

da produção são os maiores focos de pesquisa para tornar o processo mais promissor (Tabela 1).

O conhecimento dos processos bioquímicos envolvidos na biossíntese de surfactina continuam a ser explorados com o intuito de aumentar a produtividade das cepas encontradas. A análise do genoma e transcriptoma foram realizadas por (ZHI; WU; XU, 2017) e são ferramentas importantes para compreender o processo de transcrição e a correlação com o perfil de expressão diferencial de proteínas desenvolvido por (ZHAO et al., 2014), e pode direcionar e elucidar os mecanismos pelos quais as rotas biossintéticas podem ser reguladas para estimular a produção de surfactina. Além disso, o estudo de engenharia genética constitui experimento prático importante para identificar os genes mais sensíveis para maximizar a síntese de enzimas que favoreçam a produção de surfactina (DHALI et al., 2017)

As tentativas de aumentar a produtividade não se concentram somente no uso de cepas modificadas geneticamente (Tabela 1). As condições operacionais também costumam ser otimizadas para cada processo para maximizar produtividade, a citar: agitação (YEH; WEI; CHANG, 2005); aeração (SEN; SWAMINATHAN, 2005); tamanho do inóculo (GHRIBI; ELLOUZE-CHAABOUNI, 2011); temperatura e pH (SEN; SWAMINATHAN, 1997).

As condições do meio de cultivo, presença e composição de elementos traços (ABDEL-MAWGOUD; ABOULWAFI; HASSOUNA, 2008), a fonte de carbono e nitrogênio também são avaliadas para maximizar a produtividade (FONSECA et al., 2007) (GUIMARÃES, 2015).

A otimização ainda, deve levar em conta não só o aumento na produção, mas também a composição de cada uma das espécies presentes. Fontes de carbono (SINGH; RAUTELA; CAMEOTRA, 2014) e nitrogênio (MUKHERJEE; DAS, 2005) também foram descritas capazes de modular não só a produtividade como a composição de surfactinas e outros lipopeptídeos no meio fermentativo.

Por fim, vale destacar a presença de abordagens utilizando meios alternativos, normalmente de resíduos industriais, para diminuir custos da produção (MANI; SIVAKUMAR; BALAN, 2016) (NOAH; BRUHN; BALA, 2005)

Tabela 1 : Resumo do estado da arte sobre surfactinas

Área	Desenvolvimento	Referência	Objetivo	Atuação
Cepas Mutantes	Genoma/transcriptoma	(ZHI; WU; XU, 2017)	Aumentar Y	Baixa produtividade
	Proteoma	(ZHAO et al., 2014)		
	Engenharia genética	(DHALI et al., 2017)		
Otimização do Meio	Elementos traços	(ABDEL-MAWGOUD; ABOULWAFI; HASSOUNA, 2008)	Aumentar Y	Baixa produtividade
	Fonte de C	(MUKHERJEE; DAS, 2005).		
	Fonte de N	(DAVIS; LYNCH; VARLEY, 1999)		
	Relação C/N	(FONSECA et al., 2007)		
Condições do Processo	Agitação	(YEH; WEI; CHANG, 2005)	Aumentar Y	Baixa produtividade
	Aeração	(SEN; SWAMINATHAN, 2005)		
	Temperatura e pH	(SEN; SWAMINATHAN, 1997)		
	Concentração do inóculo	(GHRIBI; ELLOUZE-CHAABOUNI, 2011)		
Processo de produção	Borbulhamento	(COOPER et al., 1981)	Aumentar Y	Baixa produtividade e Alto custo de produção
	Aeração com contactores	(COUTTE et al., 2010)		
	Fermentação anaeróbia	(WILLENBACHER et al., 2015)		
	Discos rotativos	(CHTIOUI et al., 2012)		
Processos de Purificação	Coleta de espuma	(BURGHOFF, 2012)	Aumentar recuperação e pureza	Alto custo de produção
	Precipitação ácida	(CHEN; CHEN; JUANG, 2007)		
	Extração com solvente	(PATHAK; KEHARIA, 2014)		
	Ultrafiltração	(RANGARAJAN; DHANARAJAN; SEN, 2014)		
	Adsorção	(LIU et al., 2007)		
Meios alternativo	Resíduo do óleo de girassol	(ABDEL-MAWGOUD; ABOULWAFI; HASSOUNA, 2008)	Diminuir custo com matéria Prima	Alto custo de produção
	Efluente da indústria de batata	(NOAH; BRUHN; BALA, 2005)		
	Resíduo da indústria de mandioca	(BARROS; PONEZI; PASTORE, 2008)		

1.4 Objetivo da dissertação

1.4.1 Objetivo geral

Realizar uma análise técnico econômica preliminar da produção industrial e comercialização de surfactina.

1.4.2 Objetivos específicos

Desenvolver um fluxograma de processo simplificado para a produção de surfactina para diferentes cenários de produção;

realizar a simulação dos processos no software *SuperPro Designer (Intelligen, Inc)* de diferentes cenários;

calcular o mínimo preço de venda e estabelecer a capacidade mínima eficiente dos cenários;

realizar uma análise de sensibilidade para os principais parâmetros do processo.

Capítulo II - Revisão bibliográfica

Para a realização desse trabalho foi desenvolvida uma revisão detalhada sobre a surfactina e seu processo de produção, bem como sobre simulação de processos e análise econômica.

A revisão do produto será importante para delimitar a aplicação mais provável para a surfactina, pureza requerida, e estipular a demanda do mercado e a capacidade da planta. A revisão sobre a produção visa o estudo dos processos produtivos, suas operações unitárias e a coleta de dados para a simulação do processo. O levantamento sobre simulações de processos tem o objetivo de identificar as metodologias, softwares usados e questões abordadas na literatura. O estudo da análise econômica tem como objetivo reunir as metodologias, hipóteses e equacionamentos necessários para execução do estudo de viabilidade técnico-econômica (EVTE)

2.1 Produto e aplicações

Arima; Kaninuma; Tamura, 1968 caracterizaram pela primeira vez a molécula de surfactina e suas propriedades antibióticas, antifúngicas e interfaciais foram posteriormente patenteadas (KEI; GAKUZO; ATSUSHI, 1972).

A surfactina possui excelente propriedade interfacial, sendo capaz de reduzir a tensão superficial da água para 29 mN/m a uma concentração de 20 μ M; sua concentração micelar crítica é em torno de 45 mg/L e é levemente menor que a dos ramnolipídios (cerca de 50 mg/L) (WHANG et al., 2008).

Além disso, pode apresentar características antimicrobianas, anti tumorais, inibidora da agregação de fibrina, com aplicabilidade em várias áreas industriais - alimentícia, biomédica, cosmética, farmacêutica e ambiental (CHEN; JUANG; WEI, 2015). Na área ambiental os lipopeptídeos podem ser usados tanto como biorremediadores, devido a suas propriedades interfaciais (LIU et al., 2015), quanto como biopesticidas em razão de suas três propriedades antibióticas principais : antimicrobianas, antifúngica e larvicida (SHERRY et al., 2002).

Uma breve revisão sobre as principais aplicações de surfactina: biopesticida, biorremediação, cosméticos, biomédica e farmacêutica será desenvolvida nesse trabalho para o direcionamento da área de aplicação mais provável para a produção e comercialização.

2.1.1 Biopesticidas

O uso de lipopeptídeos como biopesticida de forma viável demanda idealmente: formulação barata e adequada, mínimo de resistência dos alvos aos antibióticos, e mínimo efeito desses antibióticos na saúde humana (no caso de plantas comestíveis). As vantagens dos biopesticidas, frente aos pesticidas convencionais, é a de serem moléculas biodegradáveis, biologicamente mais eficientes, e mais seletivas para determinados organismos (SHERRY et al., 2002).

O microrganismo *Bacillus subtilis* já é um biopesticida conhecido, vendido inicialmente com o nome de Kodiak (EMMERT J.; HANDELSMAN, 1999). De fato, a aplicação em spray com adjuvantes do próprio bacilo como biopesticidas em várias plantas já foi detalhado (CEBALLOS ROJAS et al., 2014).

Seguiu-se na literatura o estudo da aplicação utilizando a surfactina e Sherry *et al.*, 2002 caracterizaram detalhadamente as propriedades inseticidas, antifúngicas e anti bactericidas provenientes do crescimento de uma cepa de *Bacillus subtilis*. Foram testadas as propriedades do meio de cultura após fermentação, apenas do sobrenadante (concentrado de células), e da surfactina purificada por extração com solvente. A molécula purificada foi protegida como principal responsável pelas propriedades antimicrobianas do meio cru. As propriedades específicas variaram em cada uma das três soluções testadas. O sobrenadante, por exemplo, teve atividade unicamente contra o pulgão do pessegueiro, enquanto que foi possível observar atividade para o meio livre de células, e para o extraído com solvente, principalmente contra a lagarta da raiz de milho.

Além disso, a surfactina é um potencial larvicida contra lagartas que danificam plantações de azeitona, e podem ser produzida através de fermentações utilizando fontes de carbono alternativas e de baixo custo (GHRIBI et al., 2011).

Aplicação de surfactina sódica comercial foi caracterizada contra a sarna de batata em formulações com base em zeólitas, ou resíduos da indústria alimentícia. Em composições de 1 a 10 mg/kg de surfactina, a formulação foi efetiva na forma de spray entre 0.01 e 5 mg/m² (TAKESHI SAEKI et al., 2009).

2.1.2 Biorremediação

A aplicação em biorremediação de solo contaminado com diesel também foi estudada. Foi observado um aumento da solubilidade do diesel através do uso de biossurfactantes de *Bacillus*, purificados apenas com precipitação ácida, após serem crescidos em meios fermentativos alternativos, oriundos de resíduo industrial e de baixo custo (MNIF; ELLOUZE-CHAABOUNI; GHRIBI, 2013).

Whang *et al.*, 2008 estudaram o uso de surfactina com 90% de pureza em sistemas para auxiliar na degradação de diesel em solos contaminados. O crescimento da biomassa foi estimulado e a degradação de diesel foi aumentada em 94% utilizando concentrações de surfactina de 40 mg/L. A concentração necessária foi da mesma ordem de grandeza da requerida para o mesmo tratamento usando ramnolipídios.

REIS *et al.*, 2019 estudaram a propriedade de biorremediação da surfactina produzida de *Bacillus velezensis*, e demonstraram sua potencial aplicação ao caracterizar a estabilidade do biossurfactante frente a diferentes condições de pH, temperatura e força iônica, e apresentando alta redução de tensão interfacial.

2.1.3 Cosméticos

Várias aplicabilidades na indústria de cosméticos foram reportadas para surfactinas ou lipopeptídeos, destacando-se: emulsificante, agente espumante; antirrugas; umectante; limpeza. Elas foram estudadas em formas de aplicações das mais diversas: gel; emulsão, espuma e loção (KANLAYAVATTANAKUL; LOURITH, 2010).

Utilizando surfactina comercial *Aminoefect*, com pureza de 98% numa composição de 0.8 a 3% em massa de surfactina, Tadashi; Naoko; Furuya, 2008 formularam um emulsificante aplicável em loções e cremes cosméticos com boa propriedade de toque e compatibilidade com a pele, ambientalmente amigável e não tóxico a organismos vivos.

As propriedades espumantes e de limpeza da pele humana também foram exploradas em produtos para aplicação em fabricação de shampoo ou gel de banho usando biossurfactante (incluindo surfactina) em colaboração com a empresa Henkel Ag Co (HEIKE; MARIA, 2015),.

2.1.4 Biomédica e farmacêutica

Nas aplicações biomédicas, as características anfífilas da surfactina lhe permitem a incorporação nas membranas fosfolipídicas e induzem permeabilização e perturbação em vários tipos celulares. As atividades mais estudadas são as antibactericida, antiviral, antitumoral, hemolítica e antitrombótica. Entretanto, ensaios em humanos e em microbiotas naturais são ainda fatores limitantes para a comercialização nessas áreas (SEYDLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008).

A atividade anti trombótica já foi caracterizada *in vivo* em ratos (KIKUCHI; HASUMI, 2002), enquanto que a atividade anti tumoral ainda está em estágio de pesquisas *in vitro* (LIU et al., 2010). Dessa forma, a aplicação na área ainda precisa de maturidade tecnológica, principalmente para atender as legislações vigentes.

Muito embora as propriedades antibióticas da surfactina sejam, na maior parte, inespecíficas, a descoberta de uma cepa com atividade contra bactérias redutoras de sulfato abriu novas possibilidades para aplicações específicas tanto em poços de petróleo quanto na área biomédica (KORENBLUM et al., 2012)

A aplicação conjunta de surfactina e iturina foi estudada no uso de lipossomos como vetor. Os biosurfactantes podem ser usados como antifungos e bactericidas, e não causam riscos ao homem e ao meio ambiente. Além disso, possuem um amplo espectro de microrganismos possíveis de serem esterilizados, e podem ser aplicáveis em patógenos que já apresentam resistência a outras moléculas (EIICHI et al., 2005).

A aplicação farmacêutica da surfactina também é frequentemente estudada. Seu uso como adjuvante na formulação de insulinas para o tratamento de diabetes, se mostrou eficiente para potencializar a penetração do fármaco através da inibição da atividade proteolítica sobre ela (ZHANG et al., 2016).

2.1.5 Panorama geral

Minf; Ghribi, 2015 fez uma revisão de patentes até o ano de 2014, sobre as aplicações de lipopeptídeos, e os casos em que o lipopeptídeo é a surfactina foram apresentados na Tabela 2.

Uma análise a partir das patentes dos anos de 2015 a 2017, realizada na base de dados do *Espacenet* em janeiro de 2018, buscando a palavra surfactina no título ou abstract, resultou em uma lista de produtos que continham surfactina como adjuvante ou componente principal de sua formulação, que está apresentada na Tabela 3. Os dados mostram um número considerável de empresas cosméticas interessadas em patentear produtos com surfactina em sua composição.

A preferência pela aplicação cosmética, não é tão surpreendente, haja visto as complicações para aplicações nas outras indústrias. Os produtos farmacêuticos exigem um árduo trabalho de caracterização *in vivo* e *in vitro* para sua implementação, e o uso de surfactinas ainda precisa ser melhor estabelecido (SEYDLOVÁ; SVOBODOVÁ, 2008). O uso como biopesticida pode ter uma complicação, devido ao fato de a atividade antimicrobiana variar muito conforme a cepa utilizada e até mesmo com a presença de outros lipopeptídeos, sendo difícil prever aplicações genéricas para o produto (EIICHI et al., 2005) (SHERRY et al., 2002) (TAKESHI SAEKI et al., 2009).

Além disso, Chong; Li, *et al.*, 2017 defendem que o alto custo de produção de ramnolipídios só é aceitável economicamente caso o produto seja direcionado para um mercado de maior valor agregado como o cosmético ou médico, o que se torna mais relevante sabendo que surfactinas tem melhores atividades antimicrobianas que ramnolipídios (mesma potência estando 4 x diluído)

2.1 Processo

O primeiro processo de produção de surfactina protegido pela indústria química foi da empresa japonesa Takeda (KEI; GAKUZO; ATSUSHI, 1972) e baseado no trabalho inicial de descoberta da molécula (ARIMA; KAKINUMA; TAMURA, 1968). A surfactina foi obtida do meio de crescimento de *B. subtilis* IAM 123 após a remoção das células e cristalização feita por precipitação ácida, dissolvida em solução alcalina e extraída em éter. O composto ainda foi purificado em uma coluna de carvão ativo para remoção de odores e os ensaios de propriedades foram realizados após purificação por cromatografia líquida de fase reversa.

Embora Kei; Gakuzo; Atsushi, 1972 tenham utilizado anti espumante na etapa reacional, raros são os autores que ainda mantiveram o uso em seu estudo.

Tabela 2: Patentes para o uso de surfactina até 2014 (GHRIBI *et al* 2015)

Microrganismo	Aplicação/Atividades	Título da Patente	Número	Ano
<i>B. subtilis</i> 21332	Anti coagulante	<i>Surfactin</i>	US3687926	1972
<i>B. subtilis</i>	Tensoativo	<i>A mutant of Bacillus Subtilis and a method of producing surfactin with the use of the mutant</i>	US4522261	1992
<i>B. subtilis</i> 53813	Tensoativo	<i>Enhanced production of Biosurfactant through the use of a mutated B. subtilis</i>	CA2025812	1992
<i>B. subtilis</i> 55033	Hemolítica	<i>Method of producing surfactin with the use of mutant B. subtilis</i>	US5227294	1993
<i>B. subtilis</i> AQ713	Inseticida e antimicrobiano	<i>Strain of Bacillus for controlling plant Diseases and corn rootworm</i>	US62911426	2001
<i>Bacillus</i> 60A	Inibidores de quinases	<i>Method for inhibiting eukaryotics protein kinases</i>	US6319898	2001
<i>Bacillus spp</i>	Tensoativo	<i>Production process of surfactin</i>	WO0226961	2002
<i>B. subtilis</i>	Inseticida e antimicrobiano	<i>Compositions and methods for controlling plant pests</i>	US6417163B1	2002
<i>B. subtilis</i>	Emulsificante	<i>Water thin emulsions with low emulsifier levels</i>	CA2375885	2001
<i>B. subtilis</i>	Estabilização de membranas biológicas	<i>Novel use of lipopeptide preparations</i>	WO2004002510	2004
<i>B. subtilis</i>	Antimicrobiana	<i>Surfactin Containing Compositions for controlling scab disease in agriculture products</i>	US20090123445A1	2009
<i>Bacillus Licheniformis</i> V9T14	Inibição da formação de biofilme	<i>Biosurfactant composition produced by a new Bacillus lichenformis strains, uses and products thereof</i>	WO2010062745A1	2010
<i>B. subtilis</i>	Inseticida e antimicrobiano	<i>Lipopeptides and Lipopeptide syntethases</i>	US20110030103A1	2011

Tabela 3: Patentes recentes (2015 a 2017) utilizando surfactina

Aplicação/Atividades	Título da Patente	Número	Ano	Empresa
Produto para a pele / cosmético	<i>Applications of surfactin in cosmetic products and thereof</i>	US2016/0030322	2014	<i>Saft Biotechnology</i>
Agente de limpeza e emulsificante cosmético	<i>Sulfate-free cosmetic cleansing agents comprising biosurfactants</i>	GB2547064	2015	<i>Henkel Ag & Co</i>
Dispersante de delineador/ Cosmético	<i>Liquid cosmetic composition</i>	JP2017078041	2015	<i>KEMIKOSU CREATIONS KK</i>
Produto capilar / Cosmético	<i>Hair treatment composition</i>	JP2017128526	2016	<i>KEMIKOSU CREATIONS KK</i>
Biopesticida	<i>Seaweed polysaccharide anti-transpiration paste leaf fertilizer additive specially used for pear tree</i>	CN106631536	2016	NI
Antiviral de HIV	<i>Streptomyces producing anti-HIV active substance, and applications thereof</i>	CN106190882A	2016	NI
Biorremediação de solo	<i>Bacillus amyloliquefaciens for producing surfactin, and application thereof</i>	CN106011035	2016	<i>NANJING SHAFEITE BIOLOGICAL TECH</i>
Produto para a pele / cosmético	<i>Skin repairing liquid containing human stem cell factor and preparation method thereof</i>	CN106924719	2017	<i>China - Pharm & TECH CO LTD</i>
Produto capilar / Cosmético	<i>Soluble cleansing paper capable of moistening and moisturizing and preparation method thereof</i>	CN106726637	2017	NI
Aditivo para ração de peixe	<i>Method for preparing feed additive containing surfactin</i>	CN106260502	2017	<i>NANJING SHAFEITE BIOLOGICAL TECH</i>

NI= não informado

As complicações para o uso de antiespumante são amplamente conhecidas na literatura, principalmente a diminuição drástica na taxa de transferência de oxigênio (STANBURY; WHITAKER; HALL, 1995). De fato, Ceballos Rojas *et al.*, 2014 foi um dos raros grupos que optaram pelo uso de antiespumantes.

Cooper *et al.*, 1981 foram os pioneiros a realizar a produção de surfactina sem o uso de antiespumante, posteriormente sendo consolidado como processo clássico (haja visto o número alto de citações a este trabalho – mais que 280 - só na base Elsevier, busca realizada em 16/1/2019). O Desenvolvimento da espuma durante a reação era controlado com aeração, e a coleta contínua, ou fracionamento por espuma, permitiu a produção e concentração do produto. Outra contribuição notória dos autores foi a de avaliar o efeito da concentração de metais para otimizar o rendimento da fermentação.

Carrera; Cosmina; Guido, 1993 propuseram soluções para os inconvenientes decorrentes da fermentação com fracionamento de espuma, principalmente a dificuldade em manter a altura da coluna de espuma controlada, e evitar a redução de volume de meio no biorreator. Dessa forma, a patente cria duas soluções: a adição contínua de meio ou o reciclo de microrganismos após microfiltração.

Deleu *et al.*, 2004 propuseram uma alternativa que incluía ao processo clássico de coleta de espuma e extração com solvente duas etapas posteriores de ultrafiltração e diafiltração, ao mesmo tempo em que não era feito a precipitação ácida após a clarificação. Os autores são um dos primeiros a utilizarem a ultrafiltração para atingir maiores purezas de surfactina, e recomendaram etapas de lavagem e diafiltração para evitar incrustação das membranas.

O processo de extração com solvente, continua sendo bastante estudado (DLAMINI, 2017) (IZUMIDA; KAWASAKI; MOROSHIMA, 2013)(YEH; WEI; CHANG, 2005). Entretanto, várias são as complicações envolvidas no uso de solventes orgânicos para purificação, principalmente relacionadas às questões ambientais, econômicas e a de possível perda de propriedades da surfactina, pois o uso de solventes orgânicos tóxicos poderiam prejudicar a atividade biosurfactante dos lipopeptídeos (ISA *et al.*, 2007).

Sen; Swaminathan, 2005 avaliaram a substituição das etapas de precipitação ácida e extração com solvente por uma ultrafiltração. A purificação por ultrafiltração se mostrou mais eficiente que a extração típica com solvente, mas para processos em larga escala, o autor sugere

que no *scale up* a ultrafiltração seja realizada com fluxo tangencial para minimizar a formação de gel na membrana.

A fim de aumentar a pureza de surfactina, o uso de duas ultrafiltrações em série, diretamente após a clarificação, foi proposta por Isa *et al.*, 2007 e Chen; Chen; Juang, 2007 investigaram a purificação de surfactina utilizando a clarificação, precipitação ácida, solubilização alcalina e então a ultrafiltração “*dead-end*” em dois estágios.

A compreensão do fracionamento de espuma também parece ser um ponto chave no processo Willenbacher *et al.*, 2014 estudaram diferentes cepas de *Bacillus subtilis* e sua influência nos parâmetros de produtividade do processo com evolução de espuma. Além disso, Alonso; Martin, 2016 observaram que a recirculação de células coletadas na espuma tem um o metabolismo acelerado, resultando em maior produtividade volumétrica de surfactina.

A despeito de a coleta de espuma ser o mecanismo mais estudado para produção de surfactina, as dificuldades em estabelecer essa operação são marcantes. A dificuldade em modelar e dimensionar o fracionamento por espuma, a imprevisibilidade do processo recaindo sobre os complexos mecanismos moleculares por trás do fenômeno, e a presença em poucos processos industriais são três que se destacam (BURGHOFF, 2012). Dessa forma, várias são as abordagens na literatura para produção sem formação de espuma, cujas vantagens e desvantagens são apresentadas na Tabela 4 (COUTTE *et al.*, 2017)

Willenbacher *et al.*, 2015 obtiveram baixas produtividades em uma fermentação anaeróbia, e Chtioui reportaram razoáveis concentrações de lipopeptídeos com distinta seletividade para a secreção de fengicina frente as surfactinas, imobilizando as células em discos rotativos.

Y. Tadashi, Y. KanagaWa, F. Kazo, 2006 desenvolveram um processo de alto rendimento usando como fonte de nitrogênio a farinha de soja. Os autores descobriram que a espuma não precisa ser removida pois a farinha diminui a presença de espuma, a qual fica adsorvida no próprio grão. Após purificação por precipitação ácida seguida de ultrafiltração ou extração com solvente, a concentração de surfactina é de 6-40 g/L. Essa foi a patente chinesa inicialmente depositada sob o número de CN1466626 (TIANZHENG; XIZHAO; DAITIAN, 2000) para o primeiro processo de produção industrial pela empresa Showa Denkko KK de surfactina sódica (Aminofect ®).

Tabela 4 : Processos de produção de surfactina (COUTTE et al., 2017)

Bioprocesso	Vantagens	Desvantagens
Coleta de Espuma	-Alta recuperação -facilmente acoplado em CSTR	-Dificuldade em controlar volume de espuma -Processo limitado pela cinética de formação de espuma -Perda de células e meio de cultura
Reator trifásico de leito fluidizado	-Alta taxa de transferência de oxigênio	-Dificuldade em controlar desenvolvimento de espuma
Discos rotativos	-Processo simples	-Baixa taxa de transferência de oxigênio
Reatores de Biofilme	-Produção e purificação contínuas -Pequena perda de biomassa	Dificuldade em controlar biofilme
Membranas contactoras	-Produção e purificação contínuas	-Incrustação da membrana -Tamanho e custo dos módulos
Fermentação em estado sólido	-Processo simples	-Limitações no controle do processo

Também usando farinha de soja, a empresa Kaneka patenteou seu processo de produção para a comercialização de surfactina (IZUMIDA; KAWASAKI; MOROSHIMA, 2013), assim como a AgraQuest Inc (SHERRY et al., 2002) também patenteou um processo com a mesma fonte de nitrogênio.

Um dos processos mais citados (mais de 45 citações em artigos e 4 em patentes), sem o desenvolvimento de espuma foi estabelecido por Coutte *et al.*, 2010. O autor obteve produtividades semelhantes a do processo convencional realizando a aeração do biorreator através de membranas contactoras, mas reporta o transtorno decorrente da adsorção de

surfactina nas membranas, que pode minimizar o coeficiente de transferência volumétrico de oxigênio. O grupo ainda conseguiu posteriormente propor um processo contínuo de produção com membrana de ultrafiltração para purificação após produção (COUTTE et al., 2013). O processo contínuo foi ainda patenteado em conjunto com uma cepa mutante (COUTTE et al., 2015) e é provavelmente o modelo de produção utilizado na empresa Lipofabrik ©.

Um resumo do histórico de alguns dos principais processos de produção foi organizado na Tabela 5. Os processos de produção de surfactina apresentam possibilidades e questões semelhantes a envolvendo a fabricação de ramnolipídios. Chong; Li, *et al.*, 2017 mencionaram as seguintes operações para a purificação de ramnolipídios: precipitação ácida, extração com solvente, cromatografia, adsorção, ultrafiltração, coleta de espuma.

É notável da Tabela 5 que dois dos processos reacionais de maior destaque são os de fermentação com borbulhamento e coleta contínua de espuma, ou o de aeração com membranas contactoras. Para os processos de purificação dois dos maiores destaques são a extração com solvente ou a ultrafiltração. Além disso, o isolamento por precipitação ácida e a clarificação, ou por microfiltração ou por centrifugação, são operações de recorrente emprego nos trabalhos com surfactina.

A maturidade tecnológica é uma questão ainda a ser mensurada e desenvolvida. Dos dados da Tabela 5, sete das dezenove referências são patentes e apenas Kei; Gakuzo; Atsushi, 1972 reportaram uma escala de produção de 500 L. De fato, o resumo apresentado, seja em artigos ou patentes, adotam produção em frasco ou até em escala de biorreatores, de no máximo 20 L (EIICHI et al., 2005). Fica evidente sobre os processos na literatura o fato de que o *scale-up* é muito pouco estudado, e que os dados foram muito mais caracterizados a nível de bancada e pequenos biorreatores; apenas foram encontrados dois trabalhos citando uma produção em escala piloto (DELEU et al., 2004)(BARROS; PONEZI; PASTORE, 2008).

2.1.1 Meio de cultura

Os Meios tipicamente usados são MSM (*Mineral salt medium*), ou derivados (CHEN; JUANG; WEI, 2015), mas alguns poucos autores usam meio LB (Luria-Bertani) (GHRIBI et al., 2011)(LIU et al., 2012), ou meio Landy (COUTTE et al., 2010).

Tabela 5 : Principais processos de produção de surfactina

Processos de <i>Downstream</i>	Processo de Purificação Principal	Processo de Produção Principal	Pureza Final (%)	Recuperação (%)	Observação	Referência
Centrifugação Precipitação ácida Extração com solvente Adsorção (Carvão) Extração aquosa Precipitação ácida	Extração	Anti espumante	NI	NI	Primeira patente sobre produção de surfactinas Uso de antiespumante	Atsushi <i>et al</i> 1972
Coleta de Espuma Centrifugação Precipitação ácida Extração com solvente Extração aquosa Precipitação ácida	Extração	Espuma	NI	NI	Primeiro Processo com coleta com espuma. Análise influência de metais e hidrocarbonetos	Cooper <i>et al</i> 1981
Coleta de Espuma Precipitação ácida Ultrafiltração e reciclo	UF	Espuma	85-90	Espuma 90-99 UF 95	Processo com coleta de espuma e ultrafiltração Uso de cepa mutante e reciclo celular	Cosmina <i>et al</i> 1993
Coleta de espuma Centrifugação Extração com solvente Ultrafiltração	Extração UF	Espuma	85	80-85	Patente sobre produção e aplicação inibindo incrustação de peptídeos em membranas	Deleu <i>et al</i> 2004
Coleta de espuma Centrifugação Ultrafiltração	UF	Espuma	70	98	Alimentação em batelada de FeII e MnII	Swaminathan <i>et al</i> 2005
Centrifugação Precipitação ácida Extração com solvente	Extração	Sem Espuma (Frasco)	PA 55 Extração 90	Global 72	Utilização de Carvão ativo como carreador	Chang <i>et al</i> 2005
Centrifugação Precipitação ácida Extração com solvente Cromatografia	Cromatografia	Sem Espuma	NI	NI	Patente para aplicação de surfactina purificada com propriedades antimicrobianas via vesículas lipossômicas. Uso de Farinha de Soja	Eiichi <i>et al</i> 2005
Precipitação ácida extração com solvente ultrafiltração cristalização adsorção com carvão	NI	Inibição de Espuma	NI	NI	Patente para a produção de surfactina (Aminofect ®) da empresa Showa Denkko. Uso de farinha de soja	Tadashi <i>et al</i> 2006
Centrifugação Precipitação ácida Ultrafiltração Ultrafiltração	UF	Sem Espuma (Frasco)	PA 55 UF UF 85	PA 97 Global 87	Purificação utilizando duas ultrafiltrações em série. É possível obter surfactina neutra ou a sódica, de acordo com o processo	Juang <i>et al</i> 2007
Centrifugação Ultrafiltração Ultrafiltração	UF	Sem Espuma (Frasco)	94	95 p/etapa	Purificação com duas ultrafiltrações em série	Isa <i>et al</i> 2007

Processos de <i>Downstream</i>	Processos de Purificação Principal	Processo de Produção Principal	Pureza Final (%)	Recuperação (%)	Observação	Referência
Microfiltração Precipitação ácida Extração com solvente	Extração	Sem Espuma (Frasco)	90	72	Surfactina na concentração de 40 mg/L aumentou a biodegradação de Diesel em 94%	Whang <i>et al</i> 2008
Centrifugação Ultrafiltração	UF	Contactoras	NI	NI	Pioneiro com aeração por membranas contactoras	Coutte <i>et al</i> 2010
Microfiltração Ultrafiltração	UF	Contactoras	95	NI	Artigo Referência para processo Contínuo. Estudo de reciclo celular. Aeração por membrana contactora	Coutte <i>et al</i> 2013
Extração com solvente Decantação Precipitação ácida Adsorção	Extração	Inibição de Espuma	96	91 extração	Patente sobre processo de produção de surfactina da empresa Kaneka. Utilização de 1 ou 2 solventes na extração. Uso de Farinha de soja	Moroshima <i>et al</i> 2013
Centrifugação Microfiltração Ultrafiltração	UF	Sem Espuma (Frasco)	88	96	Purificação por ultrafiltração. Uso de microfiltração para proteção da membrana de ultrafiltração	Hassan <i>et al</i> 2014
Coleta de Espuma	NE	Espuma	NI	98	Influência da coleta de espuma em diferentes cepas produtoras de surfactina	Willenbacher <i>et al</i> 2014
Microfiltração Ultrafiltração Ultrafiltração	UF	Contactoras	90	70 cada etapa	Patente para produção em processo contínuo com microfiltração e 2 ultrafiltrações em série	Coutte <i>et al</i> 2015
Coleta de espuma Centrifugação Precipitação ácida	PA	Espuma	NI	NI	Influência da coleta de espuma no metabolismo e produtividade celular	Alonso <i>et al</i> 2016
NI	NI	Contactoras	NI	NI	Planejamento experimental para aumentar a produção de surfactina em processo aerado com membranas contactoras	Motta <i>et al</i> 2016

Resumo cronológico dos processos e operações unitárias estudados para produção de surfactinas. UF = Ultrafiltração, PA= Precipitação ácida, NI=Não informado

O meio MSM usado por Cooper *et al.*, 1981 foi posteriormente referenciado por outros autores (CARRERA; COSMINA; GUIDO, 1993)(WILLENBACHER *et al.*, 2014), e exemplo de composições típicas baseadas no meio MSM foram detalhados em vários trabalhos (SEN; SWAMINATHAN, 1997)(Y. TADASHI, Y. KANAGAWA, F. KAZUO, 2006). Os elementos traços mais importantes, e frequentemente utilizados, são o Fe II e Mn II (COOPER *et al.*, 1981) (CHEN; JUANG; WEI, 2015).

A fonte de carbono ideal é a glicose (MUKHERJEE; DAS, 2005). Alonso; Martin, 2016 demonstraram que em condições limitantes de glicose (< 10 g/L) os rendimentos de conversão de glicose em biomassa (Y x/s) e surfactina (Y p/s) são maiores nessas concentrações baixas. Mukherjee; Das, 2005 demonstrou que uma concentração inicial de glicose de 20 g/L resulta em excelentes concentrações finais de surfactina (maior que 1 g/L). Entretanto, a concentração inicial de glicose de 40 g/L adotada por Cooper *et al.*, 1981 parece ser uma das mais utilizadas (CARRERA; COSMINA; GUIDO, 1993)(ISA *et al.*, 2007).

O uso combinado de fontes de nitrogênio orgânico e inorgânico para a ativação do metabolismo e aumento da secreção de surfactinas foi descrito por Davis; Lynch; Varley, 1999. O grupo sustenta que é necessário uma fonte orgânica de nitrogênio para o crescimento e o nitrato é importante para ativar o metabolismo secundário, responsável pela produção de surfactina.

De fato, vários são os meios que usam ambas as fontes de nitrogênio, sendo o extrato de levedura como fonte de nitrogênio orgânica o mais comum (COOPER *et al.*, 1981) . Das fontes de nitrogênio inorgânica as mais comuns são o nitrato de sódio (ABDEL-MAWGOUD; ABOULWAFI; HASSOUNA, 2008) ou o nitrato de amônio (COOPER *et al.*, 1981) (DAVIS; LYNCH; VARLEY, 1999). A relação mássica C/N é tipicamente utilizada na faixa de 7 (GHRIBI; ELLOUZE-CHAABOUNI, 2011) a 9 (FONSECA *et al.*, 2007).

2.1.2 Condições de cultivo

Sen; Swaminathan, 1997 obtiveram como condições otimizadas por planejamento experimental e metodologia de superfície de resposta, obtida em fermentadores de 2 L com coleta de espuma, as seguintes condições: pH 6,7; Temperatura 37,4 °C; agitação 140 rpm; aeração 0,75 vvm. ABDEL-MAWGOUD; ABOULWAFI; HASSOUNA, 2008 obtiveram, em frasco, as seguintes condições ótimas para 72 horas de incubação: pH 6,8; Temperatura 30 °C; porcentagem volumétrica de oxigênio 90%.

Ghribi; Ellouze-Chaabouni, 2011 obtiveram um máximo de concentração de surfactina após 24 h de fermentação ao garantir a porcentagem de saturação de oxigênio no meio em 30%. Barros; Ponezi; Pastore, 2008 realizaram a produção de surfactina em planta piloto de 40 L, aerando a 0,38 vvm nas primeiras 12 h e 0,63 vvm por mais 24 h. (COUTTE et al., 2015) esterilizam o ar em filtro de 0,2 μm e aeram a 1 vvm com ar, e a fermentação ocorre em pH 7,0 a 22 °C por 72 h (COUTTE et al., 2010).

2.1.3 Propagação do inóculo

Carrera; Cosmina; Guido, 1993 propuseram um inóculo de 5 a 10% v/v, após crescimento por 6-10 h (tempo em que surfactina não é produzida e espuma não é formada). A concentração celular antes de cada etapa é de 0,15 g/L, a curva de crescimento parece ter em torno de 2 h de fase lag, e a taxa de crescimento de 0,5 h^{-1} é a máxima para o microrganismo.

Alonso; Martin, 2016 observou uma fase lag de 4 h e taxas específicas de crescimento de 0,35 h^{-1} para células não recicladas, e 0,5 h^{-1} para células que haviam sido recicladas no meio; também obteve rendimento de biomassa em glicose em torno de 0,3 g/g para inóculos após 12 h, adotando uma concentração de biomassa inicial de 0,038 g/L para processos sem a formação de espuma e usando o inóculo em uma concentração de 10% v/v.

Willenbacher *et al.*, 2014 também obtiveram taxas de crescimento específicos em torno de 0,4 h^{-1} na fase log, utilizando uma concentração de inóculo de 6,7% v/v

2.1.4 Fermentação com borbulhamento

Cooper *et al.*, 1981 usaram um volume útil de meio em relação ao total de 20 L /28 L (71%), atingindo concentrações de biomassa de 4 g/L após 80 horas. Carrera; Cosmina; Guido, 1993 usaram um volume útil de meio de 1,1 L / 2,0 L (55%), sendo reportado nesse caso um volume aparente com espuma de cerca de 1,6 L (80%) obtendo concentração de biomassa após a fermentação em torno de 6 g/L por período entre 20-90 horas (fase estacionária é atingida em 30 h).

Deleu *et al.*, 2001 realizaram a fermentação com coleta de espuma após 7 h, através da linha de exaustão de ar. A batelada foi realizada por 72 horas, e o biorreator foi esterilizado *in situ* por 30 min a 121 °C. Noah; Bruhn; Bala, 2005 utilizou um impelidor *rushton* para colapso das bolhas.

Mukherjee; Das, 2005 defende que o tempo de reação costuma durar até um pouco depois do fim da fase log, como 48 horas. A concentração de surfactina obtida ao final da batelada pode oscilar de 0,5 a 4 g/L, mas valores típicos ficam em torno de 1 g/L (COOPER et al., 1981)(SEN; SWAMINATHAN, 1997), e 2 g/L em cepas modificadas geneticamente (CARRERA; COSMINA; GUIDO, 1993).

Alonso; Martin, 2016 fizeram a caracterização da produção. O fator de rendimento para formação de biomassa em relação ao consumo de glicose é em torno de 0,3 g/g enquanto que o fator de rendimento para formação de surfactina em relação ao consumo de glicose é em torno de 0,07 g/g. A produtividade volumétrica foi de 26 mgL⁻¹h⁻¹, e o tempo ótimo de fermentação foi de 24 horas utilizando glicose a 10,5 g/L.

Willenbacher *et al.*, 2014 caracterizaram o processo de produção, detalhando o fracionamento por coleta de espuma em bateladas de 30 h. A maior produtividade específica da produção de surfactina ocorre no meio da fase exponencial de crescimento, em 0,039 g.gDW⁻¹h⁻¹.

Barros; Ponezi; Pastore 2008 realizaram a produção por borbulhamento em escala piloto e obteve concentrações finais de 0,6 g/L ao final de uma fermentação de 36 h. Um biorreator de 40 L com tubo de silicone para coleta da espuma foi utilizado - Pilot New Brunswick 8000 MP 80 (New Brunswick Scien- tiWc, Edison, NJ, USA). Entretanto, o rendimento de substrato em produto foi baixo, de aproximadamente 0,02 g/g.

2.1.5 Fermentação com membranas contactoras

O uso de membranas contactoras é uma alternativa para os processos de aeração em que o borbulhamento resulta em inconvenientes operacionais, como no caso dos biossurfactantes em que as bolhas resultam em desenvolvimento de espuma, cuja coleta e gastos com resfriamento são particularmente complicados no *scale-up* (COUTTE et al., 2010). Na aeração por contactores, uma membrana, permite o contacto, mas não a dispersão, entre a fase gasosa e líquida. A transferência de massa de oxigênio ocorre através da difusão do gás nos poros até a adsorção na membrana densa, normalmente hidrofóbica, até que é absorvido pela fase líquida do outro lado da membrana (KOVVALI; SIRKAR, 2003)

Biorreatores com aeração, mas sem formação de espuma foram reportados com diferentes razões de volume de meio por volume total: 3 L / 5 L (60%) (MUKHERJEE; DAS,

2005), 12 L / 20 L (60%) (DELEU et al., 2004), ou 4 L / 5 L (80%) (CHEN; CHEN; JUANG, 2007).

Coutte *et al.*, 2010 desenvolveram um processo para aeração do sistema com máxima produção de surfactina, usando uma membrana de poli(éster sulfona) de 2.5 m² para aeração de 3 L de meio, o diâmetro do poro foi de 0,65 µm, e a aeração com o ar passando no lúmen da membrana de fibra oca apresentou os melhores resultados. A concentração de biomassa após a fermentação com membranas foi de 3,1 g/L e o tempo de reação de 72 horas. A esterilização das conexões foi feita a 121 °C por 20 minutos. O meio circula a 0,021 m/s, com 18% de retenção de biomassa nas contactoras, e 83% de surfactina. Os coeficientes de transferência volumétrica da membrana foram de aproximadamente 40 h⁻¹ no início e 4 h⁻¹ no final (após lavagem o valor retornou para 40 h⁻¹). Foram realizadas lavagens da membrana com 3 L de água a 30 °C e 2 x 3L de NaOH 0,1 M a 50 °C, por 1 hora; a membrana era regenerada com NaOH 0,5 M, NaOCl 1,3 mM e então água destilada. A taxa de consumo específico de oxigênio foi medida em 12 mmol.g⁻¹h⁻¹ fase log (12 a 36 h e no início do crescimento 2 mmol/g/h (0 a 12 h). Fator de rendimento de surfactina em relação ao consumo de glicose foi de 0,013 g/g. A perda de carga no casco por onde passa o ar é de menos de 0,1 barg e a pressão do ar é de 0,5 barg. A aeração foi feita a 1 vvm.

Coutte *et al.*, 2013 reportaram que 20 g/L de glicose foram consumidas em 24 horas, o crescimento específico nas primeiras 9 horas foi de 0.2 h⁻¹, e a biomassa atingiu um máximo de 1,5 g/L em 26 horas. A formação de metabólitos primários é associada ao crescimento e atingem um máximo de 8 g/L, 3 g/L e 2 g/L para acetoína, lactato e acetato respectivamente. Após 24 horas sem glicose essas moléculas são reaproveitadas caindo a concentrações de 4 g/L, 0 g/L, 2 g/L. Aderência de biomassa na membrana contactora é de 0,6 g/m². 425 mg/L de surfactina foram produzidas no meio e após a dessorção de surfactina das membranas contactoras a concentração subiu para 628 mg/L. As taxas específicas de consumo de oxigênio e formação de dióxido de carbono são de 6,18 mmol/g/h e 6,67mmol/g/h, durante a fase de crescimento (14 horas iniciais). Mesmo na fase estacionária ambas as taxas seguem aumentando como se o número de células estivesse aumentando. Provavelmente o aumento da morte celular cause um aumento nessas taxas específicas. A Produtividade volumétrica foi de 17,4 mg.L⁻¹.h⁻¹ com 36 h para processo batelada e o fator de rendimento de glicose em surfactina foi de 0,0635 g/g.

Coutte *et al.*, 2015 esterilizaram o ar em filtro de 0,2 µm e aeraram a 1 vvm com ar para maximizar produção de surfactina, circulando o meio a uma vazão de 60 L/h na membrana com

área de 2,5 m² para um tanque de 4 L de volume útil. A produtividade obtida foi de 0,05 mg/L/h de iturina e 1,5 mg/L/h de surfactina, com bateladas de 72 horas e pureza de 90%. Além disso, 5% dos biossurfactantes ficaram retidos na membrana contactora, mas foram eliminados por lavagem. Taxa de transferência de oxigênio foi constante em 40 h⁻¹, e a pressão de operação dos compressores foi de 0,4 bar.

Motta dos Santos *et al.*, 2016 utilizaram design de experimentos para otimizar a composição do meio de fermentação utilizando um processo contínuo por aeração com membranas contactoras para maximizar a produção de surfactina, alcançando titulações de 2385 mg/L

2.1.6 Fracionamento por coleta de espuma

A coleta de espuma é apenas uma pré purificação que pode facilitar o *downstream*, porque não gera surfactinas em purezas maiores que 60%(CHEN; CHEN; JUANG, 2007), porém é bastante usada devido às baixas perdas (90-99% de recuperação) (CARRERA; COSMINA; GUIDO, 1993)

Cooper *et al.*, 1981 em trabalho pioneiro com coleta de espuma obtiveram 0,8 g/L de concentração de surfactina na espuma. Deleu *et al.*, 2004 coletaram 1,5 L de espuma a partir de 12 litros de meio, atingindo concentrações de 2,5-5,4 g/L de lipopeptídeos, obtendo uma concentração na espuma de 2,42 g/L de surfactina em fermentação de 36 h. O volume de espuma coletado foi e cerca de 26% o volume inicial, realizado em escala piloto de 40 L.

Willenbacher *et al.*, 2014 caracterizaram o processo de coleta de espuma analisando as partições de biomassa e surfactina na coleta de espuma. O autor acompanhou durante 30 horas a recuperação e o enriquecimento de surfactina e biomassa na espuma. A máxima recuperação de surfactina foi de 92%, e o enriquecimento de surfactina é cerca de 80, enquanto que a de biomassa é 0,6.

Takesono *et al.*, 2001 equacionaram detalhadamente a agitação e frequência de agitação no coletor de espuma. O consumo energético da agitação do tipo lâminas foi equacionado para uma taxa de aeração de 1 a 2 vvm, resultando em demandas de 0,07 – 0,7 kW/(m³/h) em relação a vazão de líquido. A *Infors* HT sugerem um sistema com impelidores com lâminas para quebra da espuma e um vaso para coleta conectado à exaustão (INFORS, 2016).

2.1.7 Microfiltração

Coutte *et al.*, 2013 mantiveram uma microfiltração para remoção contínua de biomassa e após três dias, a permeabilidade na membrana estava 91% abaixo da inicial $42,3 - 482,3 \text{ Lhm}^{-2}\text{bar}^{-1}$, e cerca de 5% da biomassa total ficou adsorvida na membrana sob um fluxo médio de $73,2 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$. A retenção de surfactina foi cerca de 2% da total e a pressão durante microfiltração de *Bacillus subtilis* (KREUTER, 1996) varia entre 1,4 – 3,4 bar.

Coutte *et al.*, 2010 realizaram microfiltração com membranas e foram lavadas com o mesmo volume do biorreator, 2 vezes com água destilada a um fluxo de $7,3 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, e com NaOH 0,1 M $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Membranas são então regeneradas com 2 lavagens de NaOH 0,5 M e 2 vezes com hipoclorito de sódio 1,3 mM pelos mesmos tempos e fluxos (*ie* um fluxo de 144 L/m^2 por 18 h).

Maroulis; Saravacos, 2003 recomendaram filtração *dead-end* e fluxo perpendicular para soluções diluídas, pois módulos tubulares geram menos problemas de incrustação. As condições de operação devem variar em 1-5 bar e $50-90 \text{ }^\circ\text{C}$, e é mais fácil fazer o *scale up* de microfiltração, pois basta adicionar mais módulos. Além disso, na microfiltração de *E. coli*, FERREIRA; AZZONI; FREITAS, 2018 não observaram diferenças significativas nos custos referentes ao investimento e operação entre microfiltração e centrifugação. FASAEI *et al.*, 2018 adotaram um custo do sistema para microfiltração de alga de 300 €/m^2 , com custo da membrana de 100 €/m^2 e um tempo de troca previsto de 3 anos.

2.1.8 Precipitação ácida

Ghribi *et al.*, 2011 e Minf; Ellouze-Chaabouni; Ghribi 2013 afirmam que a adição de ácido provoca uma precipitação seletiva de lipopeptídeos e lipoproteínas. Yeh; Wei; Chang, 2005 reportaram que a pureza obtida após precipitação ácida é de cerca de 55% após adição de HCl até pH 2 e o sólido pode ser recuperado após filtração com membrana de nitrocelulose $2,5 \text{ }\mu\text{m}$.

Chen; Chen; Juang, 2007 reportaram uma pureza obtida após precipitação ácida de 55% com recuperação de mais de 97%. Inicialmente, o pH é levado a 4 e depois levado com base até pH 11 para ressolubilização da surfactina - Izumida; Kawasaki; Moroshima, 2013 recomendam um excesso estequiométrico de base de 100% para tal. Dlamini, 2017 remove o precipitado ácido por centrifugação a 2.900 g por 10 min e em suas revisões na literatura ele

observa valores próximos a 55% para pureza do sólido após a precipitação ácida, resultante de uma recuperação de 97%.

2.1.9 Extração com solvente

Após precipitação ácida e extração com solvente Yeh; Wei; Chang, 2005 obtiveram uma pureza final de cerca de 90% e o rendimento foi de 72%. Foram feitas três extrações com mesmo volume (em relação ao volume de água para remoção da surfactina do filtro após precipitação ácida) de diclorometano. O trabalho sugere a aplicação da surfactina 55% crua em aplicações ambientais na área de biorremediação, e aplicação da surfactina 90% para fins cosméticos ou médicos. e Cooper *et al.*, 1981 também utilizaram diclorometano para extração.

A extração ocorre a temperatura ambiente, a recuperação da extração é 60% em mol, ou 90% em mol se usado um solvente auxiliar. Uma solução de 4,5% m/m de surfactina foi purificada pela adição de 77% de massa do meio de solução extratora (55% m/m isopropanol, 45% m/m acetato de etila). O rendimento da extração foi de 91%, atingindo pureza de cerca de 96% após recristalização e etapa de adsorção com carvão ativado (IZUMIDA; KAWASAKI; MOROSHIMA, 2013). Após a extração é dito que a recristalização em água usando pH básico e depois ácido aumenta a pureza da surfactina (AL-AJLANI *et al.*, 2007).

Por outro lado, Sherry *et al.*, 2002 utilizaram acetato de etila (mesmo volume de meio) para extração, e Eiichi *et al.*, 2005 fizeram uma extração com metanol (10% do volume do biorreator) para então purificar por cromatografia em fase reversa, lavando com 25% do volume do biorreator.

Em escala laboratorial normalmente o extrato é seco e analisado. Porém, há trabalhos em que o solvente é recuperado por destilação para situações em maior escala. Vecino *et al.*, 2015 obteve em condições mais brandas de extração 0,5 v/v de extração a 30,5 °C por 187,5 minutos (rendimento da extração 85%) para a purificação de CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio, outro biossurfactante). Por outro lado, a 56 °C e uso de 2 v/v a extração ocorre a 100%. O uso do clorofórmio apresenta vantagens de ter baixo ponto de ebulição 61,2 °C e por ser mais denso que a água, gerando menores custos. Porém alguns autores acreditam que solventes orgânicos tóxicos podem prejudicar a atividade biossurfactante dos lipopeptídeos (ISA *et al.*, 2007)

Arima; Kakinuma; Tamura, 1968 realizaram a coleta de espuma e o isolamento foi feito por precipitação ácida e posteriormente purificação por extração com diclorometano. O extrato pode ser cristalizado em meio aquoso com variações de pH, porque a surfactina é solúvel em pH básico e poucas impurezas de lipídios são encontradas no meio (COOPER et al., 1981).

Dlamini, 2017 fez um resumo sobre extração com solvente. A pré-purificação por precipitação ácida foi realizada em 9/11 processos por purificação por extração com solvente, e a extração sólido-líquido com acetato de etila resultaram em purezas de 84% e recuperações de 78%. De fato, Chen; Chen; Juang, 2007 defendem que a extração sólido-líquido têm a vantagem (comparado a extração líquido-líquido) de não resultar na formação de espuma e na consequente formação de emulsão

2.1.10 Ultrafiltração

Coutte *et al.*, 2015 utilizaram uma etapa de ultrafiltração em membrana com 10 kDa de massa molar de corte para aumentar a pureza da surfactina de 50% para 95%, com um rendimento global de etapas de microfiltração e ultrafiltração de 70%. Após três dias de ultrafiltração, a permeabilidade da membrana caiu 17% ($240,4 - 199,4 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$), e a retenção de surfactina foi cerca de 7%. Após diafiltração a concentração de surfactina ainda permanece menor que 20 g/L (COUTTE et al., 2010).

Coutte *et al.*, 2015 usaram membrana de fibra de poli(éster sulfona) com um fluxo volumétrico de 1 L/(h.m²) e a ultrafiltração foi realizada até concentrar em 10 vezes a surfactina, seguida de 4 ciclos de diafiltração com 10 vezes o volume de água. A surfactina foi eluída com metanol até concentração de 70% v/v, sendo obtido um rendimento global de 70% e pureza de 90%. (COUTTE et al., 2010) realizou a lavagem da membrana de ultrafiltração da mesma maneira que a das membranas contactora.

Chen; Chen; Juang, 2007 utilizaram para a pré purificação da ultrafiltração uma etapa de precipitação ácida, demonstrada ser importante para evitar quedas bruscas no fluxo de ultrafiltração, e obtiveram uma solução de surfactina em concentrações na faixa de 1,2 – 1,4 g/L para alimentar a ultrafiltração. No trabalho o fluxo volumétrico foi de 42,7-92,4 L/h.m² com diferença de pressão igual a 0,85 bar. O autor conseguiu aumentar a pureza da surfactina para 85% com recuperação de 87% utilizando duas ultrafiltrações em série. O autor ainda observou que a eluição de membrana com solvente, embora exija uma etapa para a recuperação de solvente, tem a vantagem de recuperar cerca de 20% a mais de surfactina se comparada com

a eluição com NaOH. No ano seguinte, Chen; Chen; Juang, 2008 desenvolveram um processo de ultrafiltração de surfactina a cerca de 2g/L com diferença de pressão de 0,85 bar, e pré purificação via *salting out*.

Deleu *et al.*, 2004 utilizaram uma ultrafiltração com 10 kDa de massa molar de corte em um processo patenteado precedido de coleta de espuma e extração com solvente. Foram realizados diafiltrações com lavagens com água 2 - 3 vezes e adicionado solvente orgânico para desestabilizar as micelas e eluir os lipopeptídeos da membrana. A patente declara uma recuperação global de 80 – 85%, pureza de 85 – 90%.

Sen; Swaminathan, 2005 utilizaram uma membrana de ésteres de celulose (Amiconxm 50), para purificar surfactina por ultrafiltração. O autor sugere que no *scale up* a ultrafiltração seja realizada com fluxo tangencial devido a formação de gel em concentrações de surfactina maiores que 0,5 g/L. A purificação por ultrafiltração se mostrou mais eficiente que a extração clássica com solvente e resultou em pureza de 70%. A condição de ultrafiltração ideal foi de 196 kPa (1,9 bar), pH 8,5, e fluxo de 186,3 L/m²h, resultando em 98,5% de retenção surfactina.

Isa *et al.*, 2007 propuseram um processo de purificação com duas membranas de ultrafiltração (30 kDa e 10 kDa massa molar de corte) em série. A recuperação obtida foi de 95% para cada uma das duas etapas e a pureza final obtida foi de 94%. De fato, Mubarak; Mohd Isa; Hassan, 2014 obtiveram para apenas uma etapa de ultrafiltração cerca de 88% de pureza (provavelmente os contaminantes que ainda passam pela membrana são metabólitos ou aminoácidos) além de recuperação de 96%. A rejeição após as duas etapas é de cerca de 8%, obtida na membrana de poli(éster sulfona) que apresentou melhores resultados. Glicose e sais tendem a ser eliminados por ultrafiltração, mas proteínas ficariam retidas. O fluxo inicial das membranas foi de cerca de 130 L/m²h e após meia hora de 30 L/m²h. Após 3 ciclos de uso o fluxo inicial cai para 60 L/m²h e o final novamente em 30 L/m²h

Rangarajan; Dhanarajan; Sen, 2014 usaram membranas de poli(éster sulfona) de 50 kDa para ultrafiltração tangencial e obtiveram 84% de recuperação sob diferença de pressão de 172,4 kPa (1,7 bar). O fluxo de operação nessas condições é de 200 L/m²h nos primeiros 500 mL e nos seguintes 500 mL de 50 L/m²h. A filtração é encerrada adicionando 9 volumes de metanol 60%. Alternativamente os autores propuseram a adição de Ca²⁺ a 2 mM na solução de surfactina 1 g/L para realizar a ultrafiltração por diafiltração. O permeado e o retido eram recirculados e foi usado um volume de solução de cálcio 6 vezes do volume a ser tratado. Após 1000 mL de filtrado a 172,4 kPa (1,7 bar) o fluxo se manteve constante em 300 L/m²h. Posteriormente uma

pureza de 90% foi obtida após a adição de 6 vezes o volume de metanol 60% para quebrar as micelas. Mais de 95% de surfactina é retida por ultrafiltração

Dlamini, 2017 demonstra em um resumo de sua tese que processos baseados em ultrafiltração resultam em recuperações globais por volta de 68 - 96%, atingindo purezas entre 75 - 88%. A membrana mais adotada é a de PES 100, e os processos de pré-purificação mais comuns são a precipitação ácida, ou o fracionamento por coleta de espuma.

2.2 Simulação

A simulação de processos tem como objetivo principal realizar os balanços de massa e energia, e o dimensionamento dos equipamentos de uma planta de produção. As informações dos balanços e dos equipamentos, podem ser usados em sequência para estimar o consumo de utilidades da planta, e junto com o custo dos equipamentos servir de base para uma análise econômica do processo. Há pelo menos 50 anos os softwares *Aspen Plus e HYSYS (Aspen Technology, Inc)* têm sido aplicados em processos petroquímicos, principalmente em regimes contínuos. A simulação de processos em batelada teve maior destaque há pelo menos 25 anos com o desenvolvimento dos softwares *Aspen Batch Process Developer (Aspen Technology, Inc)* e *SuperPro Designer (Intelligen, Inc)* (TURTON et al., 2009)

Desde então, o *SuperPro Designer* passou a ser referência de uso em simulação de bioprocessos, que na maioria das vezes são intrinsecamente processos em bateladas. O software além de conter as ferramentas de planejamento de processo tipicamente requeridos para operações em bateladas, também possui simuladores das operações unitárias mais comuns em bioprocessos (PETRIDES, 2015).

O Software vem sendo usado por várias das indústrias biotecnológicas, para diversas finalidades. A simulação do processo pode ser desdobrada em uma variedade de informações sobre o projeto: a análise técnico econômica de processos (KOUTINAS et al., 2014), otimização (TOUMI et al., 2010), análise de sensibilidade dos principais parâmetros do processos (CINELLI, 2017), e ainda (PETRIDES; KOULOURIS; SILETTI, 2002)

A simulação de processos com diferentes cenários produtivos usando *SuperProDesigner*, pode ser aplicada tanto para análises de sensibilidades dos processos, quanto para a avaliação das operações unitárias possíveis de diferentes rotas (FERREIRA; AZZONI; FREITAS, 2018) (CINELLI, 2017)

2.3 Análise técnico-econômica preliminar

Existem vários níveis de detalhamento de análises econômicas de processos, para diferentes níveis de informação do processo, e de tempo disponível para o projeto (Tabela 6). A análise técnico econômica preliminar é uma metodologia simples e que demanda apenas as informações mais fundamentais do processo. Essa abordagem tem a vantagem de exigir uma simulação simplificada, com o dimensionamento dos equipamentos de forma apenas aproximada (PETER; TIMMERHAUS; WEST, 2003).

Essa metodologia consiste em um importante recurso no estudo da viabilidade e fatores críticos para a implementação de processos ainda não estabelecidos em larga escala na indústria; é considerado um *design* preliminar para decidir se de fato deve ser feita uma avaliação mais detalhada (KOUTINAS et al., 2014).

A técnica é recomendada para tecnologias que estão na iminência de serem implementadas, sendo um recurso rápido e de baixo custo para estimar balanços de massa e energia, dimensionamento dos equipamentos e análise de custo, além do impacto de emissões (PETRIDES; KOULOURIS; SILETTI, 2002).

A viabilidade econômica é calculada a partir dos custos fixos de investimento (FCI) e do custo de manufatura (COM), conforme Equação 1 a

Equação 6.

$$L = pv * p$$

Equação 1: Lucro do projeto

$$Cg = FCI * fcg$$

Equação 2: Capital de giro do projeto

$$CF_i = (Pv * p - COM * p - d * FCI). (1 - t) + d * FCI$$

Equação 3: Fluxo de caixa anual

$$CCF = \sum CF_i$$

Equação 4: Fluxo de caixa combinado

Tabela 6: Tipos de *designs* de processo

Design	Principais Requisitos	Objetivo	Margem de exatidão
Razão	-Diagrama de Blocos -Custos de plantas existentes -Fatores de escala	- <i>Screening</i> inicial	+120%/-80%
Fatorial	-PFD Simplificado -Equipamentos Principais -Diagramas de custo -Fator Multiplicador	-Estudo Conceitual	+72%/-48%
Preliminar	-PFD Simplificado -Dimensionamento detalhado -Estimativa de utilidades	-Comparação de cenários/alternativas tecnológicas	+36%/-24%
Detalhado	-PFD Final -Design dos equipamentos -P&ID preliminar	-Análise detalhada de custo e lucro	+18%/-12%
Final	-PFD Final -P&ID final -Consumo de Utilidades -Planta de Arranjo	-Viabilidade imediata do projeto	+6%/-4%

$$PV_i = \frac{CF}{(1+IR)^{t,i}}$$

Equação 5: Valor presente anual

$$NPV = \sum PV, i$$

Equação 6: Valor presente líquido

L – Lucro

PV – Valor Presente

pv – Preço de venda

p – Produção anual da planta

cg – Capital de giro

fcg – Fração do FCI para o capital de giro

t – Taxa de impostos (%)

t – Tempo d

d – Depreciação (%)

t,i – Tempo de projeto no ano i

CF,i – Fluxo de Caixa no ano i

CCF – Fluxo de Caixa Acumulado

PV,i – Valor Presente no ano i

NPV – Valor Presente Líquido

IR – Taxa interna de retorno de interesse

2.3.1 Análise do mercado

A análise de mercado é fundamental em uma análise técnico econômica preliminar porque deve direcionar a dois dos principais parâmetros necessários para o estudo da viabilidade econômica: o preço de venda esperado e a capacidade produtiva da planta.

Lang; Wullbrandt, 1999 estimaram o custo de surfactantes tradicionais em torno de 1 - 3 US\$/kg, e dos ramnolipídios entre 20 - 25 US\$/kg, sustentando que apenas para aplicações antipatógenos é que os biossurfactantes poderiam ser viáveis economicamente, por não competirem com os surfactantes tradicionais. O custo foi estabelecido no ano de 1999 para escalas de fermentação de 20 a 100 m³, considerando a inflação até o ano de 2018 e ainda estipulando o preço de venda sendo o dobro da produção, uma boa estimativa para o preço de venda de ramnolipídios seria próximo de 60 - 75 US\$/kg. Por outro lado, olhando pelo preço de venda, a empresa NatSurfact vende ramnolipídio com 90% de pureza a 800 US\$/kg (NATSURFACT, 2019).

Dois fornecedores encontrados vendem ramnolipídios a preços bem distintos, 34 - 58 US\$/kg (Guangzhou Qianyi Fine Chemicals Co., Ltd ; pureza não definida) e 650 - 800 US\$/kg Wuhan Rison Trading Co., Ltd ; pureza 90%) (WWW.ALIBABA.COM, 2019).

A surfactina (CAS 24730-31-32), têm informação confiável ainda mais escassa, a empresa (Shaanxi TOP Pharm Chemical Co., Ltd) comercializa surfactina para uso cosmético por 3.100 US\$/kg

Devido ao custo evidentemente maior de surfactina frente a outros biossurfactantes, fica claro que a primeira ainda não é um produto concorrente aos ramnolipídios. Seu uso seria apenas justificado em casos específicos para cosméticos, com formulações em pequena quantidade e que explorem propriedades específicas, principalmente as antimicrobianas, umectantes e antirrugas (KANLAYAVATTANAKUL; LOURITH, 2010).

A condição de mercado para a surfactina, embora seja ainda pequena, pode ser explorado em nichos de formulações cosméticas. De fato, é o que indica a análise a seguir sobre as possíveis capacidades produtivas de plantas de surfactina.

Research and Markets © têm em seu portfólio um estudo detalhado sobre o mercado de biossurfactantes cujos dados principais levantados estimam valores globais de 4,20 a 5,52 bilhões de dólares no período de 2017 - 2020, mencionando 9 empresas estudadas, maioria europeia (RESEARCH & MARKET, 2019). A pesquisa indica o mercado europeu como o maior devido a maior preocupação com o quesito ambiental, porém o asiático como o mais promissor, devido a presença de indústria têxtil, cosmética agrícola, e ainda por apresentar menores custo de fabricação associados à mão de obra e a matérias primas mais baratas.

A empresa alemã Biotensidon International estimou que a produção alemã alcance 200 toneladas de ramnolipídios em 2017. A produção de biossurfactantes mundial corresponde a cerca de 2% de todos os surfactantes, e os ramnolipídios são os mais lucrativos contando por 8% dos biossurfactantes (BIOOEKONOMIE.DE, 2017).

O mercado de biossurfactante europeu e americano são os maiores do mundo. A Europa conta com cerca de 52% mercado. Em 2013 foram comercializados 103,2 e 68,8 toneladas de ramnolipídios e soforolipídios respectivamente. Cerca de 10,8% de todos os biossurfactantes são comercializados para fins cosméticos (ou seja cerca de 10,3 t de ramnolipídios) e aplicações para *personal care* são esperadas de estar em crescimento, principalmente em países emergentes (BRICS), devendo estar em alta até 2020 (GRAND VIEW RESEARCH, 2014).

A empresa Showa Denko em 2001 estimava as vendas de surfactina em torno de 10 MU\$ (SHOWA_DENKO, 2001). Kaneka Co em 2009 comprou os direitos de venda da Showa Denko e pretendia dobrar o lucro com a surfactina para 21 MUS\$ em vendas (ICIS_NEWS, 2009). A empresa inclui em seu portfólio o produto com 90% de pureza para cosméticos e afirma que o uso em formulações seria de 0,5% - 1% m/m. A empresa também anuncia que pode ser usada em formulações combinadas para diminuir drasticamente a quantidade de surfactantes convencionais (KANEKA_CORPORATION, 2019)

Considerando o preço de venda de surfactina de 3.100 US\$/kg ofertado pela empresa chinesa Shaanxi TOP Pharm Chemical Co., Ltd (SHAANXI, 2018), a produção anual de surfactina da empresa japonesa (Kaneka Co) seria por volta de 6,4 t/ano, comparável a produção anual da Shaanxi de 2,5 t/ano .

Essas capacidades produtivas estão em pleno acordo com o fato de que a demanda por surfactina ainda é muito pequena quando comparada a de ramnolipídios, e que mesmo o processo de produção ainda demanda desenvolvimento há um mercado emergente para o produto.

De fato, a empresa Lipofabrik © (LIPOFABRIK, 2019) é inovadora na produção biotecnológica de lipopeptídeos, possuindo em seu grupo de pesquisadores nomes importantes da literatura como Jacques e Coutte, que comercializam surfactina e possuem processo patenteado (COUTTE et al., 2015).

Concluindo, a sugestão de uma planta de capacidade de 5 t/ano, vendendo surfactina com 90% de pureza por 3.100 US\$/kg, não é uma expectativa infundada, conforme descrito

neste t3pico. Al3m disso, a aplica33o de surfactina para as empresas cosm3ticas pode ser de 0.5% - 1% m/m nas formula33es; isso significa que um produto t3pico de 100 g seria onerado em torno de 1,5 a 3 US\$. Portanto, n3o 3e irrealista pensar que, para tal cosm3tico, a surfactina, ambientalmente correta e com propriedades distintas, poderia agregar valor de forma suficientemente compensat3ria.

2.3.2 Custo dos equipamentos

O custo fixo dos equipamentos 3e o par3metro principal nas an3lises t3cnico econ3mica preliminares. Isso porque 3e usado para o c3lculo de custos fixos de investimento e dos custos vari3veis de opera33o.

A forma mais confi3vel estabelecida na literatura (PETER; TIMMERHAUS; WEST, 2003) (TURTON et al., 2009) para estimar o custo de equipamentos 3e obter os pre3os reais de equipamentos an3logos, mesmo que com dimens3es diferentes e mesmo que a cota33o tenha sido feita em anos anteriores (equacionamento abaixo). Para o c3lculo do custo equipamento dimensionado 3e necess3rio utilizar um fator exponencial (t3pico para cada equipamento) e aplica-lo a raz3o entre o valor do par3metro fundamental (*e.g.* volume para vasos) do equipamento real sobre o do equipamento ao qual se tem uma estimativa de custo. 3e preciso ainda converter o custo do equipamento em um ano anterior (subscrito *old*) para o ano presente (subscrito *new*), utilizando a raz3o de 3ndices apropriados que s3o disponibilizados anualmente - os mais comuns s3o *Chemical Engineering Plant Cost Index* (CEP) e o *Marshall and Swift Index* (MSI).

$$C, eq = \frac{CEP, new}{CEP, old} \cdot C, eq, old \cdot \left(\frac{X, new}{X, old} \right)^a$$

Equa33o 7: Custo do equipamento

C_{eq} – Custo atual do equipamento

$C_{eq, old}$ – Custo do equipamento no ano da cota33o

New – Referente ao equipamento no ano atual

Old – Referente ao Equipamento no ano da cota33o

$\frac{CEP_{new}}{CEP_{old}}$ – Índices de conversão de valor para o ano presente

$\frac{X_{new}}{X_{old}}$ – Razão Parâmetro principal do equipamento (eg, volume, área, etc)

a – Fator exponencial de custo

Caso não haja valores antigos dos equipamentos, equações empíricas podem ser usadas para calcular o custo em função do parâmetro principal do equipamento; embora mais impreciso, o cálculo é ainda suficientemente acurado para estudos preliminares, como o descrito no livro de Peter; Timmerhaus; West, 2003. Essas equações empíricas são amplamente descritas na literatura (TURTON et al., 2009) (PERRY; GREEN; MALONEY, 1997), inclusive na forma de gráficos, em função dos parâmetros fundamentais dos equipamentos, e convenientemente compilados por Garret, 1989.

2.3.3 Custos fixos de investimento

Para análises técnico econômicas preliminares o custo total de investimento pode ser realizada a partir do custo dos equipamentos principais do processo gerando acurácia na análise de viabilidade do processo de 30 – 40% (MAROULIS; SARAVACOS, 2003). O fator inclui no montante de investimento necessário os custos para erguer a infraestrutura da planta, incluindo a instalação dos equipamentos.

O custo total de investimento fixo pode ser calculado multiplicando o custo dos equipamentos principais por fatores multiplicadores LF (*Lang factors*). Essa incerteza pode ser menor caso sejam usados fatores de Lang discretos para cada tipo de equipamento, ou ainda aplicando o multiplicador sobre os custos de instalação (PETER; TIMMERHAUS; WEST, 2003).

Outra alternativa encontrada para uso dos fatores de Lang é o cálculo do custo total da planta utilizando o custo dos equipamentos e fatores multiplicadores BMF (*Bare Module Factors*) que ainda são tabelados de acordo com informações mais específicas, como configuração e materiais dos equipamentos. Essa técnica demanda ainda a conversão do custo de equipamento para o seu custo de instalação, para o qual fatores de instalação multiplicadores já são tabelados (GARRETT, 1989).

2.3.4 Custos de manufatura

O custo com utilidade são uma parcela importante dos custos de operação. O consumo de utilidades é obtido após a simulação do processo, e incluem: água de processo, eletricidade, vapor, consumíveis, e água de resfriamento (MAROULIS; SARAVACOS, 2003). O preço médio para as utilidades pode ser obtido em livros de engenharia química (TURTON et al., 2009), ou com fornecedores da localidade da planta.

Por fim, o custo de manufatura pode ser calculado conforme descrito em (TURTON et al., 2009). No cálculo é levado em consideração os custos: direto com manufatura (*i.e.*, manutenção, reparo e supervisão dos equipamentos), fixos de manufatura (seguro e custos extras da planta), gerais de manufatura (administração, pesquisa e desenvolvimento, distribuição e venda); cujos gastos são contabilizados na equação abaixo (TURTON et al., 2009).

$$COM = 0,18 * FCI + 2,73 * Col + 1,23 * (Crm * Cul)$$

Equação 8: Custo de manufatura

COM – Custo de Manufatura

Crm – Custo de matéria-prima (*Raw Material*)

Cul – Custo de utilidades

Col – Custo de mão de obra (*Operating Labour*)

FCI – Custo Fixo de Investimento

2.3.5 Análise de sensibilidade

A análise de sensibilidade de projetos de processos é tipicamente feita avaliando a variação na viabilidade econômica de acordo com flutuações de alguns dos principais parâmetros do processo. Ao invés de projetar cenários com essas flutuações, uma abordagem bem caracterizada consiste em realizar a flutuação desses parâmetros utilizando uma simulação de Monte Carlo. A simulação por Monte Carlo implica em variar os parâmetros

randomicamente dentro de uma faixa estabelecida com suas respectivas probabilidades de ocorrência. A viabilidade do processo em diferentes combinações desses parâmetros em suas faixas de valores e probabilidades resulta em um modelo econômico probabilístico. Atualmente existem alguns softwares disponíveis para essa metodologia: REP/PC (*Decision Sciences Corp.*); @RISK (*Palisade Corp.*); e *Crystal Ball* (*Oracle* ®) (TOWLER; SINNOTT, 2008).

Oracle Crystal Ball se destaca por ter a vantagem de ser facilmente utilizado em planilhas de Microsoft Excel, permitindo o cálculo das distribuições de probabilidade das flutuações dos parâmetros como *add-in* do Microsoft Excel (PETRIDES, 2015). A metodologia consiste, portanto, na perturbação simultânea de parâmetros aos quais se quer computar a influência de sua faixa de flutuação sobre uma variável.

Vários dos parâmetros de um processo já foram avaliados dessa maneira: preço de venda, capacidade produtiva da planta, multiplicadores (por exemplo, fatores de Lang), taxa interna de retorno, preço das utilidades (LANE; SPATH, 2001). Koutinas *et al.*, 2016 fizeram análise técnico-econômica de um processo sustentável de butanodiol avaliando a sensibilidade para uma faixa de custo fixo de investimento e do preço de venda.

Capítulo III – Metodologia

A metodologia da análise econômica consiste em três etapas principais, cuja etapa central é a da simulação do processo. Para tal, os fluxogramas simplificados dos diferentes cenários do processo serão desenhados em Microsoft Visio e os equipamentos principais simulados em *SuperPro Designer (Intelligen, Inc)* com o objetivo de obter o dimensionamento dos equipamentos e o consumo de utilidades para cada um dos processos. Na simulação em si, vários dos parâmetros e informações inseridas no software foram obtidas na literatura, eventuais considerações e cálculos preliminares foram realizados em uma etapa preliminar, em arquivo de memória de cálculo em planilha de Microsoft Excel.

Após a realização da simulação, uma etapa final foi realizada com as informações de saída do software para que fossem analisadas, também em arquivo de memória de cálculo em planilha de Microsoft Excel, e possibilitassem a construção do estudo da viabilidade técnico econômica. Por fim usando *add-ins* no Microsoft Excel do *Oracle Crystal Ball* a análise de sensibilidade foi realizada.

3.1 Simulação

O processo de produção clássico de surfactinas se baseia na produção por borbulhamento e na purificação por extração com solventes. Ambas as etapas apresentam dificuldades operacionais; diante da crescente aplicação de membranas em processos biotecnológicos, as principais alternativas encontradas na literatura para as etapas do processo clássico foram a produção por membranas contactoras e a purificação por ultrafiltração. Como resultado, 4 cenários foram construídos a partir das duas possibilidades de produção (borbulhamento ou aeração com membranas contactoras) e das duas possibilidades de purificação (extração com solvente ou ultrafiltração).

Os 4 cenários de processos produtivos serão baseados nos diagramas conforme Figura 5 em acordo com as operações unitárias mais estudadas na revisão do tópico 0.

Os parâmetros de entrada adotados na simulação do processo serão descritos nessa seção, e foram utilizados diretamente como inputs do simulador, e/ou foram utilizados para cálculos preliminares descritos no anexo 7.1.

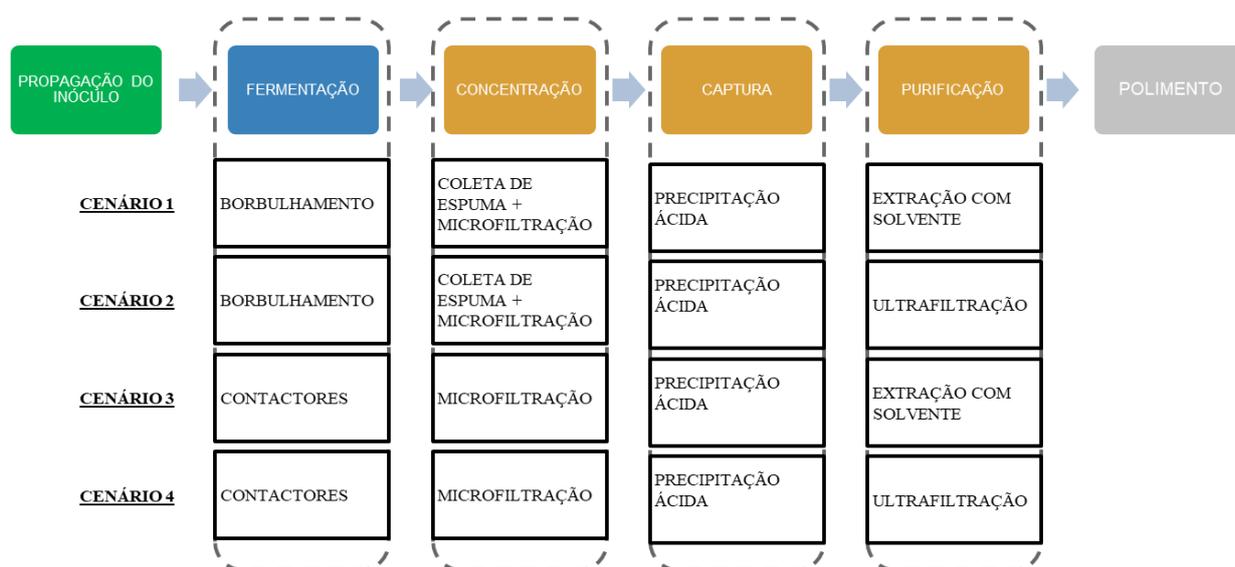


Figura 5: Cenários de produção selecionados

Os tópicos seguem a divisão da ordem lógica de como as informações precisaram ser selecionadas e de acordo com a sequência das operações unitárias selecionadas, estando os principais parâmetros agrupados na Tabela 7.

Vale ressaltar que as variáveis de entrada da Tabela 7 foram fixadas como as mesmas; independentemente dos cenários a recuperação dos processos principais foram considerados constantes, ou seja foram fixado os desempenhos, haja visto que não foram encontrados dados na literatura sobre a otimização de cada um dos cenários.

Os parâmetros de saída da simulação consistem basicamente no dimensionamento dos equipamentos, no número de equipamentos, e no consumo de matérias-primas e utilidades. O dimensionamento dos equipamentos será usado posteriormente para o custo fixo de investimento; o número de equipamentos, que é resultante do dimensionamento e do *scheduling* dos biorreatores, será usado para o custo fixo dos equipamentos e para o custo de mão-de-obra; o consumo de matérias-primas e utilidades será usado para dos respectivos custos. O resumo de do uso das variáveis de saída encontra-se na Figura 6. No EVTE o custo dos equipamentos é convertido no custo fixo de investimento da planta (FCI ou CAPEX). Os custos variáveis de utilidade, matérias-primas, e mão de obra, somam-se a uma fração do FCI para incluir o custo variável de manutenção dos equipamentos usando a Equação 8

Tabela 7 : Principais parâmetros da simulação.

Produtividade anual	5 t	Este Trabalho	Parâmetros Globais
Tempo anual de operação	8.300 h	(KOUTINAS et al., 2016)	
Recuperação Global	70%	(COUTTE et al., 2015)	
Tempo de fase lag (h)	4	(ALONSO; MARTIN, 2016)	Curva de Crescimento
Tempo de fase de Crescimento (h)	12	(ALONSO; MARTIN, 2016)	
Tempo de fase estacionária (h)	20	(ALONSO; MARTIN, 2016)	
Rendimento de substrato em produto (g/g)	0.05	(ALONSO; MARTIN, 2016)	Produção
Rendimento de substrato em célula (g/g)	0.3	(ALONSO; MARTIN, 2016)	
Produtividade volumétrica (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	18	(ALONSO; MARTIN, 2016)	
Consumo na agitação (kW/m ³)	2	(KOUTINAS et al., 2016)	
Taxa de ocupação de nível pela espuma no borbulhamento	30%	(CARRERA; COSMINA; GUIDO, 1993)	Coleta de Espuma
Enriquecimento de surfactina na Espuma	80	(WILLENBACHER et al., 2014)	
Recuperação de surfactina na Espuma	95%	(WILLENBACHER et al., 2014)	
Coefficiente de Transferência de Massa Global de Referência (m/s)	8,0E-05	(LI et al., 2010)	Contactoras
pH da precipitação ácida	4	(CHEN; CHEN; JUANG, 2007)	Precipitação ácida
pH para eluição do Filtro	11	(IZUMIDA; KAWASAKI; MOROSHIMA, 2013)	
Recuperação após precipitação ácida	97%	(CHEN; CHEN; JUANG, 2007)	
Pureza após precipitação ácida	55%	(CHEN; CHEN; JUANG, 2007)	
Excesso Estequiométrico de NaOH para recristalização	100%	(IZUMIDA; KAWASAKI; MOROSHIMA, 2013)	
Coefficiente de partição	0,85	(YEH; WEI; CHANG, 2005)	Extração com solvente
Recuperação após extração com solvente	72%	(YEH; WEI; CHANG, 2005)	
Pureza após recuperação com solvente	90%	(YEH; WEI; CHANG, 2005)	
Rejeição de surfactina	88%	(CHEN; CHEN; JUANG, 2007)	Ultrafiltração
Recuperação de surfactina	87%	(CHEN; CHEN; JUANG, 2007)	
Diferença de pressão	1,7 bar	(RANGARAJAN; DHANARAJAN; SEN, 2014)	

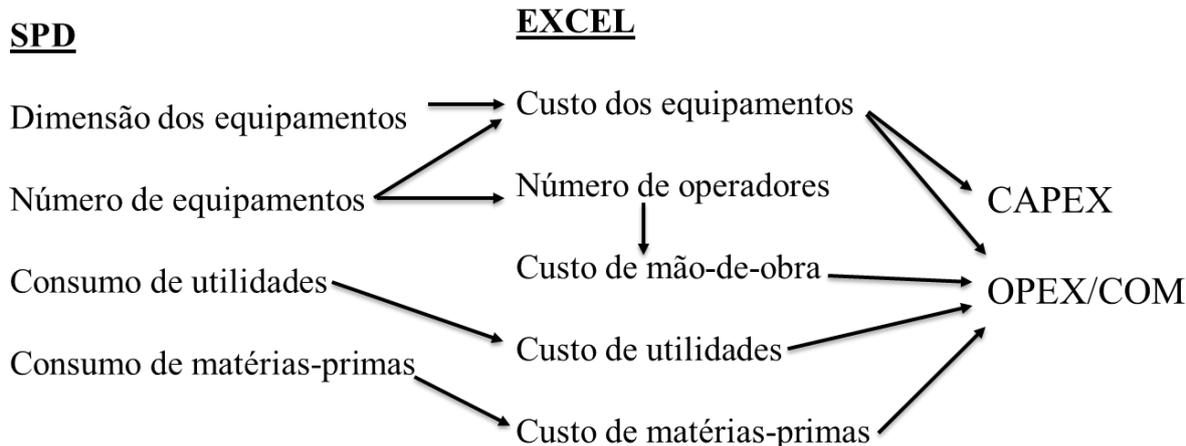


Figura 6: Fluxo de informação das variáveis de saída do SPD

3.1.1 Parâmetros globais

Uma Produção contínua de 5 t/ano de surfactina, com preço de venda desejado de 3.100 US\$/kg e pureza de 90%, conforme desenvolvido na revisão (tópico 2.3.1). Ainda será considerada a operação anual de 8300 h/ano (*i.e.* 20 dias inoperantes por ano), e a capacidade nos dois primeiros anos serão de 60% e 80% da capacidade nominal da planta.

3.1.2 Tanques e silos

O dimensionamento de silos e tanques foi realizado baseado no tempo de residência, conforme descrito no anexo 7.1.6. Água de processo, Solução de hipoclorito de sódio e solvente serão armazenados em tanques, e a glicose será armazenada em silos. Os outros sais do meio serão alimentados em esteira por sacos já que suas vazões mássicas são menores que 10 kg/h.

3.1.3 CIPs e SIPs

As limpezas dos vasos e biorreatores foram programadas para serem feitas após cada ciclo utilizando hipoclorito de sódio 100 ppm, e após esterilização realizado um enxágue com água estéril (pré filtrada em 0,45 µm operando ininterruptamente a um fluxo volumétrico a 115,5 L/m².h.bar com pressão diferencial de 0,2 bar (FARIA et al., 2002) durante tempo suficiente para encher e esvaziar os equipamentos. As limpezas dos filtros serão feitas com hipoclorito de sódio 100 ppm e/ou hidróxido de sódio 0,5 M, e a esterilização realizada por enxague com água estéril.

Os outros equipamentos serão limpos com água de processo e esterilizados com vapor de baixa pressão, após cada um dos ciclos, nas condições pré-selecionadas do simulador.

3.1.4 Scheduling

Os processos simulados foram planejados de forma que a produção de surfactina fosse contínua, independente de algumas de suas etapas ocorrerem fundamentalmente em batelada. Foi utilizado o conjunto de equações adotados anteriormente (KOUTINAS et al., 2016) para calcular o número de equipamentos em paralelo necessários, bem como o tempo total do ciclo completo de cada operação, para que o processamento de cada uma das etapas individualmente fosse contínua, sendo garantida pela sincronização ótima dos equipamentos em paralelo, conforme detalhado no anexo 7.1.9.

3.1.5 Meio de cultura

Os sais usados no meio de cultivo foram considerados como um composto salino único com propriedades médias de seus componentes, com composição semelhante ao adotado por (COOPER et al., 1981), a fonte de carbono foi glicose a 40 g/L e a fonte de nitrogênio nitrato de amônio a 5,3 g/L, conforme calculado previamente no item anexo 7.1.3.

3.1.6 Esterilização do meio

Como o meio de cultivo usado no processo real precisa ter uma fonte de nitrogênio orgânica em conjunto com a fonte de nitrogênio inorgânica, foi decidido utilizar uma microfiltração para esterilização do meio para evitar a reação de Maillard (STANBURY; WHITAKER; HALL, 1995). Foi adotado uma membrana de 0,45 μm , operando ininterruptamente a um fluxo volumétrico a 42,9 L/m².h.bar com pressão diferencial de 0,2 bar (FARIA et al., 2002) por 1 semana com lavagens de hipoclorito de sódio 100 ppm e água de processo estéril sob o fluxo de 500 L/m².h por 2 h. A vida útil da membrana, foi definida em 3 anos (FASAEI et al., 2018).

3.1.7 Condições de cultivo

As condições de fermentação com borbulhamento foram adotadas conforme otimizadas por planejamento experimental para o processo com coleta de espuma: pH 6,7; T=37,4 °C; agitação a 140 rpm; aeração a 0,75 vvm (SEN; SWAMINATHAN, 1997). A potência gasta na

agitação foi a mesma adotada por (KOUTINAS et al., 2016) para biorreatores com 200 rpm por impelidor em 2 kW/m^3 (BENZ, 2008). A fermentação com membranas contactoras foi simulada usando pH 7,0, a $22 \text{ }^\circ\text{C}$ e aeração de 1 vvm (COUTTE et al., 2010)(COUTTE et al., 2015).

3.1.8 Propagação do inóculo

Como os dados de propagação do inóculo de (ALONSO; MARTIN, 2016) estão mais detalhados e dentro de valores aceitáveis na literatura (CARRERA; COSMINA; GUIDO, 1993) (WILLENBACHER et al., 2014), foram adotados os seguintes valores de Alonso; Martin, 2016 para a etapa de propagação: tempo de fermentação 12 h, tempo de fase lag de 4 h, taxa específica de crescimento $0,35 \text{ h}^{-1}$, fator de rendimento de substrato em célula $0,3 \text{ g/g}$, concentração inicial do inóculo desejada $0,038 \text{ g/L}$ de células em peso seco, concentração do inóculo de 10% v/v. O balanço estequiométrico da reação de produção foi tomado conforme anexo 7.1.1 e a concentração de células calculadas conforme anexo 7.1.2. A formação de surfactina e de espuma foi negligenciada nessa etapa. O volume útil deve ser estabelecido dentro da faixa de 80 – 85% do volume total do biorreator, e a relação altura diâmetro (L/D) típica de 2 será adotada (KOUTINAS et al., 2016).

3.1.9 Fermentação com borbulhamento

O Volume útil do biorreator adotado será entre 80 - 85%, em acordo com Cooper *et al.*, 1981 e Carrera; Cosmina; Guido, 1993. Porém 30% desse volume será reservado para a evolução da espuma (volume de meio deverá ser de 55 a 60% volume do biorreator), cuja coleta será feita lateralmente na exaustão de ar em acordo com esquema de Carrera; Cosmina; Guido, 1993; O tempo de fermentação será de 36 horas (BARROS; PONEZI; PASTORE, 2008)(ALONSO; MARTIN, 2016)(WILLENBACHER et al., 2014), com produtividade volumétrica integralizada de $18 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, rendimento específico de substrato em célula $0,3 \text{ g/g}$, e rendimento específico de substrato em produto $0,05 \text{ g/g}$ (ALONSO; MARTIN, 2016). O balanço estequiométrico da reação de produção foi tomado conforme anexo 7.1.1 e a concentração de surfactina e biomassa serão calculados conforme anexo 7.1.2. A coleta de espuma será iniciada após 12 horas a partir de quando o crescimento celular será desprezado e a produção de surfactina passa a ocorrer.

3.1.10 Fermentação com contactoras

Os biorreatores com aeração por contactoras serão dimensionados com condições semelhantes aos de propagação de inóculo, já que também não decorrem em desenvolvimento de espuma. O volume útil deve ser estabelecido dentro da faixa de 80 – 85% do volume total do biorreator, e a relação L/D típica de 2 será adotada (KOUTINAS et al., 2016), assim como adotado por (CHEN; CHEN; JUANG, 2007) para processos sem geração de espuma.

A aeração ocorre a através de circulação contínua do meio, com ar passando no lúmen do módulo de membrana de fibra oca a uma taxa de 1 vvm. As fibras são de poli(éster sulfona) e com diâmetro de poro de 0,65 µm. A pressão do sistema foi definido como a atmosférica, exceto a entrada de ar na aeração que foi tomada como 0,4 barg (COUTTE et al., 2015), e a queda de pressão nas linhas de ar foi definida em 0,1 bar (COUTTE et al., 2010)

A retenção de biomassa na membrana foi considerada em 23%, já a surfactina embora seja retida em até 83%, será considerada removida durante as lavagens (COUTTE et al., 2010), adotando um máximo de 5% de perdas (COUTTE et al., 2015). O dimensionamento dos módulos será realizado conforme anexo 7.1.5.

As lavagens da membrana serão adotadas conforme descrito por (COUTTE et al., 2010). Duas lavagens em série, com água a 30 °C e NaOH 0,1 M a 50 °C serão realizadas. Ambas ocorrerão a um fluxo volumétrico de 1,5 L/h.m² por 2 horas.

O fator de rendimento de substrato em produto foi considerado 0,0635 g/g (COUTTE et al., 2013) e o fator de rendimento de substrato em célula 0,21 g/g (COUTTE et al., 2010).

A Fermentação ocorrerá em batelada por 36 h, com uma produtividade média de 18 mg.L⁻¹.h⁻¹ e uma fator de rendimento de substrato em produto de 0,0635 g/g (COUTTE et al., 2013). O fator de rendimento de glicose em biomassa foi estabelecido em 0,212 g/g (COUTTE et al., 2010). A taxa de crescimento específica foi mantida constante em torno de 0,2 h⁻¹, por cerca de 18 h (será considerado 6 h de fase lag) (COUTTE et al., 2015) . O balanço estequiométrico da reação de produção foi tomado conforme anexo 7.1.1 e a concentração de células e biomassa calculadas conforme anexo 7.1.2.

3.1.11 *Fracionamento por coleta da espuma*

A potência requerida no colapso das bolhas no vaso coletor de espuma será adotada como o valor máximo descrito no equacionamento de Takesono *et al.*, 2001 como 0,7 kW/(m³/h), e o vaso de acúmulo da espuma purificada terá um volume útil de 80% ao final da fermentação.

Os dados do fracionamento de coleta de espuma serão adotados conforme estudo aprofundado de Willenbacher *et al.*, 2014: enriquecimento de bactérias na espuma 0,6; enriquecimento de surfactina na espuma 80; recuperação de surfactina na espuma 95%; os cálculos foram realizados conforme anexo 7.1.4.

3.1.12 *Microfiltração*

A clarificação por microfiltração será realizada com os seguintes dados de Coutte *et al.*, 2010: fluxo volumétrico de 73,2 L/h.m²; lavagens com NaOH e H₂O por 18 h, com 144 L/m² membrana de 0,22 µm; tempo até lavagem 72 h; retenção de surfactina e biomassa 0,02 e 0,99, respectivamente. A troca da membrana foi considerada ocorrer a cada 3 anos (FASAEI *et al.*, 2018). A diferença de pressão adotada foi de 1,4 bar, em acordo com (KREUTER, 1996).

3.1.13 *Precipitação ácida*

A precipitação ácida foi simulada por adição de HCl até pH 4 seguida de filtração em membrana de nitrocelulose 2,5 µm (YEH; WEI; CHANG, 2005), eluição em NaOH, por adição de 2 mol de NaOH por mol de surfactina (IZUMIDA; KAWASAKI; MOROSHIMA, 2013), e lavagem com água e base até pH 11 (CHEN; CHEN; JUANG, 2007) obtendo 97% de recuperação de surfactina, e 55% pureza (CHEN; CHEN; JUANG, 2007). O Fluxo volumétrico médio por 24 horas de processo foi estimado em 100 L/h.m², e as lavagens com NaOH diluído durante 18 h para eluição em pH 11.

3.1.14 *Extração com solvente*

Foram simuladas três extrações com mesmo volume (em relação ao volume de água para remoção da surfactina do filtro após precipitação ácida) de diclorometano (YEH; WEI; CHANG, 2005). Considerou-se a surfactina resultante com uma pureza de 90% e rendimento de 72%. O cálculo do coeficiente de partição foi realizado conforme anexo 7.1.7.

3.1.15 Ultrafiltração

Será considerada uma membrana de fibra de celulose regenerada com massa molar de corte de 10 kDa para realizar uma ultrafiltração tangencial (COUTTE et al., 2010). A ultrafiltração é realizada com um fator de concentração de 10 (COUTTE et al., 2015) e é, compatível com concentrações de alimentação entre 0,5 – 1 g/L (SEN; SWAMINATHAN, 2005)(CARRERA; COSMINA; GUIDO, 1993) (RANGARAJAN; DHANARAJAN; SEN, 2014).

A diafiltração será feita na mesma membrana da ultrafiltração, a fim de reestabelecer o volume com água, repetindo o ciclo de por 4 vezes. Os lipopeptídeos são eluídos com metanol até que seja atingida a concentração de 70% v/v. Após a secagem é esperado uma pureza de 90% de surfactina (COUTTE et al., 2015) (RANGARAJAN; DHANARAJAN; SEN, 2014) (CARRERA; COSMINA; GUIDO, 1993).

O fluxo de operação nessas condições foi adotado conforme valor médio de 50 L/m²h para a ultrafiltração, e de 300 L/m²h para eluição com solvente. (CARRERA; COSMINA; GUIDO, 1993), ambos próximos aos de outros autores (ISA et al., 2007) (CHEN; CHEN; JUANG, 2007). Foi estabelecido que a ultrafiltração ocorreria por 36 h, e as membranas seriam lavadas a cada três ciclos, o que está em acordo com a tentativa de operação contínua descrita por (COUTTE et al., 2013). A troca da membrana foi estimada necessária a cada 3 anos.

As lavagem e regeneração foram simuladas conforme (COUTTE et al., 2010) (COUTTE et al., 2013) (COUTTE et al., 2015). Duas lavagens, com 60 L/m² por 2 h com água destilada a 30 °C, e por mais 2 h com NaOH 0,1 M a 50 °C foram realizadas. Na sequência três etapas de regeneração: NaOH 0,5 M a 50 °C por 1 h, NaOCl 100 ppm a 50 °C por 1 h, e água esterilizada.

A Rejeição das micelas de surfactina foi definida em 88%, com recuperação de 87%. (CHEN; CHEN; JUANG, 2007), ambos os valores de pureza e recuperação, inclusive o uso de precipitação ácida como pré-purificação estão em acordo com outras revisões da literatura (DLAMINI, 2017). A diferença de pressão de operação foi estabelecida em 1,7 bar (RANGARAJAN; DHANARAJAN; SEN, 2014)

3.2 Análise Econômica

Os parâmetros para o desenvolvimento da análise econômica estão descritos nessa seção. O custo fixo de investimento (FCI) é calculado a partir de metodologia que equaciona o custo dos equipamentos usando suas dimensões e de dados da literatura. O custo de operação, ou manufatura (OPEX) é obtido a partir do consumo com utilidades, matérias-primas, mão de obra e do FCI. Com o custo de manufatura o estudo de viabilidade técnico-econômica (EVTE) pode ser calculado e os parâmetros para tal serão aqui definidos. A influência da flutuação desses parâmetros no EVTE resultará na análise de sensibilidade.

3.2.1 Custo de investimento fixo

O custo de investimento fixo foi obtido a partir do custo de compra dos equipamentos, usando um fator de Lang de 5 sobre o custo dos equipamentos bruto para o valor máximo, e um fator de Lang de 1,6 para sobre o custo dos equipamentos instalados como o custo mínimo (KOUTINAS et al., 2016), faixa que comporta os valores típicos do parâmetro (PETER; TIMMERHAUS; WEST, 2003).

O custo dos equipamentos foi, sempre que possível, calculado a partir de cotações anteriores. Várias dessas informações foram encontradas em relatórios de análise técnico-econômica (D. HUMBIRD, R. DAVIS, L. TAO, C. KINCHIN, D. HSU, 2011)(DAVIS et al., 2013)(NEXANT INC., 2006)(PETRIDES, 2015). Os fatores de instalação e os fatores exponenciais dos equipamentos foram principalmente obtidos ou nesses relatórios ou em livros, principalmente (TOWLER; SINNOTT, 2008). O índice de custo de plantas de engenharia química (CEPCI) foram obtidos principalmente em sites (LOZOWSKI, 2019) (NTU, 2011).

Quando não havia cotação de um equipamentos com características próximas aos dimensionados nesse projeto, foi optado por usar correlações da literatura para a estimativa do custo (GARRETT, 1989), e ainda não havendo correlações, o custo calculado nos modelos internos do simulador foram tomados. Os valores adotados foram comparados, sempre que pertinente com os modelos generalistas usados no site *Machte* (MATCHES, 2014) para evitar a tomada de valores de compra muito desproporcionais.

3.2.2 Matérias-primas

O custo de matérias primas foi estimado com o valor de importação médio, por quilo, dos Estados Unidos da América, em dólares, através dos dados disponíveis no portal do governo federal de comércio (MDIC, 2018) .

3.2.3 Custo de mão-de-obra

O custo de mão de obra foi estimado a partir da premissa de que são necessários 4,5 operadores contratados para cada operador demandado por turno (*i.e.* 3 turnos por dia, 8 horas por turno, 5 dias por semana, 49 semanas ao ano). O pagamento anual médio dos operados foi estimado em 45000 US\$/ano, de acordo com médias anuais (GLASSDOOR, 2018). A demanda de operadores por turno foi feita a partir de valores tabelados para cada um dos equipamentos da planta, de acordo com metodologia descrita por B Reisman, 1988.

3.2.4 Custo de utilidades

Os custos de utilidade foram obtidos na literatura (TURTON et al., 2009) e estabelecidos como 0,07 US\$/t para água de processo, 0,06 US\$/kWh para a eletricidade, 12,7 US\$/t para o vapor de baixa pressão, e 0,015 US\$/t para água de resfriamento. O custo dos consumíveis, (ie as membranas para reposição dos processos de filtração) foi adotado em 28 US\$/m² para os processos de microfiltração e 83 US\$/m² para os processos de ultrafiltração, mesmas faixas calculadas que foram utilizadas por (FERREIRA; AZZONI; FREITAS, 2018); a membrana de filtração após precipitação ácida teve custo estimado em 10 US\$/m².

3.2.5 Custo de manufatura

A Equação 8 engloba todos o cálculo para gastos extras com manufatura (TURTON et al., 2009), usada anteriormente por Koutinas *et al.*, 2016. A metodologia desconsidera a depreciação dos equipamentos a serem comprados com o custo fixo de investimento. Portanto, essa deverá ser incluída na análise de viabilidade econômica. Também foi desprezado o custo com tratamento de efluentes.

3.2.6 Análise técnico-econômica

A análise de viabilidade técnico econômica foi realizada considerando um projeto de 10 anos, operando com capacidades de 60% e 80% nos dois primeiros anos até produzir a

capacidade máxima em cada um dos anos seguintes. A localização da planta foi definida sendo na nos Estados Unidos da América devido à ausência de empresas produtoras de surfactina e por ser um relevante mercado de biossurfactantes (conforme tópico 2.3.1). O preço de venda foi estimado em 3.100 US\$/kg (conforme tópico 2.3.1), a depreciação foi adotada como 10% ao ano, e o valor residual dos equipamentos foi desprezado. Os impostos foram estabelecidos em 40% e a taxa interna de retorno desejada foi estabelecida em 15%. O capital de giro necessário para o início do projeto foi definido como 10% do custo total de investimento fixo, e deve ser recuperado ao final do projeto.

3.2.7 Análise de sensibilidade

A análise de sensibilidade será realizada com *add-ins* em Microsoft Excel usando o *software Oracle Crystal Ball*. Serão avaliadas as seguintes flutuações: capacidade produtiva da planta: 1-10 t/ano; fator de Lang: 1,6 para custo de instalação e 5 para custo de compra (KOUTINAS et al., 2016); custo do meio de cultivo negligenciável (KOUTINAS et al., 2014) (*e.g.* através de aproveitamento de resíduo de indústria de batata (NOAH; BRUHN; BALA, 2005), mandioca (BARROS; PONEZI; PASTORE, 2008) ou glicerol (DE FARIA et al., 2011)); produtividade volumétrica em surfactina entre 10 mg.L⁻¹.h⁻¹ (COOPER et al., 1981) e 50 mg.L⁻¹.h⁻¹ (YEH; WEI; CHANG, 2005); permeabilidade na microfiltração máxima e mínima 42,3 - 482,3 L/h.m²bar (COUTTE et al., 2013) e diferença de pressão máxima e mínima de 3,4 bar e 1,4 bar (KREUTER, 1996) (*i.e.* 15 L/h.m² - 345 L/h.m²); fluxo volumétrico na esterilização de microfiltração com fluxo cruzado no preparo do meio de 200 - 800 L/h.m² (BHAVE, 2003); fluxo volumétrico na ultrafiltração de 42,7 - 92,4 L.h⁻¹.m⁻² com diferença de pressão de 0,85 bar (CHEN; CHEN; JUANG, 2007). Os parâmetros a serem analisados estão reunidos na Tabela 8 e foi considerado um modelo isoprobabilístico para todos os parâmetros, isto é, qualquer valor dentro das faixas de cada um dos parâmetros teria a mesma probabilidade de ser verdadeiro.

Tabela 8: Parâmetros para análise de sensibilidade

Parâmetro	Mínimo	base	máximo	Referências
Custo Fixo de Investimento $FCI = LF * \sum C$	$LF = 1,6$ $C = C_{inst}$	$FCI = média (min, max)$	$LF = 5$ $C = C_{eq}$	(KOUTINAS et al., 2016)
Custo do meio	0	$C_{meio} = \sum C_i * P_i$	$C_{meio} = \sum C_i * P_i$	(KOUTINAS et al., 2014)
Produtividade Volumétrica (rp)	10 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹	18 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹	50 mg.L ⁻¹ .h ⁻¹	(COOPER et al., 1981) (YEH; WEI; CHANG, 2005) (ALONSO; MARTIN, 2016)
Fluxo da Microfiltração	15 L.m ⁻² .h ⁻¹	42,3 L.m ⁻² .h ⁻¹	345 L.m ⁻² .h ⁻¹	(KREUTER, 1996) (COUTTE et al., 2013)
Fluxo de esterilização da água	200 L.m ⁻² .h ⁻¹	577,5 L.m ⁻² .h ⁻¹	800	(BHAVE, 2003)
Fluxo de esterilização do meio	200 L.m ⁻² .h ⁻¹	214,5 L.m ⁻² .h ⁻¹	800	(BHAVE, 2003)
Fluxo da Ultrafiltração	42,7 L.m ⁻² .h ⁻¹	50 L.m ⁻² .h ⁻¹	92,4	(CHEN; CHEN; JUANG, 2007)
Fluxo da Filtração	50 L.m ⁻² .h ⁻¹	100 L.m ⁻² .h ⁻¹	500	Este Trabalho
k de aeração por contactoras	$Sh = 0,15 * Re^{0,8} * Sc^{0,33}$	$Sh = 0,15 * Re^{0,98} * Sc^{0,33}$	$Sh = 0,15 * Re^{0,98} * Sc^{0,33}$	(LI et al., 2010) (WICKRAMASINGHE et al., 2010)
Custo de eletricidade	0,02 US\$/kW	0,06 US\$/kW	0,1 US\$/kW	(TURTON et al., 2009) (FASAEI et al., 2019)
Vida útil das Membranas	2 anos	3 anos	10 anos	(FASAEI et al., 2019)

Capítulo IV – Resultados e discussão

4.1 Diagrama de blocos

A fim de ilustrar de maneira simplificada os processos, e para servir de guia para a construção dos fluxogramas de processo (PFD), um diagrama de blocos foi elaborado para os 4 cenários, representados na Figura 7.

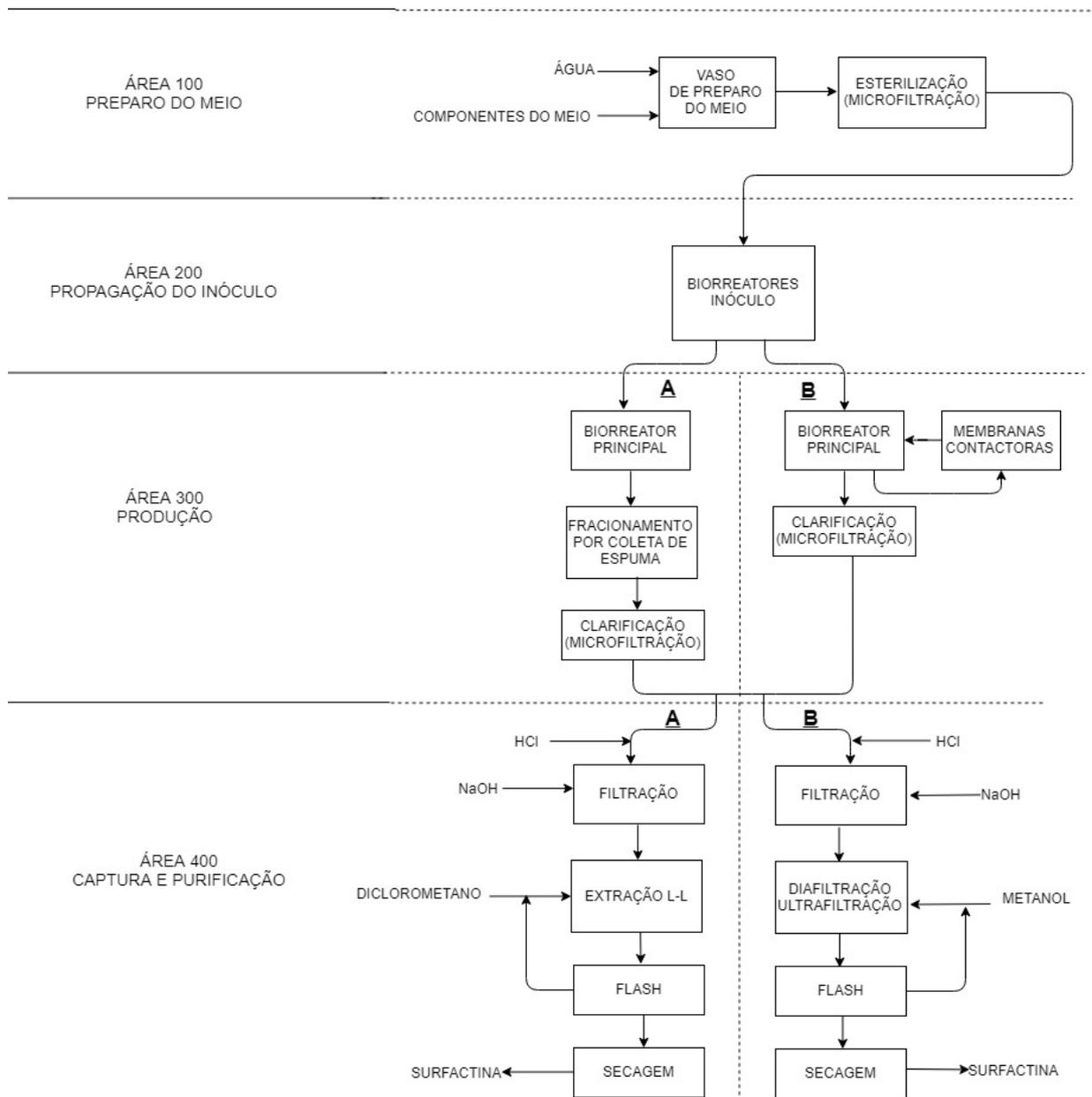


Figura 7: Diagrama de blocos

Os processos foram divididos em 4 áreas. Na área 100 o meio é preparado e esterilizado; na área 200 o inóculo é propagado em biorreatores no meio da fase de crescimento do microrganismo; na área 300 a produção é feita, ou por borbulhamento, coleta de espuma e microfiltração (300 A - seta para o lado esquerdo), ou por aeração não dispersiva com contactores, e microfiltração (300 B - seta para o lado direito); na área 400 a purificação é feita, ou por extração com solvente após precipitação ácida (400 A - seta para o lado esquerdo), ou por ultrafiltração após precipitação ácida (400 B - seta para o lado direito), e em ambos seguidos por *flash* e secagem.

4.2 Fluxogramas de processo

Os PFDs foram desenvolvidos a partir da revisão bibliográfica sobre o processo e operações unitárias, e baseados nos diagrama de blocos. Os fluxogramas foram divididos e elaborados para cada uma das 4 áreas: área 100 - tancagem e preparo do meio; área 200 – propagação do inóculo; área 300 – reação; área 400 – purificação.

As áreas 100 e 200 (

Figura 8) são comuns a todos os cenários. Na área 100 são armazenados a glicose ($C_6H_{12}O_6$) em um silo TT-101, a água de processo no tanque TT-102, o hipoclorito de sódio (NaOCl) a 100 ppm no tanque TT-103 e o solvente (diclorometano (CH_2Cl_2) para cenários 1 e 3; metanol (CH_3OH) para cenários 2 e 4) no tanque TT-104. O preparo do meio ocorre continuamente no vaso V-101 e os sais minoritários da composição do meio podem ser alimentados manualmente. No filtro F-101 ocorre a esterilização do meio de cultura preparado, e no filtro F-102 a água é também microfiltrada em 0,45 μm para realizar a limpeza química dos equipamentos da planta (CIP) que ocorre após a esterilização química com NaOCl (SIP); em ambos os filtros existem entradas de água e soda (NaOH) para realização de limpeza e manutenção de rotina.

Na área 200 é realizado a sequência de propagação de inóculo desde o estoque crio preservado até a semeadura principal nos biorreatores BR-207 e 208. Os biorreatores operam em paralelo para entrega contínua para processamento. O processo ocorre por aeração com ar transportado pelos compressores (M-201 a 206) e purificado em um filtro de ar, sob agitação constante. Nessa etapa, apenas o crescimento celular ocorre, e não há a formação de espuma.

Na área 300 A (Figura 9) ocorre a reação por aeração com borbulhamento e coleta de espuma. Os biorreatores BR-301 a 305 operam com agitação constante e o ar transportado pelos compressores é purificado em um filtro de ar. Os biorreatores operam em paralelo para entrega contínua para processamento. Parte do nível do biorreator é separado para o desenvolvimento de espuma que ocorre quando a surfactina começa a ser secretada. A espuma é coletada na linha de exaustão e colapsada por agitação continuamente durante toda a reação nos vasos V-301 a 305. O foamato (espuma coletada e colapsada) é bombeado para um vaso de acúmulo V-306 para garantia do processo contínuo e é clarificado no filtro F-306 para a remoção da biomassa.

Na área 300 B (Figura 9) ocorre a produção com aeração não dispersiva. Os biorreatores BR-301a304 operam com circulação contínua do meio pela bomba P-301 através dos módulos de fibra oca com membrana de 0,22 μm e aeração pelo lado do casco, com ar fornecido pelos compressores e purificado em um filtro de ar. Os biorreatores operam em paralelo para entrega contínua para processamento. Após o término do ciclo, o meio é bombeado para um vaso de acúmulo V-301 para garantia do processo contínuo e é clarificado no filtro F-309 para a remoção da biomassa.

Nas áreas 400 A/B (Figura 10) ocorrem as purificações, que são precedidas, em todos os cenários, pela etapa de isolamento via precipitação ácida. A acidificação ocorre no vaso agitado V-401 por meio da adição de ácido clorídrico (HCl) até a formação de precipitado que é retido no filtro F-401 com membrana de 2,5 μm , e posteriormente eluído com hidróxido de sódio (NaOH).

Na área 400 A (Figura 10) a surfactina isolada segue a purificação por extração com solvente que ocorre no vaso V-402, então evaporado no trocador HE-401 e separado no vaso de separação líquido-vapor V-403. A corrente de fundo líquida contendo surfactina segue para a secagem no secador D-401 e a corrente de topo com diclorometano é condensada no trocador HE-402 e retornado ao processo.

Na área 400 B (Figura 10) a surfactina isolada segue para a purificação por ultrafiltração. No vaso V-402 o fluido é diafiltrado 4 vezes com água esterilizada passando pelo filtro F-402 e recirculando para o mesmo vaso; no filtro há entrada de soda (NaOH) para realização de limpeza e manutenção de rotina. Após a diafiltração, que ocorre no mesmo módulo da ultrafiltração, a surfactina é eluída do filtro com metanol para o vaso de acúmulo V-403; o solvente é então evaporado no trocador HE-401 e separado no vaso de separação líquido-vapor

V-404. A surfactina segue para a secagem no secador D-401 e o metanol é condensado no trocador HE-402 e retornado ao processo. O resumo da montagem dos cenários de todos os processos, de acordo com os PFDs por área é explicitado na Tabela 9.

Tabela 9: Resumo dos PFDs dos cenários

Cenário 1	Área 100	Área 200	Área 300A	Área 400A	Borbulhamento + Extração
Cenário 2	Área 100	Área 200	Área 300A	Área 400B	Borbulhamento + UF
Cenário 3	Área 100	Área 200	Área 300B	Área 400A	Contactoras + Extração
Cenário 4	Área 100	Área 200	Área 300B	Área 400B	Contactoras + UF

4.1 Simulações

A fim de obter o dimensionamento e o consumo de utilidades para realizar a análise de viabilidade econômica, foram desenvolvidas as simulações dos 4 cenários base (5 t/ano e 18 mg.L⁻¹.h⁻¹) no SPD baseada nos fluxogramas construídos nas

Figura 8 a Figura 10. Os fluxogramas de processos dessas simulações foram incluídos no tópico 7.2.

O dimensionamento dos equipamentos é um dos motivos centrais para a realização da simulação. A dimensão de todos os equipamentos é usada para calcular o custo de cada equipamento e posteriormente o custo total de investimento do projeto, conforme descrito no tópico 3.2.1.

Além disso, a simulação também tem como objetivo acessar três outras informações para ser calculado o custo da manufatura da surfactina, conforme item 3.2.5: o custo de utilidades, matérias-primas e mão-de-obra. Do SPD são obtidos diretamente o consumo de utilidades, o consumo de matérias-primas, e o número de equipamentos, que pode ser convertido em custo de mão de obra conforme metodologia do item 3.2.3.

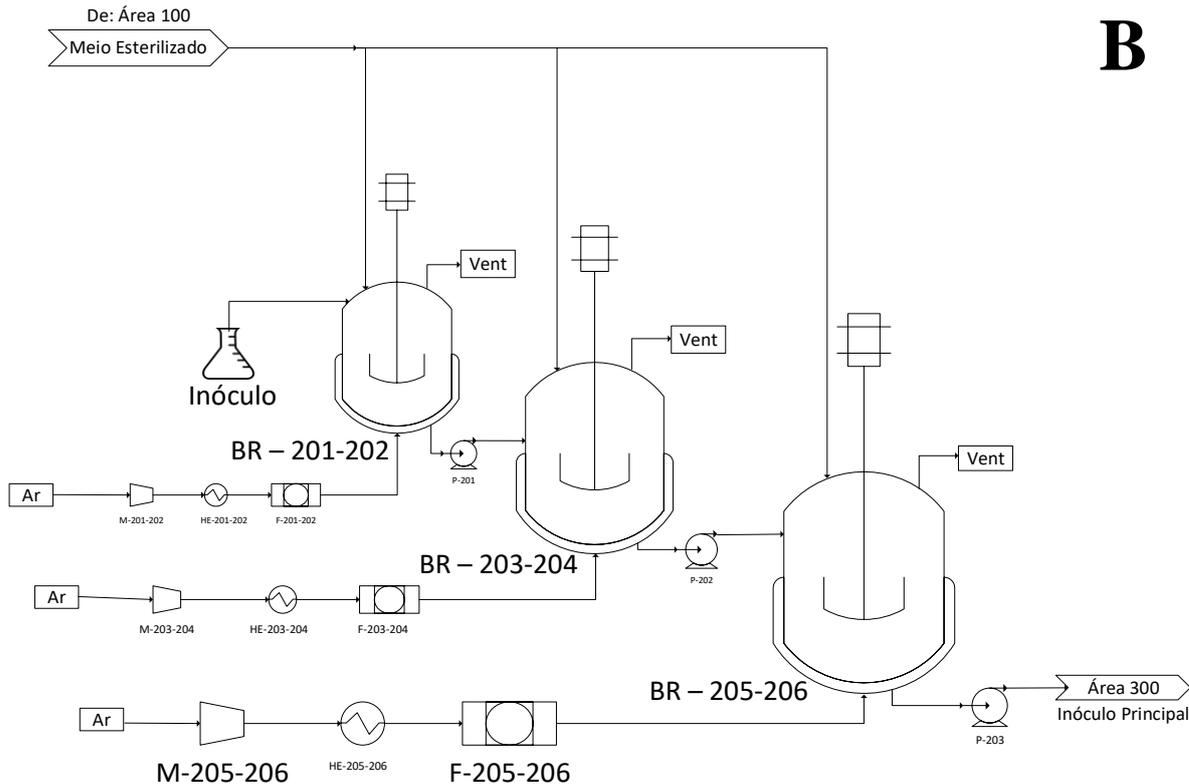
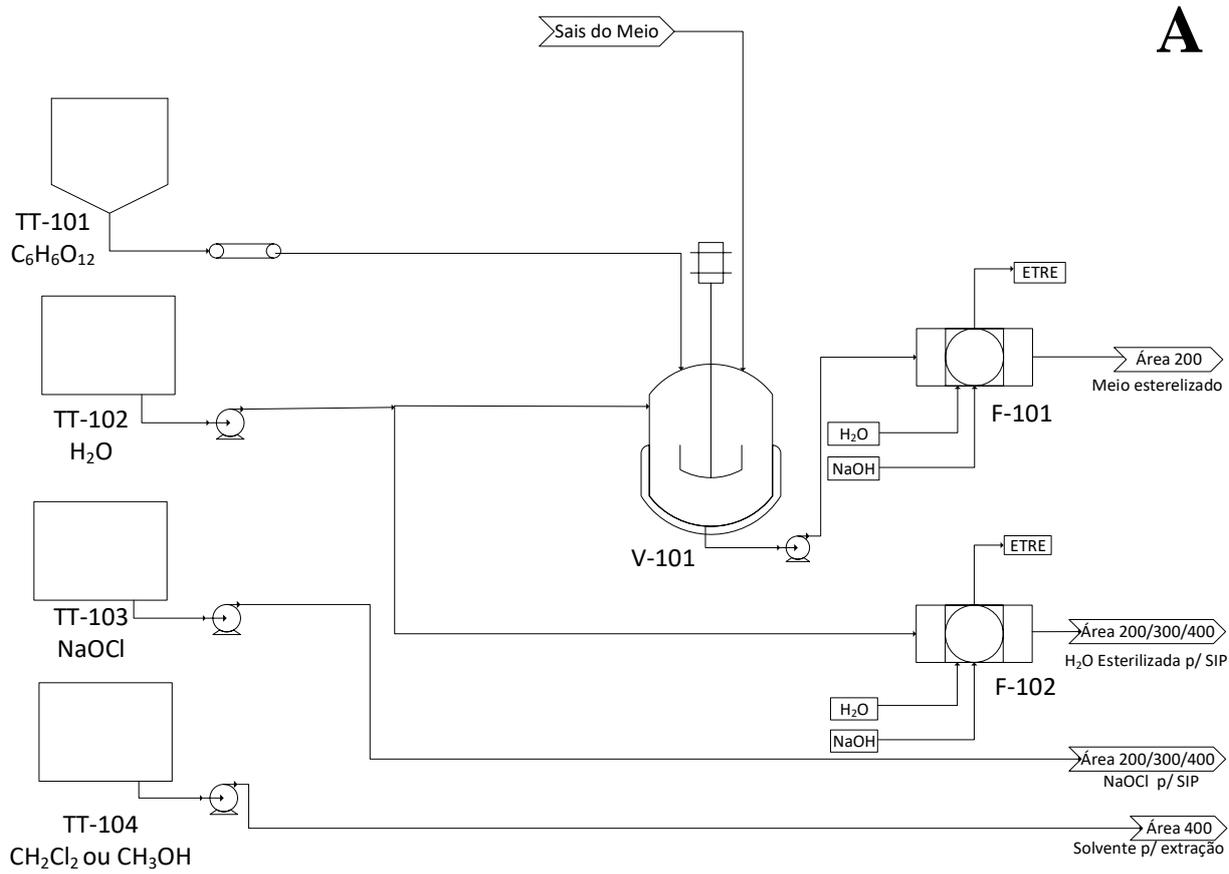


Figura 8: Fluxogramas de processos: áreas 100 (A) e 200 (B)

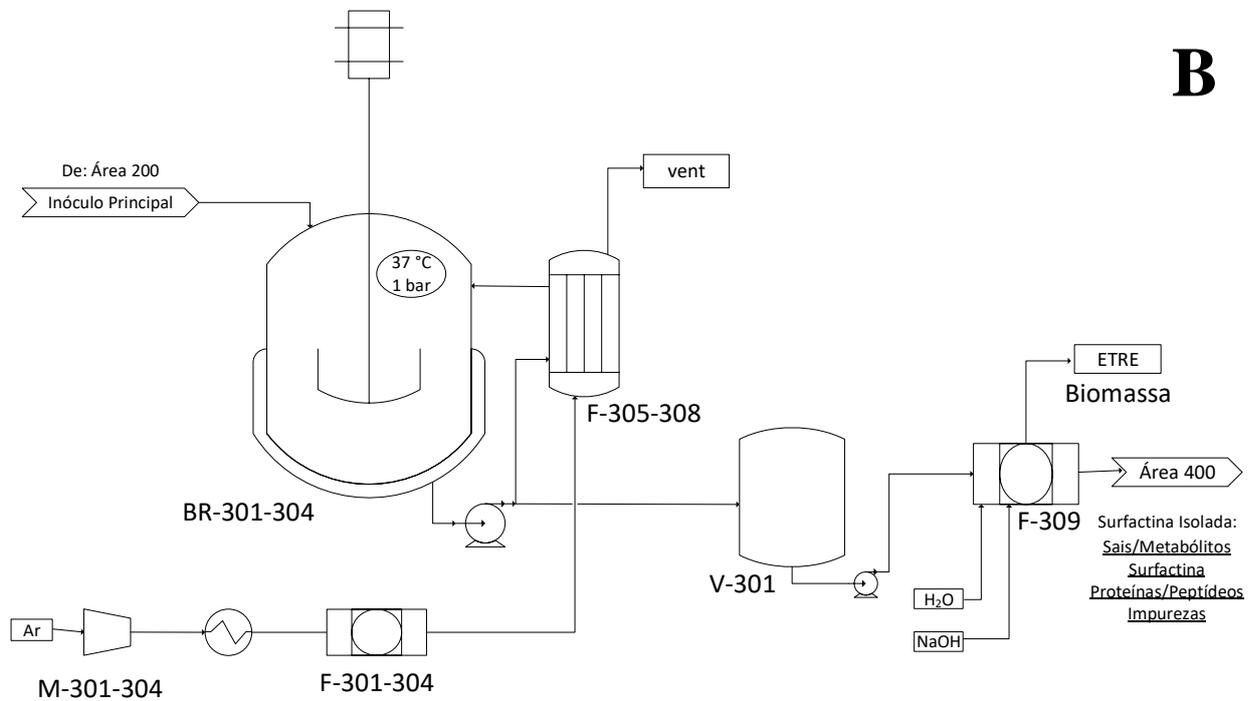
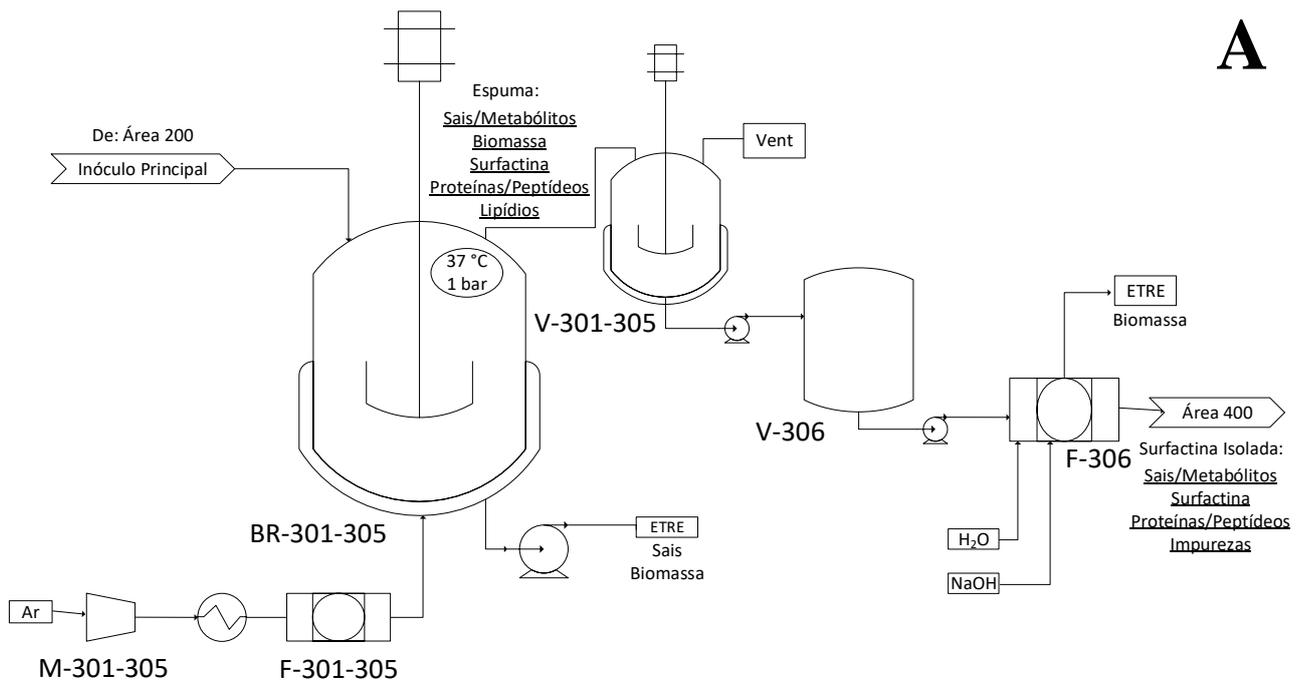


Figura 9: Fluxogramas de processos: área 300 - cenários 1 e 2 (A), 3 e 4 (B)

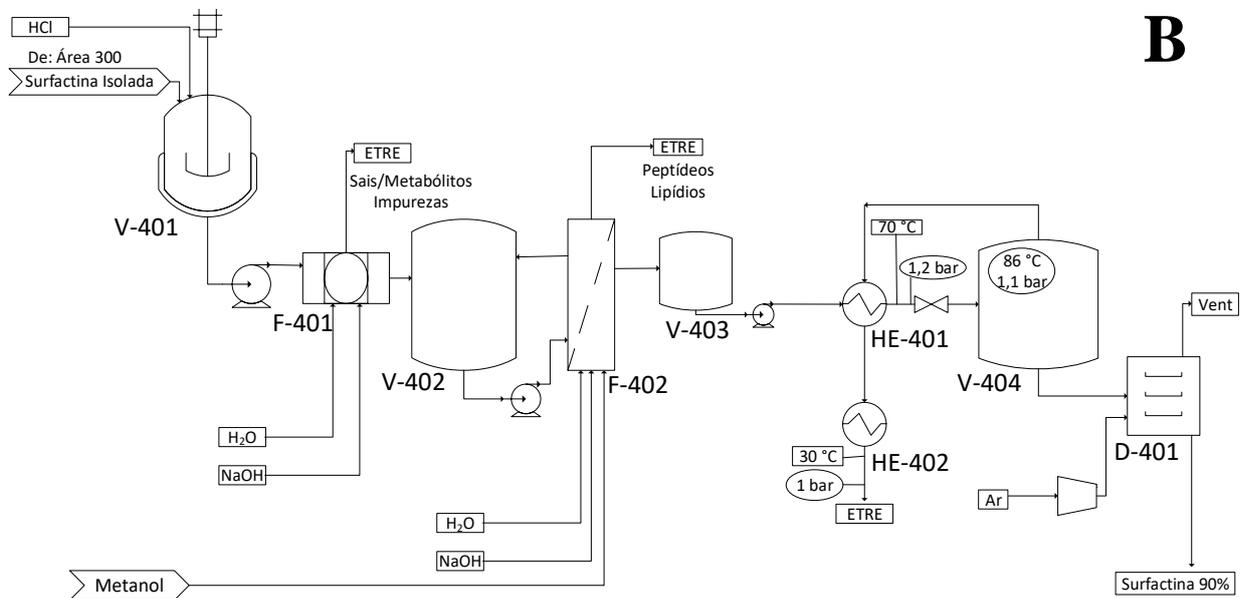
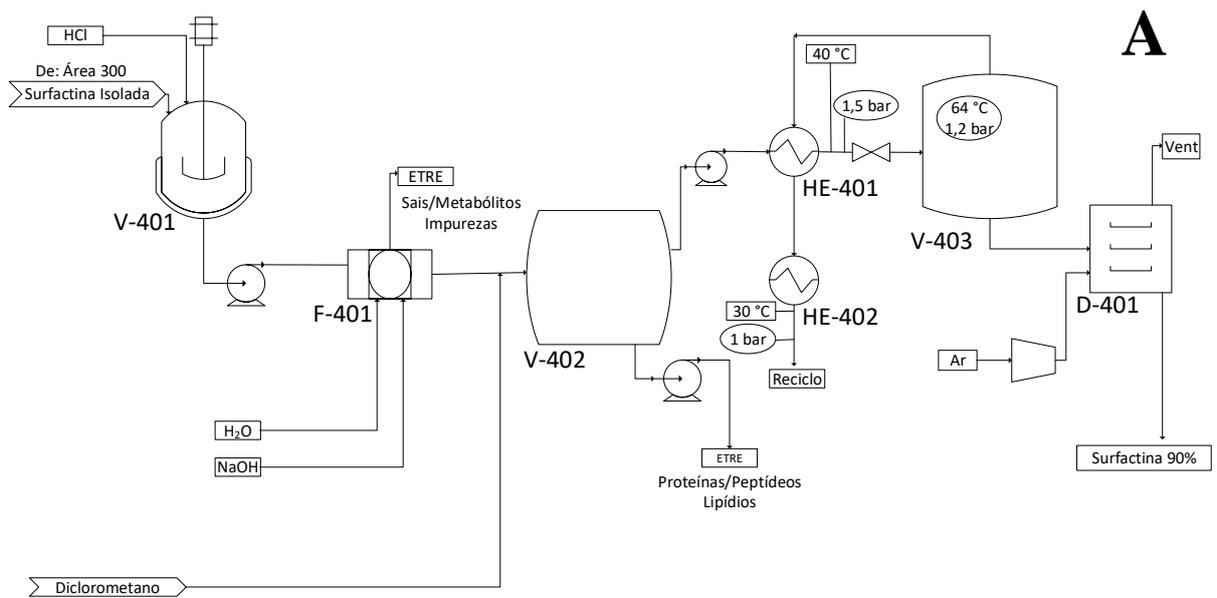


Figura 10: Fluxogramas de processos: área 400 - cenários 1 e 3 (A), 2 e 4 (B)

O número de equipamentos também depende da simulação porque o *Scheduling*, conforme descrito no item 7.1.9 é feito simultânea mente às simulações, e somente então o número requerido de biorreatores em paralelo é obtido.

Para a produção clássica via borbulhamento, os equipamentos dos cenários 1 (purificação por extração com solvente) e cenário 2 (purificação por ultrafiltração) são apresentadas nas Tabela 10 e Tabela 12 respectivamente. Apenas os equipamentos na área de purificação é que sofreram algum tipo de alteração. Como as recuperações de surfactina por UF ou por extração são próximas, as diferenças entre esses cenários são sutis. Em termos práticos enquanto o cenário 1 precisa de 1 vaso grande de aproximadamente 10.000 gal (V-402) onde ocorre a separação de fases, no cenário 2 é preciso de 2 vasos de cerca de 100 gal (V-402 e V-403) além dos módulos de cerca de 30 m² para realizar a UF/DF.

Também entre os cenários 1 e 2, as principais diferenças entre os *outputs* para o custo de manufatura são observadas nas Tabela 11 e Tabela 13; no cenário 2 o uso de solvente é cerca de 13 vezes menor, porém o consumo de água, soda, e hipoclorito são respectivamente 7%, 30% e 5% maiores.

A comparação entre os cenários 1 e 3 pode ser útil já que para o processo de purificação clássico (extração-líquido-líquido) são realizados os diferentes processos de produção: borbulhamento (cenário 1) e aeração por contactoras (cenário 3). Os equipamentos dimensionados são apresentados nas Tabela 10 e Tabela 14, respectivamente. O consumo de utilidades, e matérias-primas são reunidos nas Tabela 11 e Tabela 15.

A aeração por contactoras requer 4 biorreatores de cerca de 8.000 gal enquanto no cenário com borbulhamento são requeridos 5. Esse fato decorre de que nos processos com desenvolvimento de espuma a fração de ocupação do biorreator é menor, para que a haja determinada altura para o desenvolvimento da espuma. Esse pode ser um fator importante, pois os biorreatores podem corresponder a uma significativa parcela de até 70% dos custos fixos, principalmente para produtos em baixa pureza, ou com alto rendimento de produção (KOUTINAS et al., 2014). Além disso, no processo com aeração se prescinde dos vasos para coleta de espuma.

Por outro lado, o processo com contactores requer um adicional de 4 filtros, com cerca de 15 mil m² totais para a aeração do processo. Apenas com essa operação unitária, um consumo

Tabela 10 : Dimensão dos equipamentos para o cenário 1 caso base no SPD

Equipamento	Descrição	X
Tanque	TT 102 - Aço Carbono - gal	28.166
Tanque	TT 103 - Aço Carbono - gal	25.611
Tanque	TT 104 - Aço Inox SS 304 - gal	37.638
Vaso	V 101 - Aço Carbono - L/D=3 - gal	462
Vaso	V 101 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	3,7
Filtro	F 101 - Módulo para MF de tratamento de água - m ²	6,7
Filtro	F 102 - Módulo para MF de tratamento de água - m ²	73
Biorreator	BR 203-204 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	6,0
Biorreator	BR 205-206 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	60
Biorreator	BR 207-208 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	538
Biorreator	BR 207-208 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	5,5
Compressor	M 205-206- Aço carbono - pressão de saída = 25psig - SCFM	24
Biorreator	BR 301-305 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	7.699
Biorreator	BR 301-305 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	47
Compressor	M 301-305- Aço carbono e acessórios - pressão de saída = 40 psig - SCFM	252
Vaso	V 301-305 - Aço Inox SS 306	1.228
Vaso	V 306 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	1,34
Vaso	V 306 - Aço Inox SS 306 - gal	81,86
Filtro	F 301-305 - Filtro de Ar - SCFM	252
Filtro	F 309 - Módulo de Microfiltração - m ²	5,3
Vaso	V 401 - Aço Inox SS 306 - gal	75
Vaso	V 402 - Aço Inox SS 306 - gal	9.563
Vaso	V 403 - Aço Inox SS 306 - gal	399
Trocador de Calor	HE 401- Trocador de Calor casco e tubos -Aço Inox SS 306 - m ²	1,15
Trocador de Calor	HE 402- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	4,96
Secador	D 401 - Secador com Bandejas de aço inoxidável - m ²	15,5
Filtro	F 401 - Filtro cartucho de aço inoxidável - m ²	0,6

X= volume para Tanques, vasos e biorreatores; potência para impelidores; área para filtros, trocadores de calor e secador; vazão volumétrica de ar para compressores e filtros

anual adicional de 3 mil m² de membrana, mais 60% de eletricidade requeridas com o bombeamento para circulação do meio foral calculados.

Além disso, o processo com aeração por membranas exige ainda que a surfactina seja recuperada por retrolavagem das contactoras. Esse procedimento acaba por deixar a corrente de processo após o biorreator mais diluída e, por consequência, vários são os impactos nas

Tabela 11 : Consumo de utilidades, matérias-primas, e número total de equipamentos para cenário 1 caso base no SPD

<u>Utilidade</u>	<u>Consumo anual</u>	<u>Matéria Prima</u>	<u>Consumo anual (t/ano)</u>	<u>Equipamento</u>	<u>Total</u>
Água de Processo (t/ano)	381.022	NaH ₂ PO ₄	55	Vaso	10
Energia Elétrica (kWh/y)	2.312.801	K ₂ HPO ₄	60	Biorreatores Inóculo	6
Vapor de Baixa pressão (t/ano)	1.884	MgSO ₄	1,1	Biorreator Principal	5
Água de resfriamento (t/ano)	480.129	CaCl ₂	0,009	Compressor Inóculo	2
Membrana MF 0,45 µm F-101 (m ² /y)	1,34	FeSO ₄	0,007	Compressor Principal	5
Membrana MF 0,45 µm F-102 (m ² /y)	14,56	MnCl ₂	0,001	Filtro	4
Membrana MF 0,22 µm F-306 (m ² /y)	1,06	NH ₄ NO ₃	61	Tanques/Silos	3
Filtro Cartucho 0,22 µm F-401 (m ² /y)	0,1	C ₆ H ₁₂ O ₆	468	Secagem	1
		HCl 1M	14		
		CH ₂ Cl ₂	589		
		NaOH 0,1M	25.939		
		NaOCl 100 ppm	385.091		

etapas subsequentes. O filtro para remoção de biomassa é cerca de 8 vezes maior (40 m²), e o filtro F-401 para remoção após precipitação ácida é cerca de 10 vezes maior (7,3 m²). Ainda, como a corrente após a precipitação é cerca de 2 vezes maior, o vaso V-402 (onde ocorre a extração), o consumo de solvente, o trocador de calor para recuperação do solvente, e o consumo de vapor, também duplicaram.

Por fim, devido ao grande número de equipamentos que precisaram ser maiores no cenário 3 comparado ao cenário 1, incluindo ainda o uso com água para retrolavagem e para limpeza das membranas contactoras, o consumo de água de processo aumentou cerca de 12 vezes, e o tanque de água TT-102 também aumentou nessa mesma proporção.

Tabela 12 : Dimensão dos equipamentos para o cenário 2 caso base no SPD

Equipamento	Descrição	X
Tanque	TT 102 - Aço Carbono - gal	28.166
Tanque	TT 104 - Aço Inox SS 304 - gal	25.611
Vaso	V 101 - Aço Carbono - L/D=3 - gal	37.638
Vaso	V 101 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	462
Filtro	F 101 - Módulo para MF de tratamento de água - m ²	3,7
Filtro	F 102 - Módulo para MF de tratamento de água - m ²	10
Biorreator	BR 203-204 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	304
Biorreator	BR 205-206 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	5,9
Biorreator	BR 207-208 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	61
Biorreator	BR 207-208 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	601
Compressor	M 205-206- Aço carbono - pressão de saída = 30psig - SCFM	5,5
Biorreator	BR 301-305 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	7.219
Biorreator	BR 301-305 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	33
Compressor	M 301-305- Aço carbono e acessórios - pressão de saída = 40 psig - SCFM	1.258
Vaso	V 301-305 - Aço Inox SS 306	911
Vaso	V 306 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	1,3
Vaso	V 306 - Aço Inox SS 306 - gal	78
Filtro	F 301-305 - Filtro de Ar - SCFM	252
Filtro	F 309 - Módulo de Microfiltração - m ²	5,5
Vaso	V 401 - Aço Inox SS 306 - gal	77
Vaso	V 402 - Aço Inox SS 306 - gal	123
Vaso	V 403 - Aço Inox SS 306 - gal	38
Vaso	V 404 - Aço Inox SS 306 - gal	32
Trocador de Calor	HE 401- Trocador de Calor casco e tubos -Aço Inox SS 306 - m ²	0,5
Trocador de Calor	HE 402- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	1,7
Secador	D 401 - Secador com Bandejas de aço inoxidável - m ²	13
Filtro	F 401 - Filtro cartucho de aço inoxidável - m ²	1,7
Filtro	F 402 - Sistema de diafiltração de aço inoxidável SS316 para Ultrafiltração - m ²	29

X = volume para Tanques, vasos e biorreatores; potência para impelidores; área para filtros, trocadores de calor e secador; vazão volumétrica de ar para compressores e filtros

Para avaliar o efeito dos processos de *downstream* na produção com aeração por contactores, foram comparados os equipamentos dimensionados para os cenários 3 e 4 (Tabela 14 e Tabela 16, respectivamente) e consumo de utilidades para os cenários 3 e 4 (Tabela 15 e Tabela 17, respectivamente).

Tabela 13 : Consumo de utilidades, matérias-primas, e número total de equipamentos para cenário 2 caso base no SPD

<u>Utilidade</u>	<u>Consumo anual</u>	<u>Matéria Prima</u>	<u>Consumo anual (t/ano)</u>	<u>Equipamento</u>	<u>Total</u>
Água de Processo (t/ano)	456.987	NaH ₂ PO ₄	55	Vaso	11
Energia Elétrica (kWh/y)	1.781.487	K ₂ HPO ₄	60	Biorreatores Inóculo	6
Vapor de Baixa pressão (t/ano)	5.831	MgSO ₄	1,1	Biorreator Principal	5
Água de resfriamento (t/ano)	389.459	CaCl ₂	0,009	Compressor Inóculo	2
Membrana MF 0,45 µm F-101 (m ² /y)	1,2	FeSO ₄	0,007	Compressor Principal	5
Membrana MF 0,45 µm F-102 (m ² /y)	35,3	MnCl ₂	0,001	Filtro	5
Membrana MF 0,22 µm F-306 (m ² /y)	2,7	NH ₄ NO ₃	61	Tanques/Silos	3
Filtro RC 10 kDa F-402 (m ² /y)	14,4	C ₆ H ₁₂ O ₆	468	Secagem	1
Filtro Cartucho 0,22 µm F-401 (m ² /y)	0,85	HCl 1M	11		
		CH ₂ Cl ₂	33		
		NaOH 0,1M	33.948		
		NaOCl 100 ppm	405.088		

No cenário 3, dos vasos da área 400 destaca-se o vaso V-402 para extração de surfactina de 22.267 gal. No processo com UF/DF o maior vaso é onde ocorre a DF que tem 867 gal. Além disso, o trocador de calor para recuperação de solvente é cerca de 5 vezes menor para o cenário 4. De fato, o consumo de solvente no cenário 3 é cerca de 1.441 t/ano de diclorometano, frente a 66 t/ano de metanol no cenário 4.

Por outro lado, o processo do cenário 4 requer um sistema de UF/DF de 60 m², e ainda resulta em um gasto com água de processo cerca de 44% maior no cenário 4 frente ao cenário 3.

Tabela 14 : Dimensão dos equipamentos para o cenário 3 caso base no SPD

Equipamento	Descrição	X
Tanque	TT 102 - Aço Carbono - gal	43.251
Tanque	TT 104 - Aço Inox SS 304 - gal	18.236
Vaso	V 101 - Aço Carbono - L/D=3 - gal	41.398
Vaso	V 101 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	462
Filtro	F 101 - Módulo para MF de tratamento de água - m ²	3,7
Filtro	F 102 - Módulo para MF de tratamento de água - m ²	12
Biorreator	BR 203-204 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	87
Biorreator	BR 205-206 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	6.0
Biorreator	BR 207-208 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	60
Biorreator	BR 207-208 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	538
Compressor	M 205-206- Aço carbono - pressão de saída = 25psig - SCFM	5,5
Biorreator	BR 301-304 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes	18
Bomba	P 301-304 - Bomba de circulação de aço inoxidável TDH=245 ft - ppm - SS316	7.373
Compressor	M 301-304- Compressor de aço carbono - pressão de saída = 20 psig - SCFM	1.8
Vaso	V 301 - Aço Inox SS 306 - gal	472
Filtro	F 301-304 - Filtro de Ar - SCFM	562
Filtro	F 305-308 - Módulo de Fibra oca para contactoras - m ²	472
Filtro	F 309 - Módulo de Microfiltração - m ²	15.389
Vaso	V 401 - Aço Inox SS 306 - gal	40
Vaso	V 402 - Aço Inox SS 306 - gal	452
Vaso	V 403 - Aço Inox SS 306 - gal	22.267
Trocador de Calor	HE 401- Trocador de Calor casco e tubos -Aço Inox SS 306 - m ²	198
Trocador de Calor	HE 402- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	1,8
Secador	D 401 - Secador com Bandejas de aço inoxidável - m ²	9,1
Filtro	F 401 - Filtro cartucho de aço inoxidável - m ²	8,4

X= volume para Tanques, vasos e biorreatores; potência para impelidores; área para filtros, trocadores de calor e secador; vazão volumétrica de ar para compressores e filtros

Quando comparado o processo do cenário 4 (borbulhamento e UF) com o do cenário 2 (contactoras e UF) nota-se que a área de UF foi dobrada, assim como ocorre do cenário 1 (borbulhamento e extração) para o 3 (contactoras e extração) em que ao usar o processo com contactoras as etapas de extração com solvente no *downstream* também são duplicadas.

Tabela 15 : Consumo de utilidades, matérias-primas, e número total de equipamentos para cenário 3 caso base no SPD

<u>Utilidade</u>	<u>Consumo anual</u>	<u>Matéria Prima</u>	<u>Consumo anual (t/ano)</u>	<u>Equipamento</u>	<u>Total</u>
Água de Processo (t/ano)	1.121.921	NaH ₂ PO ₄	55	Vaso	6
Energia Elétrica (kWh/y)	3.079.359	K ₂ HPO ₄	60	Biorreatores Inóculo	6
Vapor de Baixa pressão (t/ano)	4111	MgSO ₄	1,1	Biorreator Principal	4
Água de resfriamento (t/ano)	358.738	CaCl ₂	0,009	Compressor Inóculo	2
Membrana MF 0,45 µm F-101 (m ² /y)	1.4	FeSO ₄	0,007	Compressor Principal	4
Membrana MF 0,45 µm F-102 (m ² /y)	17	MnCl ₂	0,001	Filtro	9
Membrana MF 0,22 µm F-305-8 (m ² /y)	3.078	NH ₄ NO ₃	61	Tanques/Silos	3
Filtro Cartucho 0,22 µm F-401 (m ² /y)	6,4	C ₆ H ₁₂ O ₆	468	Secagem	1
		HCl 1M	1088		
		CH ₂ Cl ₂	1441		
		NaOH 0,1M	952.916		
		NaOCl 100 ppm	274.193		

O mesmo ocorre na etapa de clarificação, em que nos cenários 3 e 4 (aeração por contactoras) o módulo requerido de microfiltração tem cerca de 40 m², e para os cenários 1 e 2 (aeração com borbulhamento) cerca de 8 m².

Tais observações corroboram o efeito negativo no *downstream* ao se adotar a aeração por contactoras; o módulo de clarificação deve ser 5 vezes maior, e a etapa de purificação, seja ela extração com solvente, ou ultrafiltração, deve ser 2 vezes maior.

Tabela 16 : Dimensão dos equipamentos para o cenário 4 caso base no SPD

Equipamento	Descrição	X
Tanque	TT 102 - Aço Carbono - gal	10.796
Tanque	TT 104 - Aço Inox SS 304 - gal	16.252
Vaso	V 101 - Aço Carbono - L/D=3 - gal	1.882
Vaso	V 101 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	462
Filtro	F 101 - Módulo para MF de meio - m ²	3,7
Filtro	F 102 - Módulo para MF de tratamento de água - m ²	12
Biorreator	BR 203-204 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	63
Biorreator	BR 205-206 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	6,0
Biorreator	BR 207-208 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	60
Biorreator	BR 207-208 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	615
Compressor	M 205-206- Aço carbono - pressão de saída = 25psig - SCFM	4,2
Biorreator	BR 301-304 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes	24
Bomba	P 301-304 - Bomba de circulação de aço inoxidável TDH=245 ft - gpm - SS316	7.373
Compressor	M 301-304- Compressor de aço carbono - pressão de saída = 20 psig - SCFM	1,8
Vaso	V 301 - Aço Inox SS 306 - gal	472
Filtro	F 301-305 - Filtro de Ar - SCFM	531
Filtro	F 305-308 - Módulo de Fibra oca para contactoras - m ²	472
Filtro	F 309 - Módulo de Microfiltração - m ²	15.389
Vaso	V 401 - Aço Inox SS 306 - gal	38
Vaso	V 402 - Aço Inox SS 306 - gal	558
Vaso	V 403 - Aço Inox SS 306 - gal	867
Vaso	V 404 - Aço Inox SS 306 - gal	71
Trocador de Calor	HE 401- Trocador de Calor casco e tubos -Aço Inox SS 306 - m ²	189
Trocador de Calor	HE 402- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	0,7
Secador	D 401 - Secador com Bandejas de aço inoxidável - m ²	1,6
Filtro	F 401 - Filtro cartucho de aço inoxidável - m ²	6,9
Filtro	F 402 - Sistema de diafiltração de aço inoxidável SS316 para Ultrafiltração - m ²	7,8

X= volume para Tanques, vasos e biorreatores; potência para impelidores; área para filtros, trocadores de calor e secador; vazão volumétrica de ar para compressores e filtros

Tabela 17: Consumo de utilidades, matérias-primas, e número total de equipamentos para cenário 4 caso base no SPD

<u>Utilidade</u>	<u>Consumo anual</u>	<u>Matéria Prima</u>	<u>Consumo anual (t/ano)</u>	<u>Equipamento</u>	<u>Total</u>
Água de Processo (t/ano)	162.321	<u>NaH2PO4</u>	60	Vaso	6
Energia Elétrica (kWh/y)	3.081.398	<u>K2HPO4</u>	1	Biorreatores Inóculo	4
Vapor de Baixa pressão (t/ano)	1339	<u>MgSO4</u>	0,0	Biorreator Principal	6
Água de resfriamento (t/ano)	378.690	<u>CaCl2</u>	0,007	Compressor Inóculo	4
Membrana MF 0,45 µm F-101 (m²/y)	2,5	<u>FeSO4</u>	0,001	Compressor Principal	9
Membrana MF 0,45 µm F-102 (m²/y)	13	<u>MnCl2</u>	61	Filtro	3
Membrana MF 0,22 µm F-306 (m²/y)	3078	<u>NH4NO3</u>	468	Tanques/Silos	1
Filtro RC 10 kDa F-402 (m²/y)	7,5	<u>C6H12O6</u>	1379	Secagem	6
Filtro Cartucho 0,22 µm F-401 (m²/y)	1,6	<u>HCl 1M</u>	3539		
		<u>CH3OH</u>	66		
		<u>NaOH 0,1M</u>	244.357		
		<u>NaOCl 100 ppm</u>	405.088		

4.1 Análise técnico-econômica

A listagem de equipamentos resultou nos custos CAPEX e se encontra detalhada no anexo 7.3. A viabilidade técnico econômica foi realizada em planilha de Microsoft Excel acompanhando os seguintes parâmetros MSP, PBT, PBDT, TIR e VPL (Tabela 18), cujos valores detalhados para o OPEX e para o EVTE encontram-se detalhados nos anexos 7.4 e 7.5 respectivamente. Dentre esses parâmetros se destacam a TIR (PETRIDES, 2015) e o VPL (CINELLI, 2017)(KOUTINAS et al., 2016) (PETRIDES, 2015).

Tabela 18: Parâmetros econômicos dos cenários base (5 t/ano a 18 mg.L⁻¹.h⁻¹)

	Cenário 1	Cenário 2	Cenário 3	Cenário 4
FCI Área 100 (MUS\$)	1,5	1,5	1,4	2,1
FCI Área 200 (MUS\$)	1,2	1,2	1,2	1,2
FCI Área 300 (MUS\$)	5,2	5,6	5,0	4,9
FCI Área 400 (MUS\$)	1,3	0,8	1,4	1,0
CAPEX (MUS\$)	9,3	9,1	9,0	9,2
Matéria-Prima (MUS\$/y)	1,7	1,3	4,1	2,4
Utilidades (MUS\$/y)	0,10	0,15	0,43	0,43
Mão-de-obra (MUS\$/y)	1,20	1,28	1,16	1,28
OPEX (MUS\$/y)	6,66	6,42	9,92	8,16
Manufatura (US\$/kg)	1.331	1.285	1.983	1.632
MSP (US\$/kg)	1.957	2.034	2.576	2.337
PBT (anos)	2 4	2 5	3 2	2 7
PBDT (anos)	3 0	3 1	4 6	3 0
TIR	45%	43%	31%	50%
VPL (MUS\$)	15,2	14,2	7,1	10,8

A Figura 11 é apresentada para ilustração de como os parâmetros econômicos foram obtidos, utilizando como exemplo o cenário 1. No gráfico, o fluxo de caixa e o valor presente líquido são reportados ano a ano. O VPL consiste, portanto, no valor presente líquido ao final do projeto, no décimo ano; valores positivos indicam um processo viável economicamente. O FCC é o fluxo de caixa ao final do projeto, no décimo ano; valores positivos indicam um processo lucrativo. O MSP foi obtido por iteração no Microsoft Excel, sendo esse o valor mínimo preço de venda necessário para garantir um VPL positivo ao final do projeto. O PBT foi obtido graficamente por interpolação linear da curva do FCC no ponto de interseção com o eixo das abcissas; O PBDT foi obtido da mesma maneira que o PBT, usando a curva do VPL. A TIR foi obtida por iteração no Microsoft Excel, sendo esse o valor mínimo da taxa de atratividade necessária para garantir um VPL positivo ao final do projeto.

O VPL é um valor que expressa diretamente a viabilidade ao final do projeto (em valor presente), e baseado nesse valor os 4 cenários foram comparados na Figura 12, resultando em um destaque do cenário 1 como o mais promissor nas condições base. Haja visto que este é o processo clássico, com coleta de espuma e extração com solvente, não surpreende o fato de esse até hoje ser o mais estudado e o artigo de Cooper *et al.*, 1981, o mais referenciado.

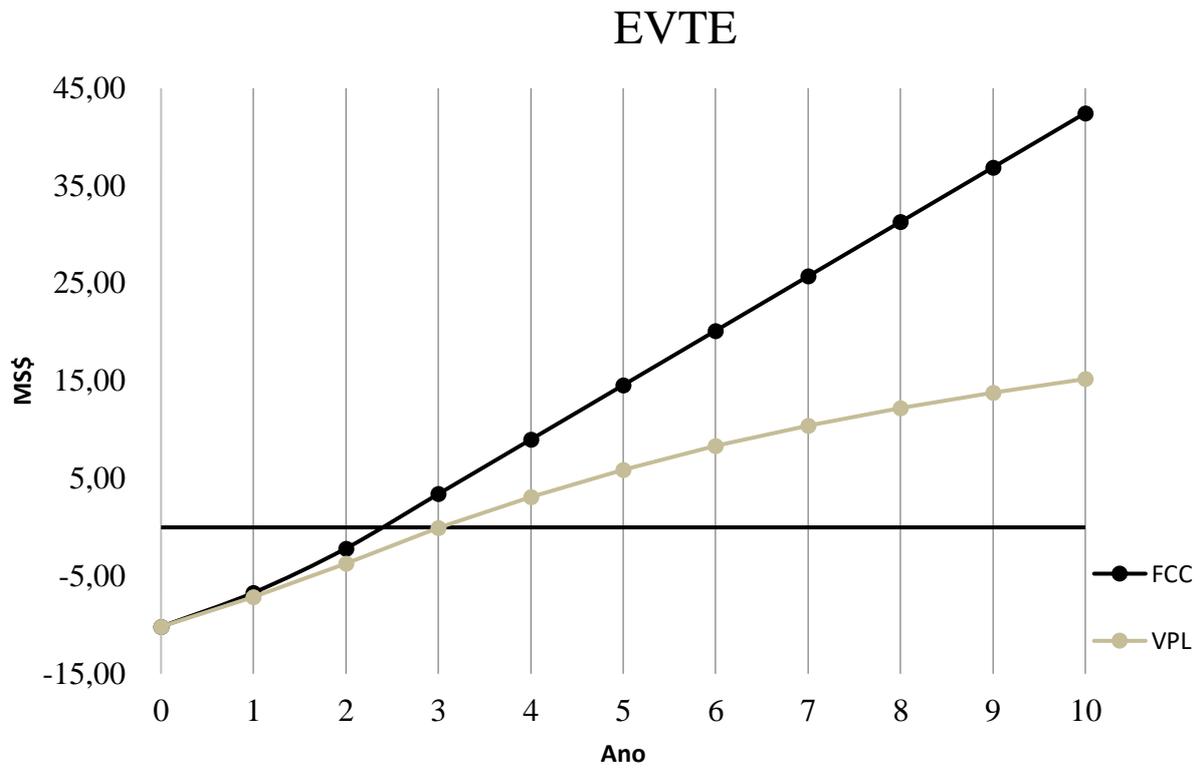


Figura 11: Exemplo de processamento do EVTE – Cenário 1 a 5 t/ano 18 mg.L⁻¹.h⁻¹

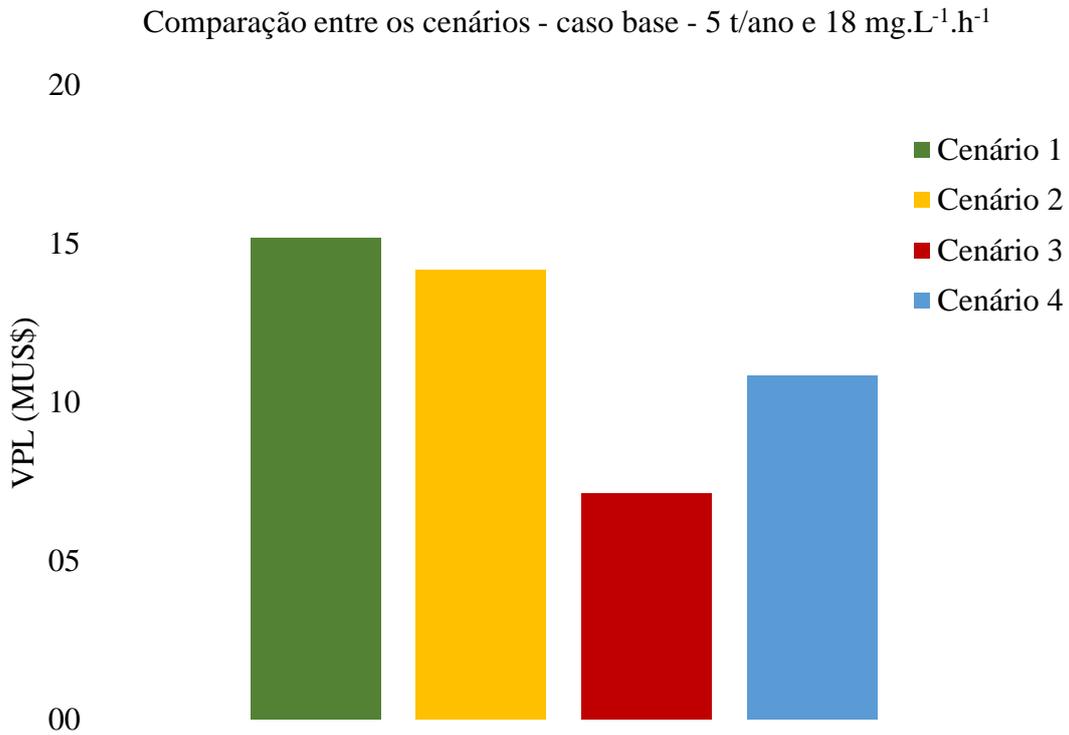


Figura 12: VPL dos 4 cenários base (5 t/ano a 18 mg.L⁻¹.h⁻¹)

O processo com borbulhamento parece ser mais viável com a purificação por extração com solvente (Cenário 1) que por ultrafiltração (Cenário 2). Por outro lado, a aeração por contactoras parece ser mais viável quando associada a purificação por ultrafiltração (Cenário 4) que por extração com solvente (Cenário 3).

O cenário 3, embora tenha requerido o menor investimento inicial dos 4 cenários (8 M US\$), resultou num menor VPL porque a aeração por contactoras requer que a recuperação de surfactina da membrana ocorra por retrolavagem com hidróxido de sódio e isso resulta em uma corrente com alto fluxo volumétrico a ser tratado, conseqüentemente um custo adicional anual de 600 kUS\$ com solvente para extração passa a ser decisivo no alto custo de manufatura. Esse resultado está de acordo com a literatura, haja visto que no processo patenteado por Coutte *et al.*, 2015 com uso de contactores, a purificação foi feita por ultrafiltração.

Embora todos os cenários nas condições base tenha sido economicamente viáveis, ou seja, apresentam VPL positivo ao fim do projeto, sabe-se que produtos em ascensão, mas ainda não estabelecidos no mercado, são sujeitos a uma séria de incertezas. A principal delas é a demanda de mercado do produto, o que definem o tamanho e capacidade da planta; vários são os fatores que tem efeito sobre a demanda: competição entre empresas, planejamento, *marketing*, pesquisa e desenvolvimento, preço e qualidade (COMMUNITIES, 1997).

Dessa forma, se mostrou necessária uma análise preliminar da escala mínima eficiente (MES) dos cenários. Muito embora o estudo de propriedades e aplicações da surfactina esteja muito em foco na literatura (tópico 2.1), não foram encontrados trabalhos que discutissem de forma objetiva a importância da capacidade de produção na viabilidade do processo.

Por isso, além do caso base (5 t/ano) foi selecionado um ponto de mínimo (1 t/ano) e máximo (10 t/ano) da capacidade da planta em cada um dos cenários para investigar o efeito na viabilidade técnico econômica.

Além de investigar a capacidade da planta, a dúvida mais natural que recai sobre as observações da Figura 12 é qual a variabilidade a qual esses resultados estão sujeitos, uma vez que vários dos parâmetros adotados para a simulação do processo são reportados numericamente em valores distintos na literatura e, embora tenha sido tomado o cuidado de selecionar as referências com valores mais recorrentes na literatura, foi estabelecido então a necessidade de realizar uma análise de sensibilidade para o EVTE.

4.2 Análise de sensibilidade

Cada um dos parâmetros na análise de sensibilidade, ao invés de ser tomado como um valor único, na análise de sensibilidade é tomado como uma faixa de valores. Para isso foi definido o conceito de fator multiplicador. Cada um dos parâmetros está sujeito a um fator multiplicador mínimo e máximo, que ao ser aplicado no valor do parâmetro base resulta no valor mínimo e máximo da faixa daquele parâmetro.

A utilização e construção de cepas mutantes para a produção de surfactina é certamente a abordagem mais encontrada na literatura para tornar o produto mais atrativo (ZHAO et al., 2014)(CARRERA; COSMINA; GUIDO, 1993)(Y. TADASHI, Y. KANAGAWA, F. KAZUO, 2006)(MOTTA DOS SANTOS et al., 2016)(COUTTE et al., 2015). O uso de cepas mutantes consiste no uso de organismos geneticamente modificadas de *B. subtilis* que devido a um maior fator de rendimento de substrato em produto apresentam maior produtividade volumétrica e resultam em maiores concentrações de surfactina ao final do processo, conforme explicitado na Equação 9.

$$C_{srf} = q_p \cdot \int X_v \cdot dt = \frac{r_p}{X_v} \cdot \int X_v \cdot dt \quad C_{srf} = \mu_x \cdot \frac{Y_{p/s}}{Y_{x/s}} \cdot \int X_v \cdot dt$$

Equação 9: Balanço material de surfactina

C_{srf} – Concentração de surfactina

r_p – Produtividade volumétrica de surfactina

t – tempo

μ_x – Taxa específica de crescimento celular

q_p – Produtividade volumétrica específica de surfactina

X_v – Concentração de células viáveis

$Y_{p/s}$ – Fator de rendimento de glicose em surfactina

$Y_{x/s}$ – Fator de rendimento de glicose em surfactina

De todos os parâmetros selecionados para avaliar a sensibilidade do processo descritos previamente no tópico 3.2.7, a produtividade volumétrica é a única que interfere de forma global no processo e altera significativamente o dimensionamento de todos os equipamentos (e consequentemente o CAPEX) além do OPEX de toda a planta. Dessa maneira, foi estabelecido um valor de mínimo e máximo para a análise de sensibilidade da produtividade volumétrica em $10 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ e $50 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ respectivamente (Tabela 8).

Devido ao interesse em analisar o processo dos 4 cenários em 3 capacidades de planta diferentes e em 3 produtividades volumétricas, um total de 36 simulações foi estabelecido (Tabela 19)

A influência da produtividade volumétrica sobre o OPEX foi definida como rp_{OPEX} , e a influência da produtividade volumétrica sobre o CAPEX foi definida como rp_{CAPEX} . Assim, para calcular o efeito da produtividade volumétrica, este terá que ser distribuído através do OPEX e CAPEX em 2 fatores multiplicadores. Além desses, vale destacar que somente o FCI apresenta uma faixa de análise diferente para cada um dos cenários e capacidades de produção.

Para cada um dos cenários e suas respectivas capacidades produtivas foram calculados a razão entre os parâmetros normalizados rp_{OPEX} e rp_{CAPEX} mínimo e máximo (Tabela 20). Por exemplo, o fator rp_{OPEX} mínimo corresponde à razão do OPEX quando $rp = 50 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pelo valor do OPEX quando $rp = 18 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$; o valor de rp_{OPEX} máximo corresponde à razão do OPEX quando $rp = 10 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ sobre o valor obtido quando $rp = 18 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$; a mesma lógica é válida para rp_{CAPEX} e para o fator FCI.

Desse modo, será considerado que a maneira sob a qual a produtividade volumétrica afetou CAPEX e OPEX se mantém com a mesma proporção (*i.e.*, mesmo fator multiplicador) dentro de um mesmo cenário e uma mesma capacidade produtiva, negligenciando o efeito dos outros parâmetros sob essa influência. O mesmo raciocínio é aplicado ao fator multiplicador do FCI. Essa consideração parece razoável, já que esses parâmetros são válidos apenas para um determinado cenário e uma capacidade específica, é esperado que o efeito de qualquer um dos outros parâmetros não altere significativamente esse valor. Os outros fatores multiplicadores são demonstrados na Tabela 21. Esses fatores são constantes independentes do cenário e da capacidade produtiva. Por exemplo, UF mínimo corresponde a razão do menor valor de fluxo sobre o valor base, e UF máximo corresponde a razão do maior valor de fluxo sobre o valor base (conforme descrito na Tabela 8).

Tabela 19 : Matriz de simulações

	Cenário 1								
Capacidade de produção (t/ano)	1	1	1	5	5	5	10	10	10
Produtividade volumétrica (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	10	18	50	10	18	50	10	18	50
	Cenário 2								
Capacidade de produção (t/ano)	1	1	1	5	5	5	10	10	10
Produtividade volumétrica (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	10	18	50	10	18	50	10	18	50
	Cenário 3								
Capacidade de produção (t/ano)	1	1	1	5	5	5	10	10	10
Produtividade volumétrica (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	10	18	50	10	18	50	10	18	50
	Cenário 4								
Capacidade de produção (t/ano)	1	1	1	5	5	5	10	10	10
Produtividade volumétrica (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	10	18	50	10	18	50	10	18	50

Tabela 20: Fatores multiplicadores variáveis

Fatores multiplicadores para análise de sensibilidade									
Parâmetro	Capacidade 1 t								
	mínimo				base	máximo			
	cenário				-	cenário			
	1	2	3	4	-	1	2	3	4
FCI	0,71	0,73	0,72	0,68	1	1,29	1,27	1,28	1,32
rp_CAPEX	0,68	0,85	0,55	0,75	1	1,35	1,29	1,32	1,62
rp_OPEX	0,78	0,76	0,74	0,83	1	1,18	1,19	1,13	1,46
Parâmetro	Capacidade 5 t								
	mínimo				base	máximo			
	cenário				-	cenário			
	1	2	3	4	-	1	2	3	4
FCI	0,74	0,73	0,76	0,72	1	1,26	1,27	1,24	1,28
rp_CAPEX	0,47	0,92	0,59	0,59	1	1,21	1,26	1,13	1,36
rp_OPEX	0,50	0,59	0,68	0,63	1	1,30	1,24	1,19	1,23
Parâmetro	Capacidade 10 t								
	mínimo				base	máximo			
	cenário				-	cenário			
	1	2	3	4	-	1	2	3	4
FCI	0,74	0,73	0,74	0,54	1	1,26	1,27	1,25	1,29
rp_CAPEX	0,51	0,64	0,78	0,59	1	1,40	1,47	1,46	1,36
rp_OPEX	0,46	0,67	0,63	0,64	1	1,56	1,51	1,34	1,47

Tabela 21: Fatores multiplicadores constantes

Fatores multiplicadores constantes para análise de sensibilidade			
Parâmetro	Cenários 1,2,3,4		
	mínimo	base	máximo
MF_água	0,35	1	1,39
MF_Meio	0,93	1	3,73
MF_Biomassa	0,2	1	4,71
k_aeração	1	1	3,09
F_ppt_ácida	0,5	1	5
UF	0,85	1	1,85
Troca_membranas	0,4	1	2
Meio	0	1	1
Eletricidade	0,33	1	1,67

Vale ressaltar que embora o fator multiplicador $k_{\text{aeração}}$ seja constante ele pode ter um efeito considerável em 4 dos valores de entrada do EVTE (independente da capacidade) porque representa mais que 60% dos gastos totais com: água de processo, hidróxido de sódio, ácido clorídrico e hipoclorito de sódio. Por isso, para os processos com contactoras foi atribuído um fator multiplicador adicional para cada uma dessas 4 influências. Por fim, cabe mencionar que nenhum dos outros parâmetros contribuía tão significativamente para os consumos de qualquer utilidade ou matéria-prima quanto as membranas contactoras.

Para cada análise de sensibilidade foi selecionado no *Crystal ball* o valor de 100.000 combinações estocásticas dos parâmetros. Dessa maneira os valores dos parâmetros foram multiplicados por um número que estivessem entre o mínimo e máximo de cada um dos fatores multiplicadores. Tal combinação de fatores multiplicadores ocorre de maneira estocástica, e a probabilidade de ocorrer qualquer valor dentro da faixa foi conforme uma distribuição uniforme de probabilidade.

A fim de exemplificar o fundamento da análise, 10 dessas combinações para o cenário 4 e capacidade de 10 t foram reunidos, e o conjunto de dados é apresentado na Tabela 22. Nota-se que duas das combinações resultam em valores de VPL negativos (em vermelho), enquanto

outras 2 apresentam valores próximos a 58 MUS\$ (em verde); 6 dessas 10 combinações resultaram em VPL próximo de 36 MS\$ com combinações completamente distintas.

Os resultados das 100.000 combinações para os 4 cenários em cada uma das 3 capacidades de produção foram agrupados em histogramas com 20 grupos em ordem crescente de VPL (*bins*), igualmente espaçados entre o valor mínimo e máximo de cada análise. A probabilidade consiste, portanto, na quantidade presente em cada bin dividido pelo número total de combinações (*i.e.* 100.000), e os histogramas são apresentados de forma contínua nas Figura 13 a Figura 16 para facilitar a visualização.

Tabela 22: Exemplo de 10 combinações para o cenário 4 e capacidade de 10 t

	Fator multiplicador									
Custo_eletricidade	1,26	1,55	0,99	0,37	1,28	0,59	0,64	1,14	1,16	1,60
Custo_meio	0,32	0,43	0,82	0,79	0,73	0,42	0,65	0,79	0,47	0,74
FCI	1,00	0,90	0,75	1,10	0,62	0,83	0,68	1,23	0,61	0,62
Fluxo_MF_água	1,32	0,85	1,29	0,58	0,55	1,33	0,91	1,12	0,42	0,54
Fluxo_MF_Clarificação	4,64	1,67	0,60	1,28	2,50	1,75	2,66	3,71	3,67	2,13
Fluxo_MF_meio	1,10	1,78	3,72	1,39	1,39	1,07	3,35	3,62	3,02	2,25
Fluxo_ppt_ácida	0,99	2,88	3,30	1,82	3,61	2,15	4,22	0,54	1,63	3,37
Fluxo_UF	1,32	0,97	1,10	1,28	1,69	1,19	0,89	1,50	1,29	1,03
k_Aeração_Contactora	3,07	2,93	2,45	2,03	1,47	1,56	1,36	1,65	1,61	1,09
rp_CAPEX	1,13	1,35	1,15	0,96	0,76	1,16	0,78	0,77	0,60	0,78
rp_OPEX	1,39	1,20	0,75	0,75	1,34	0,96	1,45	0,86	0,72	0,70
Vida_útil_membranas	1,52	1,99	1,53	1,97	0,46	1,43	1,79	0,67	0,77	1,65
	VPL (MUS\$)									
	-11,1	-4,8	36,3	36,3	36,4	36,4	36,6	36,6	57,9	58,6

Nos gráficos de distribuição de probabilidade são representados os valores de VPL no eixo x e a probabilidade de aquele grupo de dados ocorrer no eixo y. Por exemplo, na figura 13 o valor mínimo e máximo do VPL é -38 MUS\$ e 59 MUS\$, respectivamente. Portanto, os resultados de VPL foram agrupados em 20 grupos, de -38 MUS\$ a 59 MUS\$ com incrementos 5,14 MUS\$ por grupo. Sendo assim, do gráfico 13 resulta que o pico de probabilidade é de 13,4%, e ocorre para valores de VPL entre 28,10 e 33,25 MUS\$; isso porque 13.435 das 100.000 (13,4%) combinações resultaram em VPL nessa faixa.

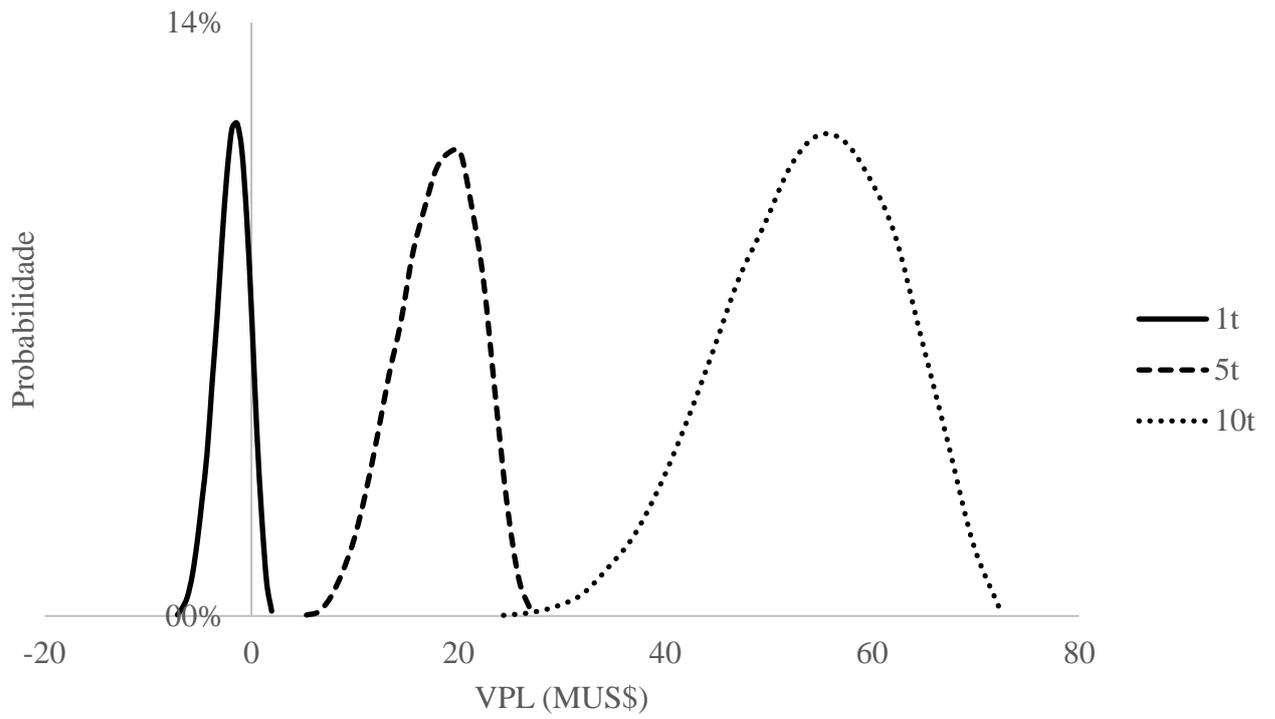


Figura 13: Distribuição de probabilidade do VPL – cenário 1

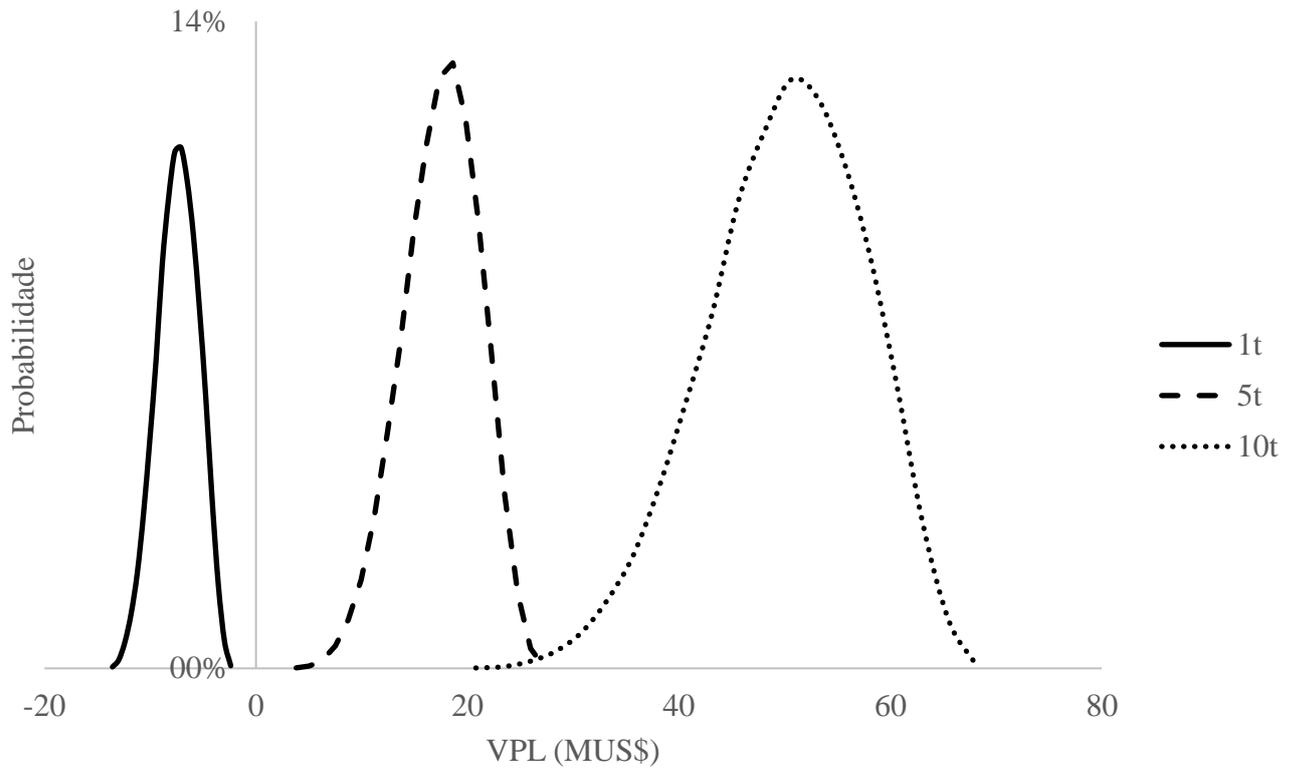


Figura 14 : Distribuição de probabilidade do VPL – cenário 2

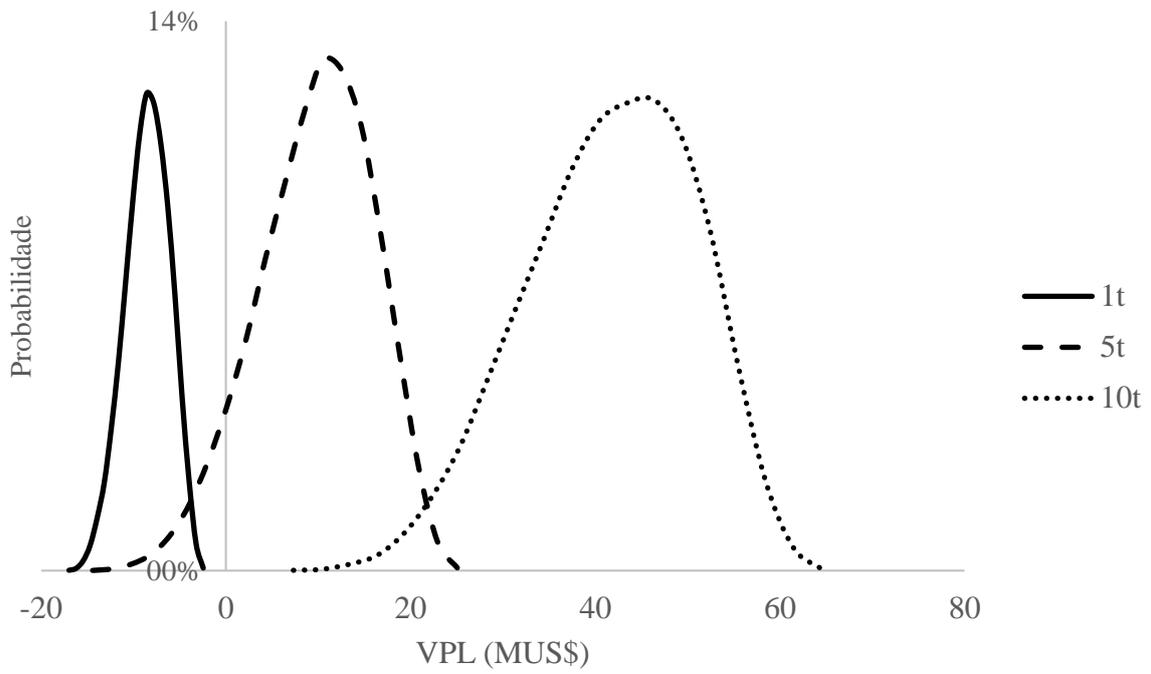


Figura 15 : Distribuição de probabilidade do VPL – cenário 3

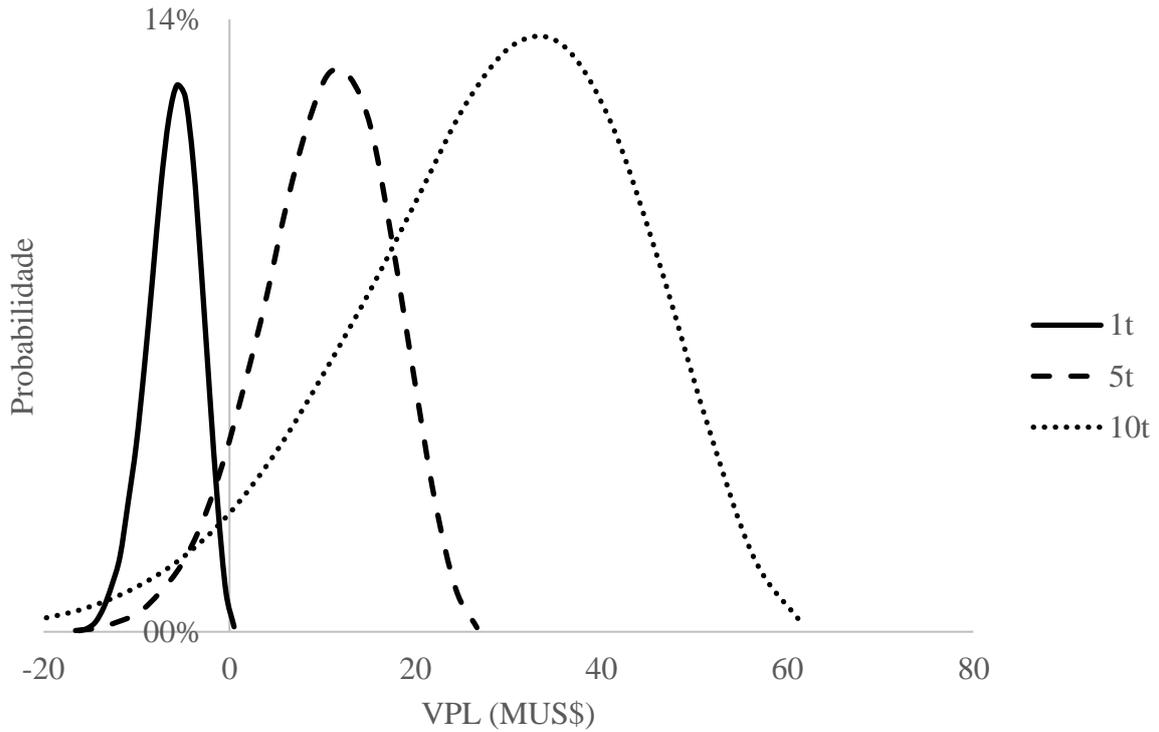


Figura 16 : Distribuição de probabilidade do VPL – cenário 4

Em nossas análises, não há interesse particular no valor da probabilidade em si, afinal ela variaria conforme os dados do histograma fossem agrupados. O foco das discussões decorre da localização do pico de probabilidade, e da variabilidade desses dados, ou seja, a média e o desvio padrão dessas distribuições. Também pode ser discutido a probabilidade de uma determinada faixa de valor de VPL ocorrer.

Das Figura 13 a Figura 16 pode ser constatado que em nenhum dos cenários para capacidade de 1 t/ano há uma probabilidade razoável de o processo ser viável (ou seja VPL positivo), sendo o menos pior o cenário 1. Desse, no *software Crystal ball*, e a partir da distribuição de 1 t/ano para o cenário 1, foi extraído que apenas 11,4% da área do histograma está em uma abrangência de VPL positivo.

Outro fato notável das Figura 13 a Figura 16 é que ao aumentar a capacidade de produção também aumenta a incerteza do VPL ao final do projeto. O fato de que em menores capacidades o CAPEX tem maior contribuição para a viabilidade do que o OPEX é bem razoável, e já foi reportado anteriormente em outro processo (CUESTA et al., 2018). A razão pela qual, a variabilidade é maior em maiores capacidade deve estar relacionada, portanto, a maior contribuição dos custos variáveis na manutenção de processos em maior escala.

Também pode ser observado nas Figura 13 a Figura 16 que a capacidade de 5 t é a primeira a apresentar uma viabilidade do processo, mais especificamente apenas os cenários 1 e 2 (com borbulhamento e coleta de espuma) têm mais de 95% de probabilidade de resultarem em um VPL positivo ao final do processo.

Além disso, o uso de membranas contactoras em capacidade de 5 t ainda é arriscado e em capacidade de 10 t apenas o cenário 3 não apresenta possibilidade de não ser viável (para o cenário 4, 9% da área de distribuição de probabilidade resulta em valores negativos). Isso significa que o processo com contactores de fato poderia ser seguido apenas por purificação via extração com solvente.

Vale ressaltar que os fluxogramas e condições operacionais dos cenários não são otimizados, e talvez a incerteza associada aos processos com membranas do cenário 4 e a não otimização da rota possam justificar os resultados inferiores de viabilidade. Haja visto que os dados de Coutte *et al.*, 2015 sugerem um fluxograma semelhante a este, e o autor é o responsável pela produção da Lipofabrik ©, ressalta-se que, nas condições de operação e faixas dos parâmetros estabelecidas, há menor chance de o processo ser viável.

Por outro lado, a menor viabilidade do cenário 4 pode ser muito mais útil ao trazer para discussão a influência das incertezas operacionais que esse tipo de processo apenas com membrana pode estar intrinsecamente relacionado. Sendo assim, o processo do cenário 4 dependeria de um coeficiente de transferência de massa pouco variável e de praticidades operacionais para ser aplicado.

Os dados das Figura 13 a Figura 16 foram agrupados por capacidade de produção para facilitar algumas das discussões supracitadas, e mostrados nas Figura 17 a Figura 20.

Nas Figura 17 a Figura 20 são representados os valores de cada um dos 20 *bins* para cada uma das distribuições, e uma linha contínua correspondente a um ajuste para a distribuição do histograma foi também traçado. Para todas as distribuições o *software Crystal ball*, obteve o melhor ajuste dos dados utilizando o modelo de distribuição lognormal (Equação 10) resultando em $p < 0,05$ para o teste estatístico de adequação de Kolmogorov-Smirnov. A média e o desvio-padrão resultantes do ajuste foram reportados na Tabela 23, e a média foi plotada na Figura 21 para facilitar a interpretação das discussões seguintes.

$$f(x, \mu, \sigma) = \frac{1}{x * \sigma * \sqrt{2 * \pi}} * e^{\left(\frac{-\ln(x) - \mu}{2 * \sigma^2}\right)}$$

Equação 10: Distribuição lognormal

$f(x, \mu, \sigma)$ – função de densidade de probabilidade

x – Variável aleatória (neste trabalho o VPL)

μ – Média do VPL na distribuição

σ – Desvio padrão do VPL na distribuição

Na Figura 17 um resumo das distribuições de todos os cenários e capacidades são apresentadas na mesma escala, a fim de facilitar a visualização do o aumento da variabilidade com o aumento das capacidades, assim como a melhor viabilidade econômica dos cenários a partir da capacidade de 5 t/ano.

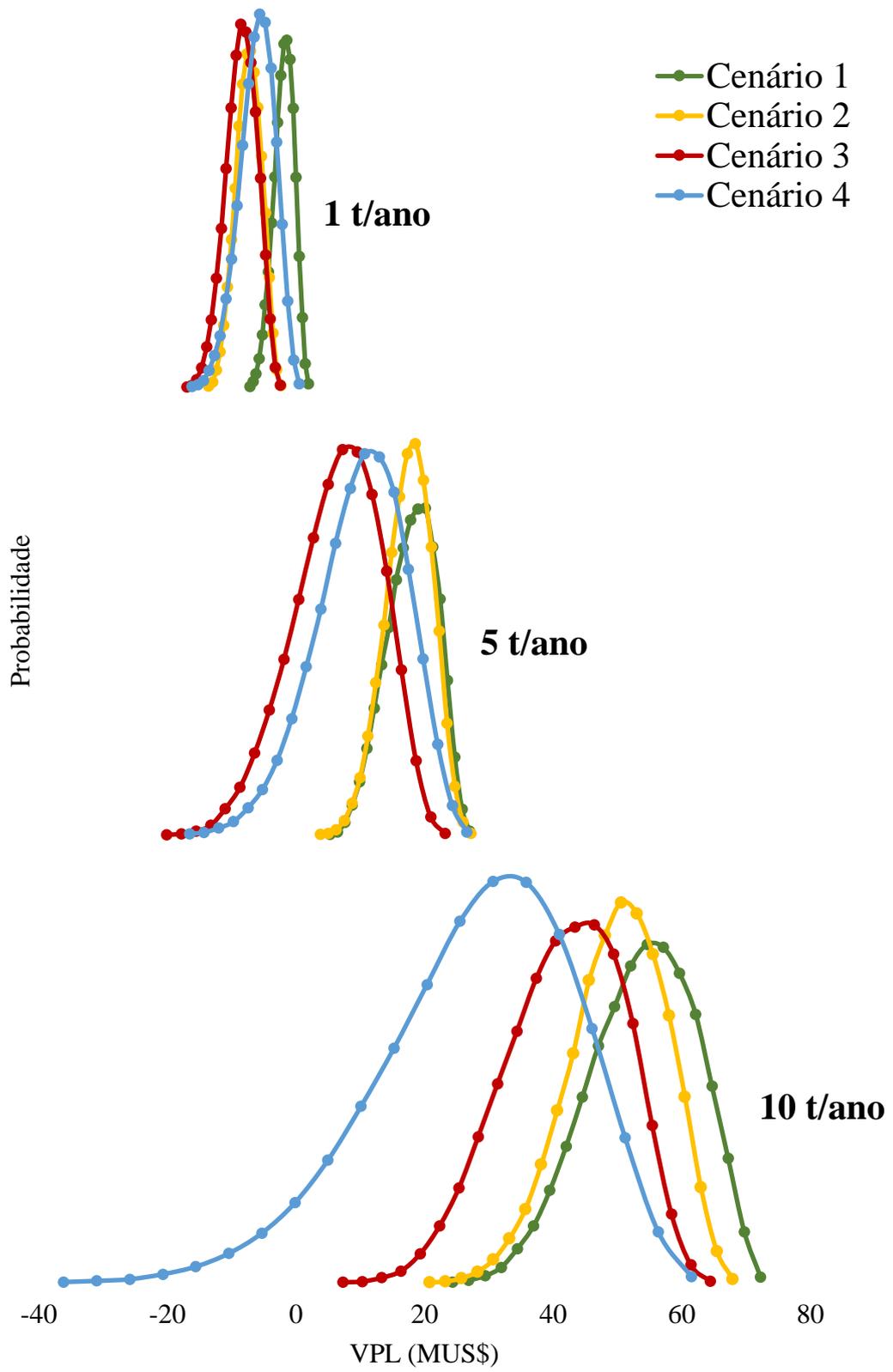


Figura 17: Resumo das distribuições de VPL

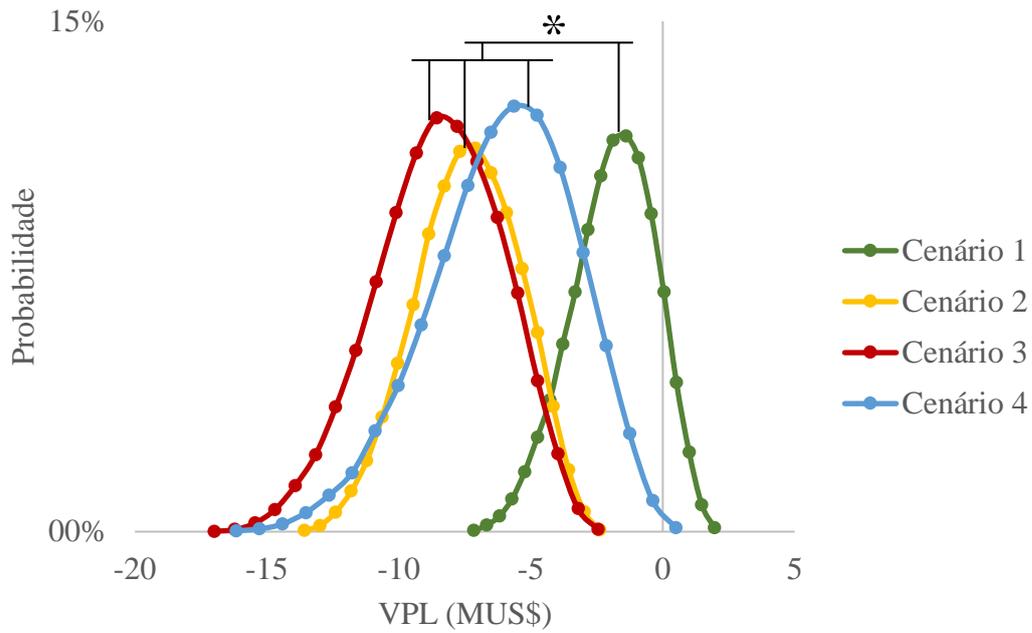


Figura 18 : Distribuição de probabilidade do VPL – 1 t/ano ; * = $p < 0,05$

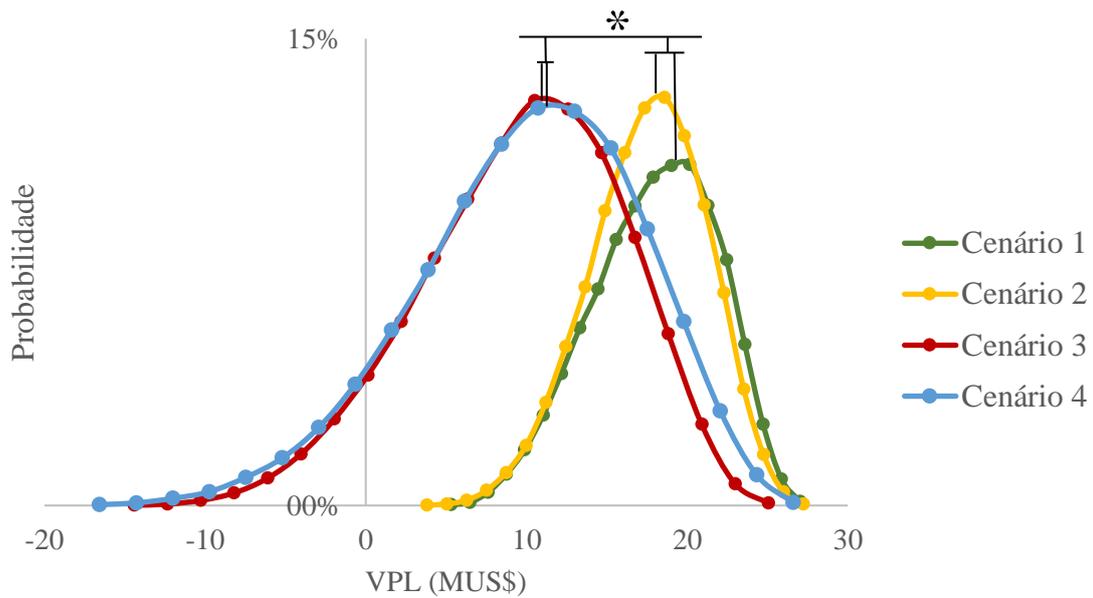


Figura 19 : Distribuição de probabilidade do VPL – 5 t/ano ; * = $p < 0,05$

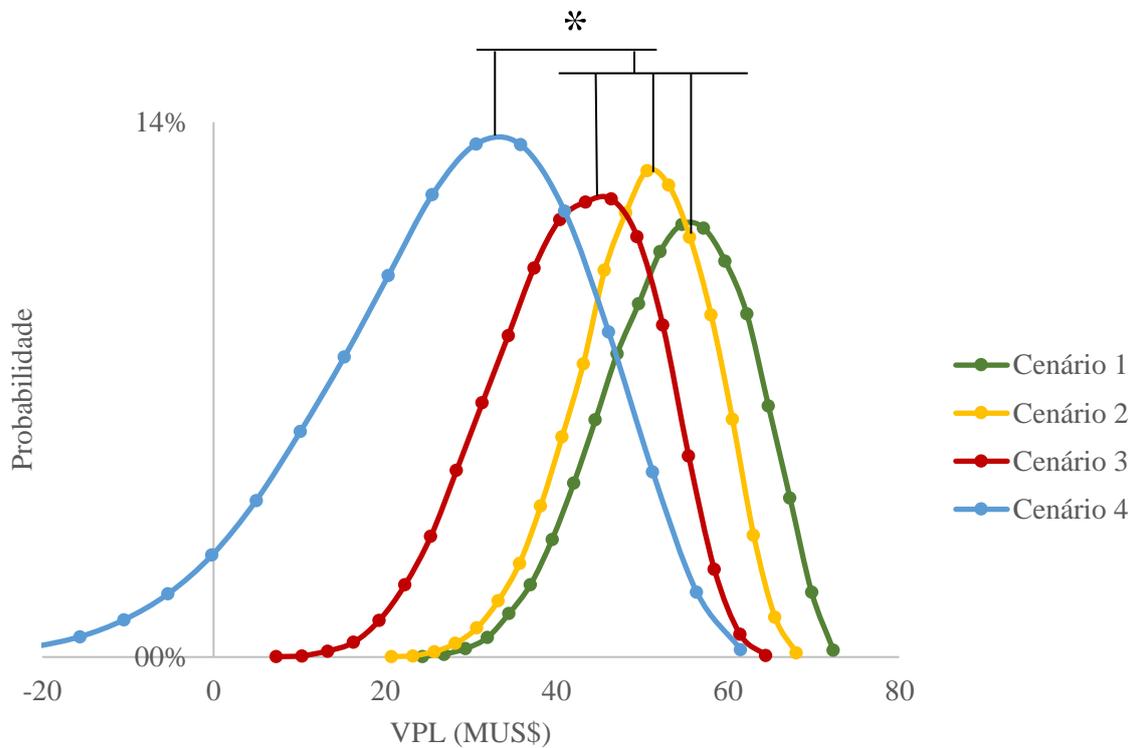


Figura 20 : Distribuição de probabilidade do VPL – 10 t/ano ; * = $p < 0,05$

Tabela 23: Parâmetros de ajustes das distribuições lognormal

Cenário 1			
Capacidade (t/ano)	1	5	10
μ – Média do VPL (MUS\$)	-1,9	18,3	53,8
σ – Desvio padrão do VPL (MUS\$)	1,6	3,7	8,4
Cenário 2			
Capacidade (t/ano)	1	5	10
μ – Média do VPL (MUS\$)	-7,4	17,2	50,0
σ – Desvio padrão do VPL (MUS\$)	2,0	3,7	7,5
Cenário 3			
Capacidade (t/ano)	1	5	10
μ – Média do VPL (MUS\$)	-8,5	10,6	41,6
σ – Desvio padrão do VPL (MUS\$)	2,4	5,2	9,3
Cenário 4			
Capacidade (t/ano)	1	5	10
μ – Média do VPL (MUS\$)	-6,2	9,8	28,1
σ – Desvio padrão do VPL (MUS\$)	2,8	6,9	14,9

Além do ajuste ao modelo de distribuição, nas Figura 18 a Figura 20, foi realizado um teste estatístico do tipo *t-student* entre cada um dos conjuntos de dados para testar a hipótese de que determinados pares de média de VPL fossem diferentes, dentro do intervalo de confiança.

A distribuição lognormal é baseada no fato de que o logarítmo da variável aleatória segue uma distribuição normal, portanto o teste foi realizado sobre os valores do logaritmo natural do VPL.

Ainda, para realizar o teste *t-student* entre duas amostras foi preciso realizar previamente um teste de Fischer para avaliar se as variâncias eram homocedásticas ou heterocedáticas, e essa informação era utilizada no teste t. As distribuições foram setadas como bicaudais e foram definidos um p valor de probabilidade máximo de 0,05 para todos os testes. Ambos os testes foram realizados em Microsoft Excel.

Na Figura 18 o cenário 1 obteve um VPL significativamente maior que dos outros cenários, porém abrangência de probabilidade de cerca de 9% para valores positivos. Na Figura 19 os cenários 1 e 2 resultaram em médias de VPL significativamente maiores que os cenários 3 e 4, e com toda abrangência da distribuição em valores positivos. Na Figura 20 o cenário 4 apresentou média de VPL significativamente menor que dos outros 3 cenários.

Na Figura 18 além do fato de que nenhum dos cenários parece ser viável nessa capacidade (1 t/ano), a observação que o segundo maior valor de VPL foi do cenário 4 (Figura 21) é interessante e pode estar associado as já caracterizadas vantagens econômicas em processos de membranas que são escalonados linearmente, pois ocorrem pela adição ou subtração de módulos.

Nas Figura 18 a Figura 20, é interessante que a o cenário 4 vai se tornando menos viável em comparação aos outros à medida que a capacidade aumenta. Esse fato também está correlacionado com o aumento da variabilidade dos dados de viabilidade do cenário 4 à medida que a capacidade cresce. Uma hipótese é que o *scale up* para o processo com membranas é mais oneroso que os outros porque o custo com os módulos aumenta de forma linear, e ainda passa a ser um processo mais variável ao recair sobre as condições de operação das membranas.

O processo do cenário 3, embora seja pouco atrativo a 5 t/ano, passa a ser competitivo frente aos cenários com borbulhamento na capacidade de 10 t/ano. Além disso, pode-se especular que a maior variabilidade do cenário 4 está associado a combinação das contactoras com sequencial purificação por ultrafiltração. Isso porque o cenário 3 em 10 t/ano apresenta

resultados comparáveis aos processos com espuma, possivelmente porque após aeração com contactoras ocorre a purificação por extração com solvente. Tal observação é mais notória nas linhas de valor médio das distribuições de probabilidade, na Figura 21.

Sobre as comparações entre os cenários, cabe ainda a ressalva de que os cenários não foram otimizados. A comparação de viabilidades deve ser feita com parcimônia, para que se evite descartar um cenário potencialmente mais viável. Por exemplo, na Figura 19 os cenários 1 e 2 são significativamente mais prováveis de serem mais viáveis que os cenários 3 e 4; deve-se, porém levar em conta que dados de operação pós-scale up e otimização operacional para os cenários 3 e 4, em estágio de maior detalhamento do processo, poderiam resultar em melhores viabilidades.

Pode-se considerar que o valor de capacidade onde cada uma das curvas cruza o eixo x na Figura 21, corresponde à mínima escala eficiente do processo, que garante uma capacidade produtiva suficiente para que a maior probabilidade seja de que o processo apresente viabilidade. Esses valores foram obtidos por interpolação linear e foram encontrados os seguintes resultados: 2,2 t/ano (cenário 1); 3,1 t/ano (cenário 2); 4,0 t/ano (cenário 3); 4,5 t/ano (cenário 4).

O fato de que em maiores capacidades o VPL é maior é lógico, porém o mecanismo pelo qual a viabilidade foi alterada pode ser crítico. A Figura 22 representa o índice de lucratividade para todos os cenários e capacidades. Este índice consiste na razão do valor presente líquido ao final do projeto pelo investimento inicial, e define, portanto, uma forma de normalização do lucro do projeto pelo gasto inicial.

Nota-se que embora o cenário 1 resulte em maiores VPLs em todas as capacidades de produção (Figura 21), à medida que a capacidade aumenta o processo do cenário 1 também exige um maior incremento do investimento inicial que os outros cenários, o que resulta em menores índices de lucratividade (Figura 22).

Tal fato pode ser crucial, principalmente para um produto que ainda não possui mercado estabelecido. Explicitando e exemplificando o resultado de índice de lucratividade, é possível que um investidor prefira valores de 8,3 MUS\$ de CAPEX resultando em VPL de 46 MUS\$ (cenário 3 10 t/ano 18 mg.L⁻¹.h⁻¹) a valores de 11,6 MUS\$ de CAPEX resultando em VPL de 55 MUS\$ (cenário 1 10 t/ano 18 mg.L⁻¹.h⁻¹). Em números relativos, isso significa que embora a 10 t/ano o cenário 1 resulte em um VPL maior, o cenário 3 apresenta um VPL apenas 13%

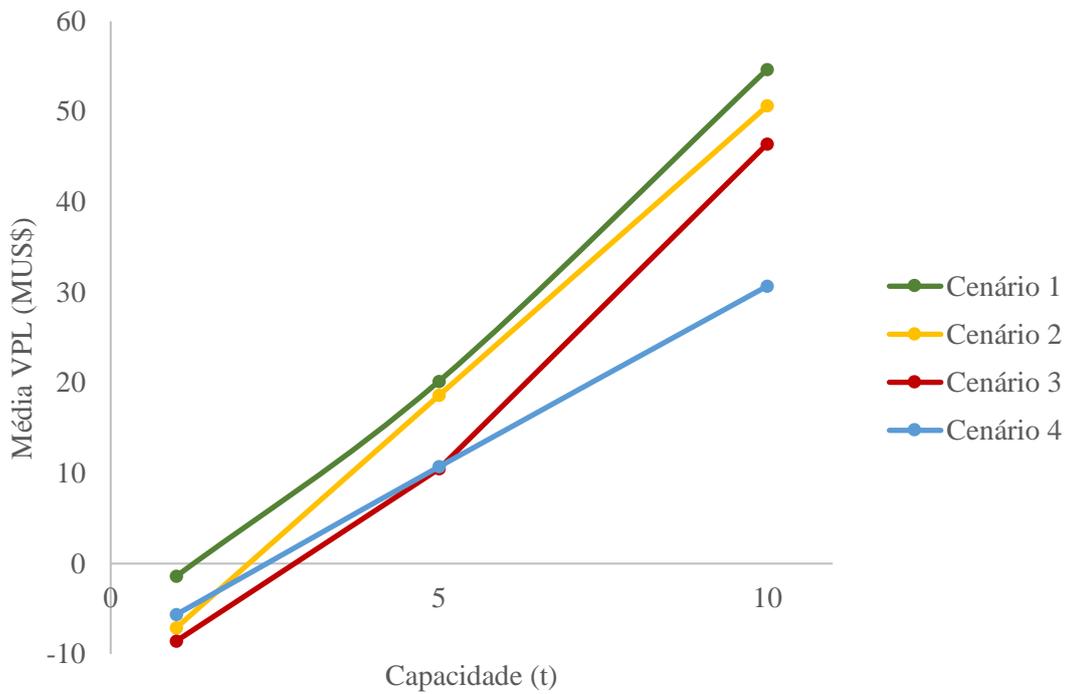


Figura 21: Variação da média do VPL com a capacidade da planta

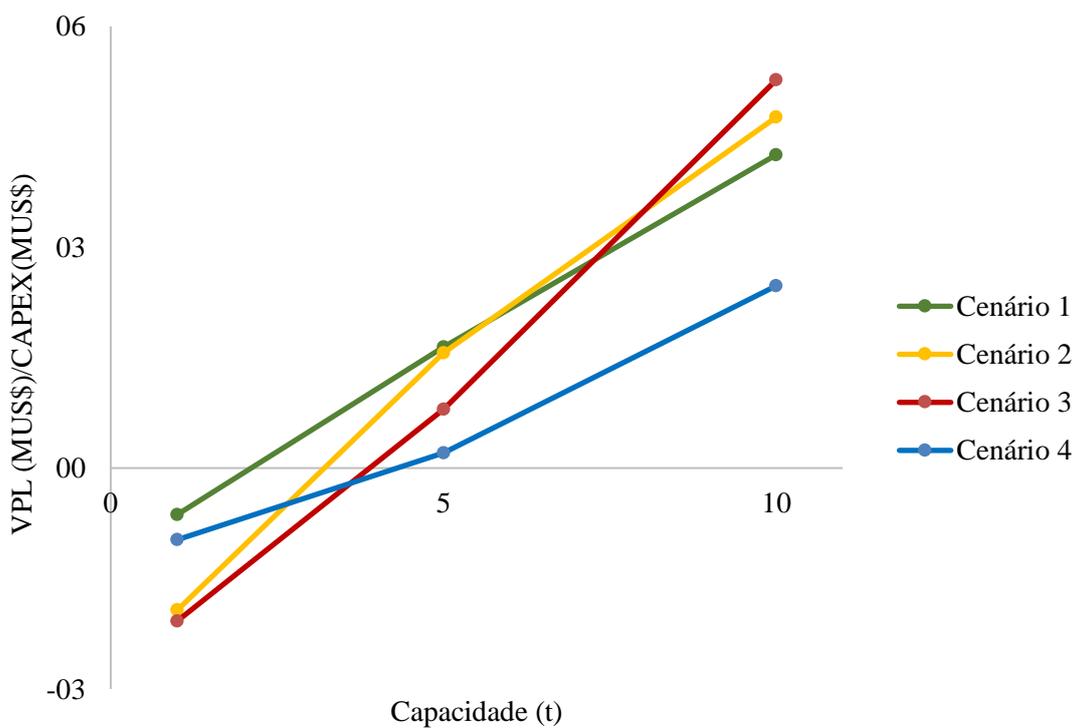


Figura 22: Índice de lucratividade para $r_p=18 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$

menor e uma redução no investimento de 39%, e, portanto, pode ser atrativo para um investimento de risco.

De maneira análoga, na Figura 21 o cenário 1 resulta em um maior VPL a 5 t/ano. Porém, quando comparado ao cenário 2 a 5 t/ano ele resulta em um VPL 10% maior, mas demanda em um investimento fixo também 9% maior. Nesse caso, então, ambos os cenários 1 e 2 são alternativas promissoras de serem adotados para processos na capacidade de 5 t, que garante a mínima escala eficiente em todos os cenários.

A análise de sensibilidade clássica é tipicamente realizada na forma de *spider charts*. Nesses gráficos cada um dos parâmetros é oscilado dentro de uma mesma margem estabelecida e sua influência na variável mensurada é calculada de forma discreta e individualizada, ou seja, um parâmetro variado por vez. Essa abordagem têm uma série de incertezas, é altamente dependente da escolha de um bom caso base e é incapaz de observar a interdependência entre as variáveis, isto é, não varia todos os parâmetros ao mesmo tempo (ORACLE®, 2019).

A metodologia empregada neste trabalho para desenvolvimento do EVTE envolve a construção dos gráficos de distribuição de probabilidade, e considera a interdependência entre os parâmetros. Como decorrência da metodologia a variabilidade da dispersão de probabilidade é acessada e a influência de cada variável sobre a dispersão é resultante de uma amostragem de algumas dessas variáveis através dos conjuntos de dados simulados e resulta, em última instância, em um percentual de como cada parâmetro responde pela variabilidade dos dados (ORACLE®, 2019). Esses resultados estão dispostos nas Figura 23 a Figura 25.

Algumas considerações gerais ficam claras de imediato. A influência da produtividade volumétrica na variabilidade dos dados fica em torno de 60-80%, independente do cenário ou capacidade (para efeitos práticos a influência da produtividade volumétrica teve que ser realizada computando separadamente a modulação que ela causava tanto no OPEX quanto no CAPEX, conforme tópico 3.2.7.

A observação supracitada vai de encontro aos vários estudos na literatura para otimização de cepas e ao fato de que foi considerado uma amplitude do parâmetro de 5 vezes (de 10 a 50 mg.L⁻¹.h⁻¹). Tal fator valida os estudos sobre produtividade volumétrica, porém cabe destacar que a importância desse fator não parece ser tão crucial quanto a da capacidade da planta. Por exemplo, nas condições consideradas, em nenhum dos cenários há mais de 95% de

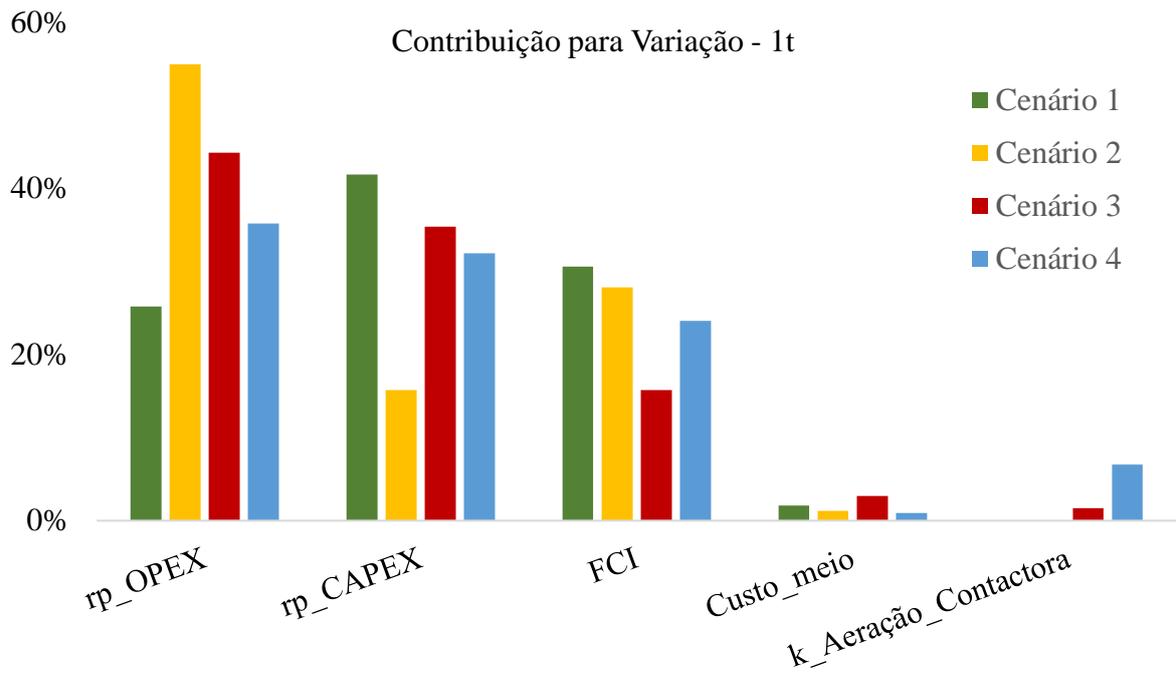


Figura 23: Análise de sensibilidade – 1 t

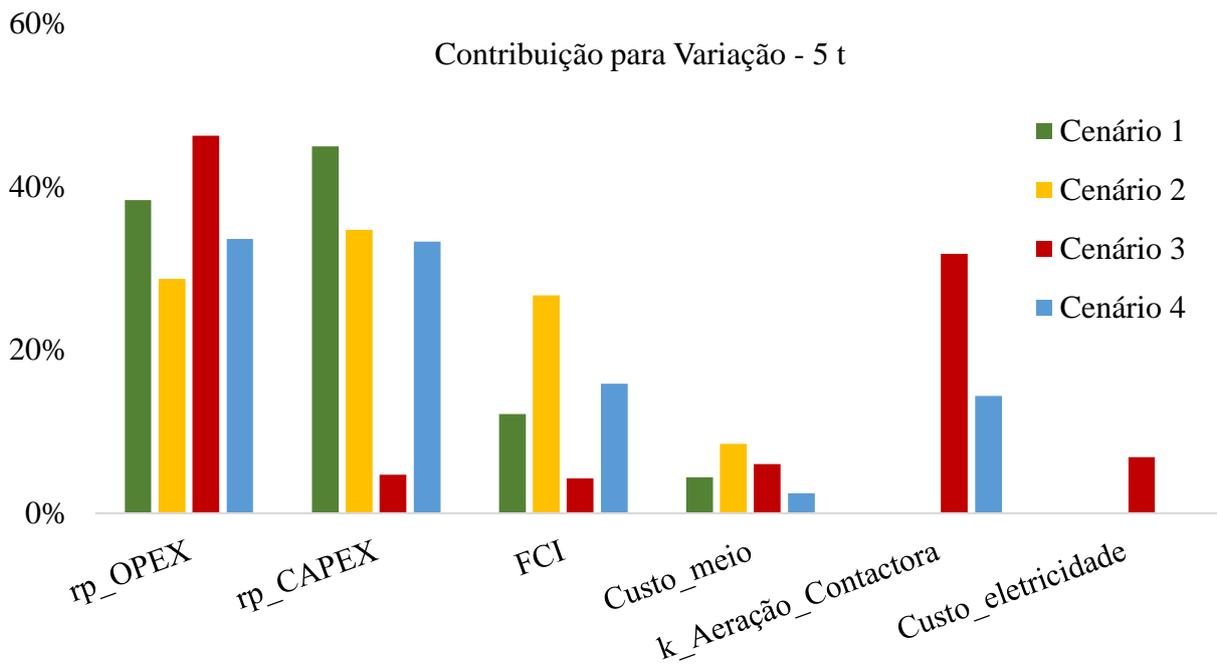


Figura 24: Análise de sensibilidade – 5 t

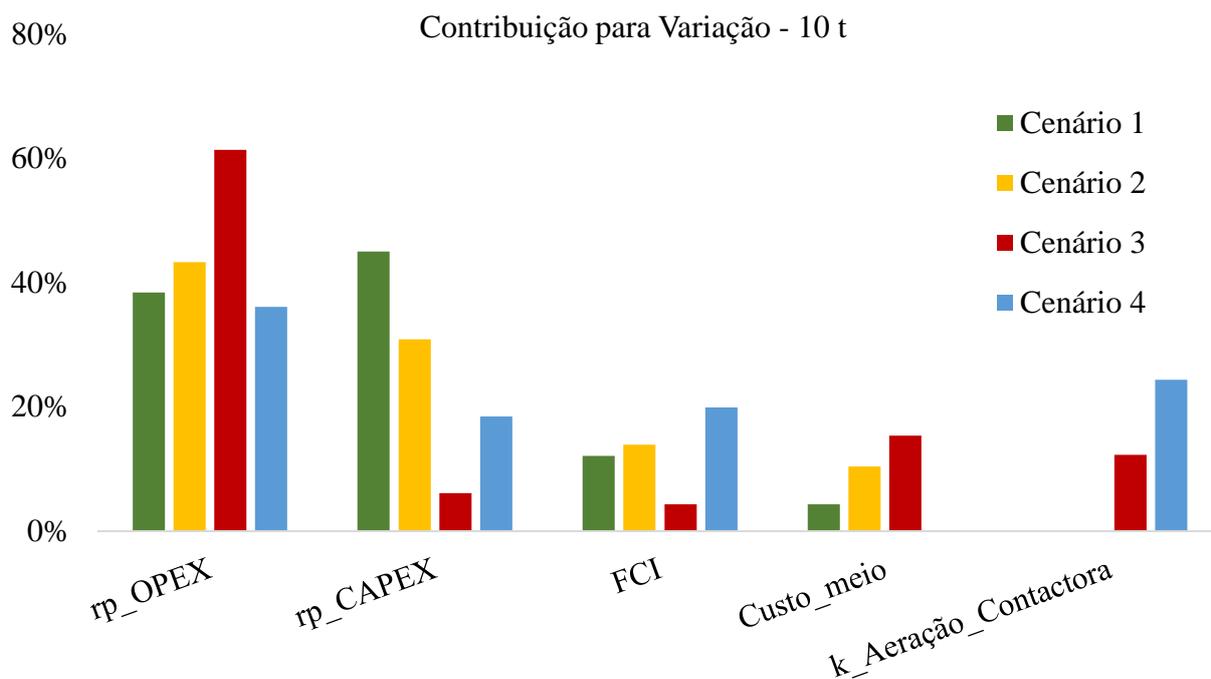


Figura 25: Análise de sensibilidade – 10 t

chances de se encontrar um processo viável para 1 t/ano, porém nos cenários 1 e 2 para 5 t/ano há mais de 95% chances para tal viabilidade; em outras palavras, os processos 1 e 2 a 5 t/ano não seriam inviáveis mesmo se a produtividade volumétrica fosse levada a seu valor mínimo.

Tal observação enaltece a importância da capacidade e traz a discussão de como a pesquisa e desenvolvimento de surfactina, com propriedades de inovação poderiam resultar em produtos com qualidade marcante que se bem trabalhados em *marketing* e propaganda, resultariam em um produto viável economicamente.

Por outro lado, o custo do meio, nas condições de operação e comercialização nos processos deste trabalho, se mostrou um parâmetro de baixa relevância. Na maior parte dos cenários mesmo que reduzido a zero, o custo do meio não diminuiria em mais de 10% a variabilidade do VPL (exceto para o cenário 3 a 10 t/ano, o valor é de 15%). Por exemplo, o cenário 2 a 5 t/ano resultou em um VPL em torno de 50 MUS\$ e variabilidade de 20-30 MUS\$,

significando que mesmo retirando os custos do meio o VPL seria aumentado apenas cerca de 2 MUS\$.

Vale ressaltar que essa consideração sobre o custo do meio despreza ainda os gastos adicionais ao utilizar um meio de resíduo. Sabe-se que o uso de resíduo como meio implica ainda em gastos adicionais ou no pré-tratamento para adequação de matéria-prima ou então com etapas extras de purificação no *downstream*, devido à presença contaminantes da carga.

Para processos biotecnológicos de alta pureza, os custos de *downstream* são os limitantes. Por outro lado, em aplicações brutas, é esperado que o custo das matérias-primas seja um fator crítico; principalmente para baixos fatores de conversão de substrato em produto, ocorre que muita matéria prima é preciso ser fornecida para uma pequena formação de produto, e aí a economia com matérias primas de fontes renováveis pode ser particularmente interessante (ABDEL-MAWGOUD et al., 2011). Este não parece ser o caso dos processos construídos nesse trabalho, para aplicações cosméticas.

Para os diferentes cenários e capacidades, o custo dos equipamentos do *downstream* correspondem entre de 20-30% custo total (Tabela 34 a Tabela 37). Esse fator se deve ao fato de que embora o produto seja resultante de um processo com baixo rendimento específico, a pureza para aplicação cosmética não é tão grande (90%); também foram desconsideradas etapas de polimento final do produto devido à pouca descrição e realização na literatura dessas etapas. Por fim, ao optar por um processamento contínuo o processo naturalmente recai sobre operações de produção sincronizadas e em paralelo que reduzem o gasto com vasos de acúmulo e conseqüentemente os gastos nos processamentos de purificação, inexoravelmente colocam a produção e os biorreatores como os pilares centrais do processo e sua viabilidade.

Os fluxos volumétricos de UF e MF têm participação irrisória na variabilidade dos dados (< 0,01%). Nas considerações deste trabalho, flutuações no fluxo operacional estariam ligados diretamente, e apenas, com a área requerida para os módulos de filtração. Empecilhos operacionais, por exemplo com entupimento das membranas e tempo extra de lavagem não foram levados em consideração. Embora esse seja uma questão crucial para processos com membranas é difícil ponderar esses fatores, e comumente ficam à cargo da experiência dos projetistas e questões empíricas.

A variabilidade causada pelo custo da eletricidade é tão fraca quanto à provocada por eventuais flutuações nos fluxos; excetuando-se o caso do cenário 3 a 5 t/ano. Nesse caso a

influência pode estar associada a alta relevância dos custos com a aeração das membranas contactoras que, por sua vez, demandam um gasto energético de bombeamento para circulação do meio. Curiosamente, o consumo elétrico dos compressores em todos os cenários e capacidades é irrelevante para o VPL.

Capítulo V– Conclusões

5.1 Considerações finais

Neste trabalho foi avaliada a produção de surfactina por 4 diferentes processos para a área cosmética. Os cenários foram baseados na combinação de duas formas principais de produção (borbulhamento seguido de coleta da espuma ou oxigenação não dispersiva usando contactores por membranas) com duas formas principais de purificação (extração com solvente ou ultrafiltração).

A análise técnico econômica da produção foi construída a partir da simulação dos diferentes cenários de processo no *SuperPro Designer (Intelligen, Inc)*, e uma análise de sensibilidade foi construída usando o *Crystal Ball (Oracle ®)* para avaliar a importância sobre a viabilidade do processo pelos seguintes parâmetros: capacidade produtiva da planta; custo fixo de investimento; custo do meio de cultivo; produtividade volumétrica; fluxo volumétrico nos processos de filtração; coeficiente de transferência de massa da aeração não dispersiva.

A metodologia empregada pode ser reproduzida para outros processos de biosurfactantes (como os ramnolipídios, que possuem processos produtivos similares às surfactinas); para avaliar a sensibilidade de outros parâmetros; ou ainda avaliar novas faixas de operação dos parâmetros.

O mínimo preço de venda para todos os quatro cenários nas condições base (5 t/ano e 18 mg.L⁻¹.h⁻¹) ficou entre 2.000 – 2.400 US\$/kg, próximo à faixa encontrada para empresas pioneiras, que cobram 3.100 US\$/kg.

A capacidade da planta foi um fator inédito avaliado e trouxe à discussão da comercialização do produto a importância de ser estabelecido uma escala mínima de 5 t/ano, independente das outras condições operacionais. Em detalhes, a mínima escala eficiente obtida para os cenários foi de: 2,2 t/ano (cenário 1), 3,1 t/ano (cenário 2), 4,0 t/ano (cenário 3), 4,5 t/ano (cenário 4).

Foram obtidos diferentes cenários recomendados para cada uma das capacidades de produção. Com 1 t/ano o cenário 1 (borbulhamento e extração com solvente) é o mais recomendado, apresenta significativamente maior média de VPL, porém com probabilidade de viabilidade de apenas 11%.

Para a capacidade de 5 t/ano os cenários 1 e 2 resultaram em médias de VPL significativamente maiores que os cenários 3 e 4. O cenário 2 ainda, apresentou o mesmo índice de lucratividade que o cenário 1, resultando, portanto, em uma alternativa igualmente viável.

Para a capacidade de 10 t/ano os cenários 1,2 e 3 resultaram em médias de VPL significativamente maiores que o cenários 4. Os cenários 1 e 2 apresentaram uma distribuição de VPL levemente deslocada para valores mais positivos, porém o cenário 3 resultou em um maior índice de lucratividade, e, portanto, também resulta em uma alternativa promissora

Os custos fixos de investimento, normalmente minimizados otimizando as operações unitárias, e o custo do meio de cultivo, normalmente reduzidos via aproveitamento de resíduos, são fatores comumente estudados para tornar o processo economicamente viável. Porém, nas condições estudadas, eles contribuíram com não mais de 20% e 10% da variabilidade do VPL, respectivamente.

A produtividade volumétrica responde por até da 80% da variabilidade do processo de produção de surfactinas; o custo dos equipamentos até 20% e o custo do meio até 10%. Os parâmetros relacionados a fluxos de permeação e o gasto com eletricidade foram irrisórios, excetuando o cenário 3 (aeração não dispersiva e extração com solvente) a 5 t/ano. O coeficiente de transferência de massa da aeração pode responder por até 25% da variabilidade do VPL.

Embora a produtividade volumétrica resulte em grande variabilidade na análise econômica, em capacidade de 5 t/ano (ou mais) não é determinante para a viabilidade do processo.

Comparando os cenários com aeração não dispersiva e borbulhamento, o último resultou nos maiores VPL em todas as capacidades, tanto para os cenários com purificação por extração com solvente (cenários 1 e 3) quanto para os processos com ultrafiltração (cenários 2 e 4).

Ou seja, a produção com oxigenação não dispersiva usando contactores com membranas não mostrou vantagens econômicas frente aos processos com borbulhamento, ainda que o índice de lucratividade do cenário 3 tenha sido maior que o do cenário 1 a 10 t/ano, isso apenas sugere que a razão pela qual os processos com contactoras são menos viáveis são os maiores custos operacionais.

Comparando os cenários com ultrafiltração e extração por solvente, ambos apresentaram VPL bem próximos em todas as capacidades, tanto para os cenários com borbulhamento

(cenários 1 e 2) quanto para os processos com aeração não dispersiva (cenários 3 e 4). Portanto, a escolha deve se basear mais em uma questão operacional que econômica.

Além disso, para capacidades baixas (1 t/ano), a purificação por ultrafiltração parece ser mais compatível com o processo por aeração não dispersiva (cenário 4), do que com o processo com borbulhamento (cenário 2). Ao aumentar a capacidade da planta o efeito se inverte, e a ultrafiltração apresenta melhores resultados quando associada a produção por borbulhamento. Isso porque ao aumentar a capacidade, o efeito de *scale-up* modular dos processos com membranas é mais oneroso que o *scale-up* do cenário 3.

Notou-se ainda maior variabilidade do VPL nos processos com contactoras, possivelmente causado pelas incertezas operacionais e a variabilidade do coeficiente de transferência de massa da aeração nesses processos. Por fim, a substituição do processo clássico por contactoras deve ser muito mais fundamentado em questões práticas do que em questões econômicas; principalmente nas dificuldades de controle e incerteza dos processos com desenvolvimento de espuma, desde que sejam obtidos dados experimentais com menor variabilidade para diminuir a incerteza dos projetos com contactores.

5.2 Perspectivas

O Desenvolvimento de nova análise econômica preliminar para as outras áreas de aplicação da surfactina, levando em consideração as diferentes purezas e preços de venda esperados, pode ajudar a estabelecer o produto dentro de novos mercados.

Em sequência da análise técnico econômica preliminar, a realização de uma análise técnico econômica detalhada dos cenários desenvolvidos é uma perspectiva natural, que demanda a obtenção de dados experimentais mais precisos, mas resulta em valores de custo e lucro mais exatos.

Várias questões devem ser levadas em conta para a análise técnico econômica detalhada, incluindo a importância da avaliação de questões prático/operacionais na seleção dos cenários de maior destaque. O desenvolvimento da tecnologia pressupõe o estudo em planta piloto, com cuidado especial para a variabilidade dos parâmetros críticos e das questões operacionais relevantes. Vale a ressalva de que, para tal, trabalhos sobre prospecção tecnológica podem contribuir com a confiabilidade dos processos e parâmetros selecionados.

O estudo de cenários alternativos aos apresentados nesse trabalho também é importante, haja visto que os fluxogramas construídos nesse trabalho foram baseados em descrições de artigos e processos com propriedade intelectual protegidos na forma de patentes.

Outra importante perspectiva é a do desenvolvimento de uma análise de mercado mais detalhada, haja visto a importância da capacidade produtiva das plantas discutida nesse trabalho. Os estudos mercadológicos e de aplicabilidades, aliados ao marketing de P&D, são questões cruciais para a implementação do produto, mas são apenas desenvolvidas e protegidas pelas indústrias pioneiras e de inovação da área. Ainda, o desenvolvimento de estudos bibliométricos podem ser de particular interesse para tornar essas informações de livre acesso e estimular a maturação tecnológica e comercialização de surfactina.

Capítulo VI –Referências bibliográficas

ABDEL-MAWGOUD, A. M. et al. **Rhamnolipids : Detection , Analysis , Biosynthesis , Genetic Regulation , and Bioengineering of Production.** [s.l: s.n.].

ABDEL-MAWGOUD, A. M.; ABOULWAFI, M. M.; HASSOUNA, N. A. H. Optimization of surfactin production by bacillus subtilis isolate BS5. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 150, n. 3, p. 305–325, 2008.

AL-AJLANI, M. et al. Production of surfactin from Bacillus subtilis MZ-7 grown on pharmamedia commercial medium. **Microbial Cell Factories**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 17, 2007.

ALONSO, S.; MARTIN, P. J. Impact of foaming on surfactin production by Bacillus subtilis: Implications on the development of integrated in situ foam fractionation removal systems. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 110, p. 125–133, 2016.

ARIMA, K.; KAKINUMA, A.; TAMURA, G. Surfactin, a crystalline peptidelipid surfactant produced by Bacillus Subtilis: Isolation, characterization and its inhibition of fibrin clot formation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 488–494, 1968.

BANAT, I. M.; MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. S. Potential commercial applications of microbial surfactants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 53, n. 5, p. 495–508, 2000.

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**, [s. l.], v. 35, n. 9, p. 1071–1078, 2008.

BENZ, G. T. Piloting bioreactors for agitation scale-up. **Chemical Engineering Progress**, [s. l.], v. 104, n. 2, p. 32–34, 2008.

BHARAL, P.; KONWAR, B. K. Production and physico-chemical characterization of a biosurfactant produced by Pseudomonas aeruginosa OBPI isolated from petroleum sludge. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 164, n. 8, p. 1444–1460, 2011.

BHAVE, R. R. A cross flow filtration apparatus. **Filtration + Separation**, [s. l.], v. 37, n. 6, p. 29, 2003.

BINIARZ, P.; ŁUKASZEWICZ, M. Direct quantification of lipopeptide biosurfactants in biological samples via HPLC and UPLC-MS requires sample modification with an organic solvent. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 101, n. 11, p. 4747–4759, 2017.

BIOOEKONOMIE.DE. **Novel biosurfactants to hit the market**. 2017. Disponível em: <<https://biooekonomie.de/en/nachrichten/novel-biosurfactants-hit-market>>.

BURGHOFF, B. Foam fractionation applications. **Journal of Biotechnology**, [s. l.], v. 161, n. 2, p. 126–137, 2012.

CARRERA, P.; COSMINA, P.; GUIDO, G. **METHOD OF PRODUCING SURFACTIN WITH THE USE OF MUTANT OF BA CILL US SUBTILIS**, US005227294, 1993.

CEBALLOS ROJAS, I. C. et al. **Production Process For Biomass and Metabolites of Bacillus Species and Composition Thereof for Biological Pest Control**, WO2014178032A1, 2014.

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**, [s. l.], v. 299, n. 1–2, p. 114–121, 2007.

CHEN, W. C.; JUANG, R. S.; WEI, Y. H. Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 103, p. 158–169, 2015.

CHTIOUI, O. et al. Rotating discs bioreactor, a new tool for lipopeptides production. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 47, n. 12, p. 2020–2024, 2012.

CINELLI, B. A. **Produção de etanol acoplada a processos de separação por membranas**. 2017. UFRJ/ COPPE, [s. l.], 2017.

COMMUNITIES, E. **Economies of Scale : Impact on Competition and Scale Effects**. [s.l: s.n.].

COOPER, D. et al. Enhanced Production of Surfactin from Bacillus subtilis by Continuous Product Removal and Metal Cation Additions. **Applied and environmental microbiology**, [s. l.], v. 42, n. 3, p. 408–412, 1981.

COUTTE, F. et al. Production of surfactin and fengycin by Bacillus subtilis in a bubbleless

membrane bioreactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 87, n. 2, p. 499–507, 2010.

COUTTE, F. et al. New integrated bioprocess for the continuous production, extraction and purification of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* in membrane bioreactor. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 25–32, 2013.

COUTTE, F. et al. **BACILLUS SP. BIOSURFACTANTS, COMPOSITION INCLUDING SAME, METHOD FOR OBTAINING SAME, AND USE THEREOF**, US 2015/0045290 A1, 2015.

COUTTE, F. et al. Microbial lipopeptide production and purification bioprocesses, current progress and future challenges. **Biotechnology Journal**, [s. l.], v. 12, n. 7, p. 1–10, 2017.

CUESTA, S. P. La et al. Techno-economic assessment of the use of solvents in the scale-up of microbial sesquiterpene production for fuels and fine chemicals. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, [s. l.], p. 1–13, 2018.

D. HUMBIRD, R. DAVIS, L. TAO, C. KINCHIN, D. HSU, A. A. N. **Process Design and Economics for Biochemical Conversion of Lignocellulosic Biomass to Ethanol Process Design and Economics for Biochemical Conversion of Lignocellulosic Biomass to Ethanol**NREL Report. [s.l: s.n.].

DAUNER, M.; STORNI, T.; SAUER, U. W. E. *Bacillus subtilis* Metabolism and Energetics in Carbon-Limited and Excess-Carbon Chemostat Culture. **JOURNAL OF BACTERIOLOGY**, [s. l.], v. 183, n. 24, p. 7308–7317, 2001.

DAVIS, D. A.; LYNCH, H. C.; VARLEY, J. The production of Surfactin in batch culture by *Bacillus subtilis* ATCC 21332 is strongly influenced by the conditions of nitrogen metabolism. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 25, n. 3–5, p. 322–329, 1999.

DAVIS, R. et al. Process Design and Economics for the Conversion of Lignocellulosic Biomass to Hydrocarbons: Dilute-Acid and Enzymatic Deconstruction of Biomass to Sugars and Biological Conversion of Sugars to Hydrocarbons. **NREL Report**, [s. l.], n. March, 2013.

DE FARIA, A. F. et al. Production and structural characterization of surfactin (C 14/Leu7) produced by *Bacillus subtilis* isolate LSFM-05 grown on raw glycerol from the biodiesel industry. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 46, n. 10, p. 1951–1957, 2011.

- DELEU, M. et al. **Novel Use of Lipopeptides Preparation**, WO2004002510A1, 2004.
- DHALI, D. et al. Genetic engineering of the branched fatty acid metabolic pathway of *Bacillus subtilis* for the overproduction of surfactin C 14 isoform. **Biotechnology Journal**, [s. l.], v. 12, n. 7, p. 1600574, 2017.
- DLAMINI, B. **Downstream purification of surfactin produced by Bacillus subtilis ATCC 21332**. 2017. Stellenbosch University, [s. l.], 2017.
- EIICHI, K. et al. **Fungicidal and/or Bactericidal composition, production process thereof and sterilization method using the composition**, US2005032677A1, 2005.
- EMMERT J., E.; HANDELSMAN, B. Biocontrol of plant disease: a gram-positvie perspective. **FEMS Microbiology Letters**, [s. l.], v. 171, p. 1–9, 1999.
- FARIA, L. F. F. et al. Development and characterization of microfiltration hollow-fiber modules for sterilization of fermentation media. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 141–150, 2002.
- FASAEI, F. et al. Techno-economic evaluation of microalgae harvesting and dewatering systems. **Algal Research**, [s. l.], v. 31, n. November 2017, p. 347–362, 2018.
- FERREIRA, R. D. G.; AZZONI, A. R.; FREITAS, S. Techno-economic analysis of the industrial production of a low-cost enzyme using *E. coli*: The case of recombinant β -glucosidase. **Biotechnology for Biofuels**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–13, 2018.
- FONSECA, R. R. et al. Optimizing carbon/nitrogen ratio for biosurfactant production by a *Bacillus subtilis* strain. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 137–140, n. 1–12, p. 471–486, 2007.
- GARRETT, D. E. Appendix 1 - Equipment Cost Estimates. In: **Chemical Engineering Economics**. [s.l.] : Springer, 1989. p. 255–308.
- GHRIBI, D. et al. Statistical optimization of low-cost medium for economical production of *Bacillus subtilis* biosurfactant, a biocontrol agent for the olive moth *Prays oleae*. **African Journal of Microbiology Research**, [s. l.], v. 5, n. 27, p. 4927–4936, 2011.
- GHRIBI, D.; ELLOUZE-CHAABOUNI, S. Enhancement of *Bacillus subtilis* Lipopeptide Biosurfactants Production through Optimization of Medium Composition and Adequate

Control of Aeration. **Biotechnology Research International**, [s. l.], v. 2011, p. 1–6, 2011.

GLASSDOOR. **Chemical Plant Operator Salaries**. 2018. Disponível em: <https://www.glassdoor.com/Salaries/chemical-plant-operator-salary-SRCH_KO0,23.htm>.

GORDILLO, M. A.; MALDONADO, M. C. Purification of Peptides from Bacillus Strains with Biological Activity. In: DHANARASU, S. (Ed.). **Chromatography and its applications**. [s.l.] : InTech, 2012. p. 201–224.

GRAND VIEW RESEARCH. **Global Biosurfactants Market Analysis By Product (Rhamnolipids, Sophorolipids, MES, APG, Sorbitan Esters, Sucrose Esters) And Segment Forecasts To 2020**, 2014.

GUIMARÃES, C. R. **Avaliação da produção de surfactina- like por Bacillus sp. H2O-1**. 2015. UFRJ, [s. l.], 2015.

HEIKE, S.; MARIA, T. **Sulfate-free cosmetic cleansing agents comprising biosurfactants**, GB2547064, 2015.

HUE, N.; SERANI, L.; LAPRVOTE, O. Structural investigation of cyclic peptidolipids from *Bacillus subtilis* by high-energy tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, [s. l.], v. 15, n. 3, p. 203–209, 2001.

ICIS_NEWS. **Japan's Kaneka begins selling bio-surfactant**. 2009. Disponível em: <<https://www.icis.com/explore/resources/news/2009/08/31/9243832/japan-s-kaneka-begins-selling-bio-surfactant/>>.

INÈS, M.; DHOUHA, G. Glycolipid biosurfactants: Potential related biomedical and biotechnological applications. **Carbohydrate Research**, [s. l.], v. 416, n. February 2016, p. 59–69, 2015.

INFORS. **Bioreactor FAQ**. 2016. Disponível em: <<http://www.infors-ht.com/index.php/en/science-center/faq-en/904-bioreactor-faq>>.

ISA, M. H. M. et al. Recovery and purification of surfactin from fermentation broth by a two-step ultrafiltration process. **Journal of Membrane Science**, [s. l.], v. 296, n. 1–2, p. 51–57, 2007.

IZUMIDA, M.; KAWASAKI, H.; MOROSHIMA, T. **Method of Producing Surfactin and**

Salt Thereof, US2013197190A1, 2013.

KANEKA_CORPORATION. **Biosurfactant made by fermentation technology of KANEKA**. 2019. Disponível em: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:T5xezkC9SmQJ:www.kaneka.co.jp/en/branch/nb_development/surfactin_catalogue_eng.pdf+&cd=2&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>.

KANLAYAVATTANAKUL, M.; LOURITH, N. Lipopeptides in cosmetics. **International Journal of Cosmetic Science**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 1–8, 2010.

KEI, A.; GAKUZO, T.; ATSUSHI, Ka. **Surfactin**, US3687926A, 1972.

KIKUCHI, T.; HASUMI, K. Enhancement of plasminogen activation by surfactin: augmentation of fibrinolysis in vitro and in vivo. **Biochimica et Biophysica Acta**, [s. l.], v. 1596, n. 2, p. 234–45, 2002.

KIM, P. Il et al. Production of biosurfactant lipopeptides iturin A, fengycin, and surfactin A from *Bacillus subtilis* CMB32 for control of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 138–145, 2010.

KORENBLUM, E. et al. Purification and characterization of a surfactin-like molecule produced by *Bacillus* sp. H2O-1 and its antagonistic effect against sulfate reducing bacteria. **BMC Microbiology**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 252, 2012.

KOUTINAS, A. A. et al. Design and techno-economic evaluation of microbial oil production as a renewable resource for biodiesel and oleochemical production. **Fuel**, [s. l.], v. 116, p. 566–577, 2014.

KOUTINAS, A. A. et al. Techno-economic evaluation of a complete bioprocess for 2,3-butanediol production from renewable resources. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 204, n. January, p. 55–64, 2016.

KOVVALI, A. S.; SIRKAR, K. K. Membrane contactors: recent developments. In: **Membrane Science and Technology**. [s.l.] : Elsevier Masson SAS, 2003. v. 8p. 147–164.

KREUTER, J. Nanoparticles and microparticles for drug and vaccine delivery. **Journal of anatomy**, [s. l.], v. 189 (Pt 3, n. Ii, p. 503–505, 1996.

LANE, J. M.; SPATH, P. L. Technoeconomic Analysis of the Thermocatalytic Decomposition of Natural Gas. **Nrel**, [s. l.], n. December, 2001.

LI, J. et al. Oxygen transfer characteristics of hydrophilic treated polypropylene hollow fiber membranes for bubbleless aeration. **Journal of Membrane Science**, [s. l.], v. 362, n. 1–2, p. 47–57, 2010.

LIPOFABRIK. **HomePage**. 2019. Disponível em: <<http://www.lipofabrik.com/>>.

LIU, J. F. et al. Chemical structure, property and potential applications of biosurfactants produced by *Bacillus subtilis* in petroleum recovery and spill mitigation. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 4814–4837, 2015.

LIU, T. et al. Integrated process for production of surfactin. Part 1: Adsorption rate of pure surfactin onto activated carbon. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 333–340, 2007.

LIU, X. et al. Effect of the microbial lipopeptide on tumor cell lines: Apoptosis induced by disturbing the fatty acid composition of cell membrane. **Protein and Cell**, [s. l.], v. 1, n. 6, p. 584–594, 2010.

LIU, X. et al. Optimization for the production of surfactin with a new synergistic antifungal activity. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. 1–9, 2012.

LIU, X. Y.; YANG, S. Z.; MU, B. Z. Production and characterization of a C15-surfactin-O-methyl ester by a lipopeptide producing strain *Bacillus subtilis* HSO121. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 44, n. 10, p. 1144–1151, 2009.

LOZOWSKI, D. **THE CHEMICAL ENGINEERING PLANT COST INDEX**. 2019. Disponível em: <<https://www.chemengonline.com/pci-home>>.

MANDAL, S. M.; BARBOSA, A. E. A. D.; FRANCO, O. L. Lipopeptides in microbial infection control: Scope and reality for industry. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 338–345, 2013.

MANI, P.; SIVAKUMAR, P.; BALAN, S. S. Economic Production and Oil Recovery Efficiency of a Lipopeptide Biosurfactant from a Novel Marine Bacterium *Bacillus simplex*. **Achievements in the Life Sciences**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 102–110, 2016.

MARCHANT, R.; BANAT, I. M. Microbial biosurfactants: Challenges and opportunities for future exploitation. **Trends in Biotechnology**, [s. l.], v. 30, n. 11, p. 558–565, 2012.

MAROULIS, Z. B.; SARAVACOS, G. D. Appendix. In: **Food Process Design**. [s.l.] : CRC Press Book, 2003. p. 493–516.

MATCHES. **Matches' Process Equipment Cost Estimates**. 2014. Disponível em: <<https://www.matche.com/equipcost/Default.html>>.

MDIC. **HomePage**. 2018. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/home>>.

MEENA, K. R.; KANWAR, S. S. Lipopeptides as the Antifungal and Antibacterial Agents: Applications in Food Safety and Therapeutics. **BioMed Research International**, [s. l.], 2015.

MILTON J ROSEN; KUNJAPPU, J. T. **Surfactants and Interfacial Phenomena**. Fourth Edition. [s.l.] : John Wiley & Sons, 2012.

MNIF, I.; ELLOUZE-CHAABOUNI, S.; GHRIBI, D. Economic production of Bacillus subtilis SPB1 biosurfactant using local agro-industrial wastes and its application in enhancing solubility of diesel. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, [s. l.], v. 88, n. 5, p. 779–787, 2013.

MNIF, I.; GHRIBI, D. Review lipopeptides biosurfactants: Mean classes and new insights for industrial, biomedical, and environmental applications. **Biopolymers**, [s. l.], v. 104, n. 3, p. 129–147, 2015.

MORA, I.; CABREFIGA, J.; MONTESINOS, E. Cyclic lipopeptide biosynthetic genes and products, and inhibitory activity of plant-associated Bacillus against phytopathogenic bacteria. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 1–21, 2015.

MOTTA DOS SANTOS, L. F. et al. An improvement of surfactin production by B. subtilis BBG131 using design of experiments in microbioreactors and continuous process in bubbleless membrane bioreactor. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 218, p. 944–952, 2016.

MUKHERJEE, A. K.; DAS, K. Correlation between diverse cyclic lipopeptides production and regulation of growth and substrate utilization by Bacillus subtilis strains in a particular habitat. **FEMS Microbiology Ecology**, [s. l.], v. 54, n. 3, p. 479–489, 2005.

NATSURFACT. **Home Page**. 2019. Disponível em: <<https://natsurfact.com/>>.

NEXANT INC. **Equipment Design and Cost Estimation for Small Modular Biomass Systems , Synthesis Gas Cleanup , and Oxygen Separation Equipment. Task 1: Cost Estimates of Small Modular Systems**Subcontract Report NREL/SR-510-39943. [s.l: s.n.].

NOAH, K. S.; BRUHN, D. F.; BALA, G. a. Surfactin production from potato process effluent by *Bacillus subtilis* in a chemostat. **Applied biochemistry and biotechnology**, [s. l.], v. 121–124, p. 465–73, 2005.

NTU. **Chemical Engineering Plant Cost Index (averaged over year)**. 2011. Disponível em: <http://folk.ntnu.no/magnehi/cepci_2011_py.pdf>.

ORACLE®. **Crystal Ball User's Guide**. 2019a. Disponível em: <https://docs.oracle.com/cd/E57185_01/CYBUG/ch09s03s03.html>.

ORACLE®. **Crystal Ball User's Guide**. 2019b. Disponível em: <https://docs.oracle.com/cd/E57185_01/CYBUG/copyrite.html>.

PATHAK, K. V.; KEHARIA, H. Identification of surfactins and iturins produced by potent fungal antagonist, *Bacillus subtilis* K1 isolated from aerial roots of banyan (*Ficus benghalensis*) tree using mass spectrometry. **3 Biotech**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 283–295, 2014.

PERRY, R. H.; GREEN, D. W.; MALONEY, J. O. **Perry's Chemical Engineers' Handbook**. Seventh ed. [s.l.] : McGraw-Hill, 1997. v. 27

PETER, M. S.; TIMMERHAUS, K. D.; WEST, R. E. **Plant Design and Economics for Chemical Engineers**. Fifth Edit ed. [s.l.] : Elizabeth A. Jones, 2003.

PETRIDES, D. Bioprocess Design and Economics. In: **Bioseparations Science and Engineering**. Second Edi ed. [s.l: s.n.]. p. 1–83.

PETRIDES, D.; KOULOURIS, A.; SILETTI, C. **Throughput Analysis and Debottlenecking of Biomanufacturing Facilities**, INTELLIGEN, INC, 2002.

RANDHAWA, K. K. S.; RAHMAN, P. K. S. M. Rhamnolipid biosurfactants — past , present , and future scenario of global market. **frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 5, n. September, p. 1–7, 2014.

RANGARAJAN, V.; DHANARAJAN, G.; SEN, R. Improved performance of cross-flow ultrafiltration for the recovery and purification of Ca²⁺ conditioned lipopeptides in diafiltration

mode of operation. **Journal of Membrane Science**, [s. l.], v. 454, p. 436–443, 2014.

REIS, C. et al. Surfactin from *Bacillus velezensis* H2O-1 : Production and Physicochemical Characterization for Postsalt Applications. [s. l.], n. January, p. 451–462, 2019.

RESEARCH_MARKET. **Biosurfactants - Global Market Outlook**. 2019. Disponível em: <<https://www.researchandmarkets.com/research/5dpj24/global?w=4>>.

SANTOS, D. K. F. et al. Biosurfactants: Multifunctional biomolecules of the 21st century. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 1–31, 2016.

SCOTT, M. J.; JONES, M. N. The biodegradation of surfactants in the environment. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, [s. l.], v. 1508, n. 1–2, p. 235–251, 2000.

SEN, R.; SWAMINATHAN, T. Application of response-surface methodology to evaluate the optimum environmental conditions for the enhanced production of surfactin. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 358–363, 1997.

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

SEYDLOVÁ, G.; SVOBODOVÁ, J. Review of surfactin chemical properties and the potential biomedical applications. **Open Medicine**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 123–133, 2008.

SHAANXI. **Medical Cosmetic Grade Biosurfactants Surfactin cas : 24730-31-2**. 2018. Disponível em: <https://www.alibaba.com/product-detail/Medical-Cosmetic-Grade-Biosurfactants-Surfactin-cas_60647425847.html?spm=a2700.7724857.normalList.17.57ec1ba3hiwBPc>.

SHERRY, I. et al. **COMPOSITIONS AND METHODS FOR CONTROLLING PLANT PESTS**, US 6,417,163 B1 Jul. 9, 2002, 2002.

SHOWA_DENKO. **SDK Offers Innovative Cosmetic Material**. 2001. Disponível em: <http://www.sdk.co.jp/english/news/2001/aanw_01_0050.html>.

SHOWA DENKO K.K. **Agent for skin external use containing tocopherol derivative, ascorbic acid derivatice and surface active agent having lipopeptide structure**, WO2005102267A1, 2005.

SINGH, A.; RAUTELA, R.; CAMEOTRA, S. Substrate dependent in vitro antifungal activity of Bacillus sp strain AR2. **Microbial Cell Factories**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 67, 2014.

STANBURY, P. F.; WHITAKER, A.; HALL, S. J. **Principles of Fermentation Technology**. Second Edi ed. [s.l.] : Elsevier Ltd, 1995.

TADASHI, Y.; NAOKO, I.; FURUYA, C. **Oil-in-Water Emulsified composition, and external preparation for skin and cosmetics using the composition**, US2008311234A1, 2008.

TAKESHI SAEKI, H. et al. **Surfactin-containing Compositions for controlling scab disease in agriculture products**, US2009123445A1, 2009.

TIANZHENG, M.; XIZHAO, Y.; DAITIAN, G. **Surfactin, Production process of subtilin**, CN1466626A, 2000.

TOUMI, A. et al. Design and Optimization of a Large Scale Biopharmaceutical Facility Using Process Simulation and Sheduling Tools. **Pharmaceutical Engineering**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 1–9, 2010.

TOWLER, G. P.; SINNOTT, R. K. **Principles, Practice and Economics of Plant and Process Design**. [s.l.] : Elsevier, 2008.

TURTON, R. et al. **Analysis, Synthesis and Design of Chemical Processes**. Third Edit ed. [s.l.] : Prentice Hall PTR, 2009. v. 53

WHANG, L. M. et al. Application of biosurfactants, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 151, n. 1, p. 155–163, 2008.

WILLENBACHER, J. et al. Evaluation of different Bacillus strains in respect of their ability to produce Surfactin in a model fermentation process with integrated foam fractionation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 98, n. 23, p. 9623–9632, 2014.

WILLENBACHER, J. et al. Foam-free production of Surfactin via anaerobic fermentation of Bacillus subtilis DSM 10T. **AMB Express**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 21, 2015.

WWW.ALIBABA.COM. **Rhamnolipid searchle**. 2019. Disponível em: <www.Alibaba.com>.

Y. TADASHI, Y. KANAGAWA, F. KAZUO, T. T. **PRODUCTION PROCESS OF SURFACTIN**, US007011969B2, 2006.

YANG, Y. et al. Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: Quillaja saponin (Q-Naturale ??). **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 589–596, 2013.

YEH, M.; WEI, Y.; CHANG, J. Enhanced Production of Surfactin from *Bacillus subtilis* by Addition of solid Carriers. **Biotechnology progress**, [s. l.], v. 21, p. 1329–1334, 2005.

ZHANG, J. et al. Production of lipopeptide biosurfactants by *Bacillus atrophaeus* 5-2a and their potential use in microbial enhanced oil recovery. **Microbial Cell Factories**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 168, 2016.

ZHAO, J. et al. Differential proteomics analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* and its genome-shuffled mutant for improving surfactin production. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 15, n. 11, p. 19847–19869, 2014.

ZHI, Y.; WU, Q.; XU, Y. Genome and transcriptome analysis of surfactin biosynthesis in *Bacillus amyloliquefaciens* MT45. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. August 2016, p. 40976, 2017.

Capítulo VII– Anexos

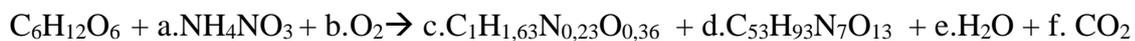
7.1 Cálculos Preliminares

Vários dos parâmetros a serem inseridos no simulador precisaram ser calculados previamente, em planilha de Microsoft Excel como memória de cálculo. A estequiometria das reações de crescimento e produção; a concentração final de biomassa e surfactina ao final da reação; a composição simplificada do meio de cultivo; o balanço de massa de surfactina e biomassa na coleta de espuma; os coeficientes de partição na extração com solvente; o dimensionamento dos tanques e vasos; o tempo de ciclo de operação dos biorreatores para produção contínua por bateladas em paralelo; o *scale-up* do módulos de membrana contactora para aeração; o balanço de massa de surfactina e biomassa nos processos de filtração. Todos os tópicos serão descritos nos anexos subsequentes.

7.1.1 Estequiometria da reação

As reações foram interpretadas de modo simplificado, para gerar um balanço global de Carbono, nitrogênio, hidrogênio e oxigênio (C,N,H,O). As proporções de C,H,N,O para a biomassa de *Bacillus subtilis* foram consideradas como $C_1H_{1,63}N_{0,23}O_{0,36}$ como as obtidas na literatura (DAUNER; STORNI; SAUER, 2001), e a estrutura de surfactina foi considerada na forma neutra ($C_{53}H_{93}N_7O_{13}$)

Balanço Estequiométrico



Os balanços foram realizados com base em 1 mol de glicose. Os coeficientes estequiométricos da biomassa e da surfactina, c e d, respectivamente, foram calculados de acordo com os fatores de rendimento mássico

$$c = 1 * \frac{MM \text{ glicose}}{MM \text{ Biomassa}} * Y_{x/s}$$

Equação 11: Coeficiente estequiométrico de biomassa

$$d = 1 * \frac{MM \text{ glicose}}{MM \text{ Surfactina}} * Y_{p/s}$$

Equação 12: Coeficiente estequiométrico de biomassa surfactina

MM glicose – Massa molar de glicose

MM biomassa – Massa molar de biomassa

MM Surfactina – Massa molar de surfactina

Y_{p/s} – Fator de rendimento de glicose em surfactina

c – Coeficiente estequiométrico de biomassa

d – Coeficiente estequiométrico de biomassa surfactina

O cálculo dos outros 4 coeficientes estequiométricos foram realizados resolvendo simultaneamente em Microsoft Excel os 4 balanços atômicos de C,H,N,O. Todos os coeficientes foram calculados independentemente para duas reações possíveis: a de formação de biomassa, e a da formação de surfactina. Foi desconsiderado a formação de surfactina durante a fase de crescimento, sendo a surfactina formada apenas na fase estacionária; esta simplificação está em acordo com a curva de crescimento de (YEH; WEI; CHANG, 2005) (Figura 26). Os fatores de rendimento foram utilizados conforme tópicos 3.1.9 e 3.1.10.

Formação de Biomassa – Propagação do inóculo e fermentação com borbulhamento



(Para Y_{x/s}=0.3 e Y_{p/s}=0)

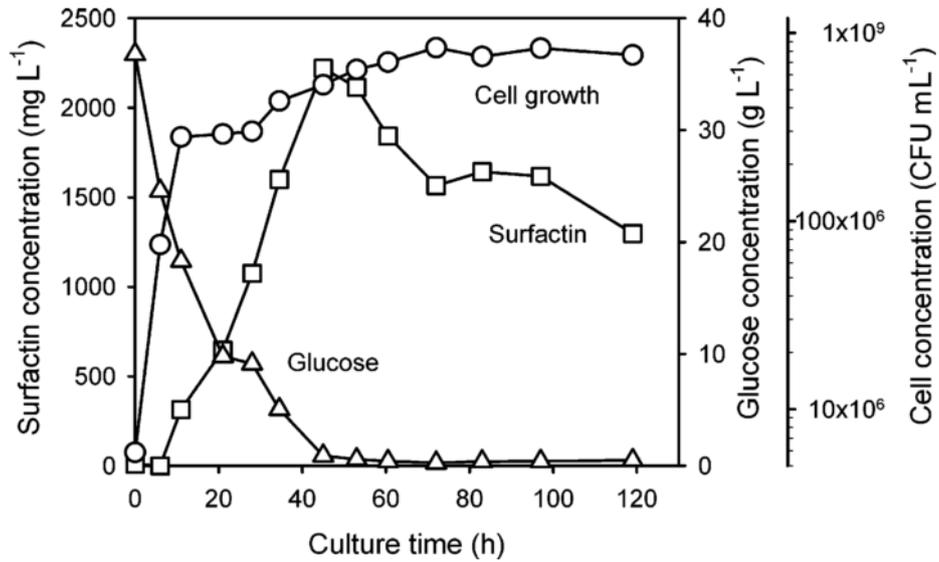
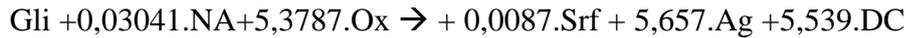


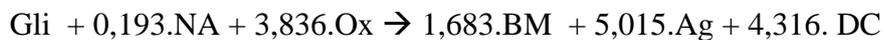
Figura 26 : Curva de crescimento típica de *Bacillus subtilis* (YEH; WEI; CHANG, 2005)

Formação de surfactina – Fermentação com Borbulhamento



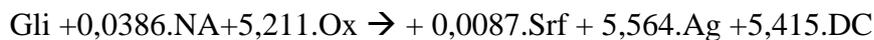
(Para $Y_{x/s}=0$ e $Y_{p/s}=0,05$)

Formação de Biomassa – (Fermentação com contactores)



(Para $Y_{x/s}=0,21$ e $Y_{p/s}=0$)

Formação de Surfactina – (Fermentação com contactores)



(Para $Y_{x/s}=0$ e $Y_{p/s}=0,063$)

Dauner; Storni; Sauer, 2001 obtiveram para o consumo de oxigênio com ensaios em quimiostato uma taxa de consumo de 20 mmol/g/h, enquanto que a taxa de geração de CO₂ ficou em torno de 20 mmol/g/h. Dessa forma, seria esperado que os coeficientes estequiométricos molares de consumo de oxigênio e dióxido de carbono seriam próximo de 3, valor distante do calculado e adotado nesse trabalho. O desvio, seria provavelmente, pela simplificação ao desconsiderar o uso de carbono nas reações formando outros produtos do metabolismo celular.

7.1.2 Concentração final de biomassa e surfactina

Foi utilizado o balanço de massa descrito abaixo para a surfactina e biomassa a fim de estimar suas concentrações finais em cada uma das reações cuja a estequiometria foi obtida no tópico acima. Posteriormente eram inseridos no simulador os resultados obtidos para a concentração final desses dois componentes e o SPD calculava o grau de avanço das reações de crescimento e produção e o balanço dos outros componentes era acessado uma vez que também eram inseridos no simulador os coeficientes estequiométricos descritos no tópico anterior.

$$tf = \int \frac{dC_{srf}}{r_p} \rightarrow C_{srf} = r_p * tf$$

Equação 13 : Tempo de fermentação baseado na produtividade

$$\frac{dX}{dt} = r_x = \mu x \cdot X \rightarrow X = X_0 \cdot e^{\mu x \cdot (tf - tlag)}$$

Equação 14 : Balanço mássico de células

tf – Tempo de fermentação

C_{srf} – Concentração de surfactina

r_p – Produtividade volumétrica de surfactina

t – tempo

X₀ – Concentração de células no início da reação

X – Concentração de células

t_{lag} – tempo de fase lag

μ_x – Taxa específica de crescimento celular

7.1.3 Meio de cultivo

Os sais do meio foram simulados como um composto único de massa molar média a partir do utilizado por (COOPER et al., 1981). Como o autor fornece concentrações molares de sais hidratados, foi ainda calculado uma composição mássica corrigida para o uso dos sais não hidratados nesse processo (Tabela 24).

Tabela 24 : Composição do meio de cultura

Sal	Concentração molar (mol/L)	Massa molar (g/gmol)	Concentração mássica (g/L)	Fração mássica
NaH ₂ PO ₄	4,00E-02	119,98	4,80E+00	4,76E-03
K ₂ HPO ₄	3,00E-02	174,20	5,23E+00	5,19E-03
MgSO ₄	8,00E-04	120,37	9,63E-02	9,56E-05
CaCl ₂	7,00E-06	110,98	7,77E-04	7,71E-07
FeSO ₄	4,00E-06	151,91	6,08E-04	6,03E-07
MnCl ₂	1,00E-06	125,84	1,26E-04	1,25E-07
Concentração de sais (g/L)				10,1
Massa molar Média dos sais (g/L)				147,98
C ₆ H ₁₂ O ₆ (g/L)				40
relação C/N desejada				9,0
NH ₄ NO ₃ (g/L)				5,31

Para a fonte de carbono foi selecionada a glicose numa com concentração de 40 g/L (COOPER et al., 1981). A fonte de nitrogênio, nitrato de amônio foi selecionado para a fermentação, a uma concentração ajustada para atingir uma relação mássica C/N de 9 (FONSECA et al., 2007). A concentração de nitrato de amônio adotada nesse trabalho (5,3 g/L) é levemente maior que a do meio (COOPER et al., 1981) (4 g/L), isso porque para simplificação dos balanços reacionais a quantidade de nitrogênio fornecida pelo extrato de peptona foi substituída pela fonte de nitrogênio inorgânica.

7.1.4 Coleta de espuma

O balanço de massa de surfactina e de biomassa nos processos com coleta de espuma foram calculados nesse tópico e as concentrações obtidas de surfactina e biomassa na espuma, bem como o volume de espuma coletado e o volume de meio restante no biorreator foram inseridos diretamente no simulador. Esse tópico descreve o equacionamento e a metodologia de cálculo empregados para obtenção desses valores a partir dos dados de enriquecimento e recuperação informados no tópico 3.1.11

O enriquecimento e recuperação no processo de coleta de espuma são definidos conforme as duas equações abaixo.

$$Srf\ enr = \frac{C_{srf\ espuma}}{C_{srf\ reator}} = \frac{m\ srf\ espuma}{m\ srf\ reator} * \frac{V\ espuma}{V\ reator}$$

Equação 15 : Definição do enriquecimento de surfactina

$$\begin{aligned} Srf\ rec &= \frac{m_{srf\ espuma}}{m_{srf\ espuma} + m_{srf\ reator}} \\ &= \frac{C_{srf\ espuma} * V\ espuma}{C_{srf\ espuma} * V\ espuma + C_{srf\ reator} * V\ reator} \end{aligned}$$

Equação 16: Definição da recuperação de surfactina

O balanço de massa de surfactina é dado pela Equação 17.

$$C_{srf} * V_{fu} = C_{srf\ espuma} * V_{espuma} + C_{srf\ reator} * V_{reator}$$

Equação 17: Balanço mássico de surfactina no fracionamento por coleta de espuma

O balanço de massa global é dado pela equação abaixo, assumindo que a massa específica da espuma é igual à do meio ao final da reação (Equação 18)

$$V_{fu} = V_{espuma} + V_{reator}$$

Equação 18: Balanço mássico global

As 4 equações anteriores foram resolvidas simultaneamente para obter 4 incógnitas: concentrações de surfactina na espuma e no biorreator, e os volumes de espuma coletado e de meio remanescente.

O balanço de células foi calculado conforme seu enriquecimento, e o seu balanço de componente, e resolvido conforme as duas equações a seguir.

$$BM_{enr} = \frac{C_{BM\ espuma}}{C_{BM\ reator}}$$

Equação 19: Definição do enriquecimento de biomassa na espuma

$$(X - X_o) * V_{fu} = C_{BM\ espuma} * V_{espuma} + C_{BM\ reator} * V_{reator}$$

Equação 20: Balanço mássico de células no fracionamento por coleta de espuma

C_{srf} – Concentração de surfactina

X_o – Concentração de células no início da reação

X – Concentração de células

$S_{rf, rec}$ – Recuperação de surfactina na espuma após fermentação

$m_{srf, espuma}$ – Massa de surfactina na espuma após fermentação

$m_{srf, reator}$ – Massa de surfactina no reator após fermentação

$c_{srf, espuma}$ – Concentração de surfactina na espuma após fermentação

$c_{srf, reator}$ – Concentração de surfactina no reator após fermentação

V_{fu} – Volume útil após a fermentação

V_{espuma} – Volume de líquido no coletor de espuma após a fermentação

V_{reator} – Volume no reator ao final da fermentação

C_{BM espuma} – Concentração de biomassa na espuma após fermentação

C_{BM reator} – Concentração de biomassa no reator após fermentação

BM_{enr} – Enriquecimento de biomassa na espuma

S_{rf enr} – Enriquecimento de surfactina na espuma

Resolvendo as equações simultaneamente, a concentração de biomassa na espuma e no biorreator foram ser calculadas. No SPD os valores de partição dos sais do meio foram tomados assumindo que eles particionam do mesmo forma que a água entre espuma e meio remanescente.

7.1.5 Aeração por contactores

O dimensionamento das membranas contactoras foi desenvolvido conforme descrito nesse tópico, e a área requerida para a aeração foi especificada diretamente no simulador. Para o cálculo da área das membranas contactoras foram usadas as equações abaixo.

A metodologia utilizada nesse trabalho e descrita por (LI et al., 2010) está detalhada abaixo e consiste em calcular o coeficiente de transferência de massa da aeração a partir dos dados de escoamento do líquido e propriedades do gás. Posteriormente a área pode ser obtida a partir da equação de projeto das membranas.

$$Re = \frac{de \cdot V_l}{\nu}$$

Equação 21: Definição do adimensional de *Reynolds*

$$Sc = \frac{\nu}{D}$$

Equação 22: Definição do adimensional de *Schmidt*

$$Sh = 0,18.Re^{0,98}.Sc^{0,33}$$

Equação 23: Modelo do número de Sherwood para aeração com contactores

$$Sh = \frac{k * de}{D}$$

Equação 24: Definição do adimensional de *Sherwood*

$$A = \frac{sOUR.Cx.V}{k.\Delta c}$$

Equação 25: Área de transferência de massa requerida

sOUR – Taxa específica de consumo de oxigênio

X – Concentração de células

V – Volume do biorreator

k – Coeficiente de transferência de massa global

Δc – Diferença de concentração de oxigênio no meio e na saturação

de – Diâmetro externo das fibras (para fluxo cruzado)

ν – Viscosidade cinemática da água

VI – Velocidade do líquido

D – Difusividade do oxigênio na água

Re – Número de Reynolds

Sh – Número de Sherwood

Sc – Número de Schmidt

A fim de validar o modelo utilizado, inicialmente, foi calculado o coeficiente de transferência de massa a partir de dados da literatura (COUTTE et al., 2010) da configuração das membranas.

Tabela 25: Dados de (COUTTE et al., 2010) para as membranas contactoras

d (m)	7.50E-04	diâmetro interno
dp (m)	6.50E-07	Diâmetro do poro
A (m ²)	2.5	Área de Contato
ni (m ² /s)	1.00E-06	Viscosidade cinemática
D (m ² /s)	2.50E-09	Difusividade
VI (m/s)	2.10E-02	Velocidade do líquido nos tubos
Q (m ³ /s)	1.67E-05	Vazão de líquido
sOUR (mg/g.s)	1.00E-04	Taxa específica de consumo de oxigênio
V (L)	4	Volume do biorreator
Cx (g/L)	2	Concentração de células na fase estacionária

A partir dos dados acima, utilizando a equação abaixo foi obtido um valor de $8,0 \cdot 10^{-5}$ m/s para o coeficiente de transferência de massa nas condições de referência.

$$k = \frac{sOUR \cdot Cx \cdot V}{A \cdot \Delta c}$$

Equação 26: Coeficiente de transferência de massa por dados de operação

Em seguida utilizando o modelo de (LI et al., 2010) obtivemos um valor de $8,2 \cdot 10^{-5}$ m/s para o coeficiente de transferência de massa, por isso foi decidido seguir com o uso do modelo.

Foi adotado uma membrana de escala industrial de custo semelhante ao realizado no scale-up por Kimball *et al.*, 2013 com custo estimado pelo autor de 30 US\$/m², e o coeficiente de transferência de massa da fase líquida foi calculado com a mesma metodologia de Li *et al.*, 2010 e considerado como igual ao coeficiente de transferência de massa global, assim como usado por Kronemberger, 2007.

7.1.6 Tanques e vasos

Os tanques e alguns dos vasos, por questão de praticidade, foram dimensionados em planilha de Microsoft Excel. Para o dimensionamento foi necessário definir o volume útil e o tempo de residência, tipicamente adotado como 1 h.

$$MTv = \frac{V_{fr,s} \cdot Tr}{\lambda t}$$

Equação 27: Dimensionamento de vasos e tanques

MTv – Volume do tanque de mistura

Tr – Tempo de residência

λt – Fração máxima de ocupação do vaso/tanque

V_{fr,s} – Vazão volumétrica de saída do vaso/tanque

7.1.7 Extração com solvente

Para o balanço de massa após extração com solvente foi manipulado o coeficiente de partição da surfactina a fim de alcançar a recuperação desejada. O coeficiente de partição da água foi estimado a partir do software VRTherm, e os íons foram considerados particionando da mesma forma que a água. O coeficiente de partição é definido conforme abaixo.

$$K_i = \frac{y_i}{x_i}$$

Equação 28: Definição de coeficiente de partição para processos de extração

K_i – Coeficiente de partição em processo genérico de extração líquido-líquido

y_i – Fração molar do componente i na fase leve

x_i – Fração molar do componente i na fase pesada

7.1.8 Filtros

Dependendo da fonte em que o processo de filtração foi baseado, os dados operacionais disponíveis podiam ser vazão e área, e/ou permeabilidade e diferença de pressão. Nesses casos o fluxo volumétrico, parâmetro necessário para entrada no simulador foi calculado conforme abaixo. Na análise de sensibilidade, o efeito da variabilidade do fluxo na área requerida dos módulos de filtração foi calculado diretamente também usando a equação abaixo.

$$j = \frac{Q}{A} = k \cdot \Delta p$$

Equação 29: Definição de fluxo volumétrico nos processos de filtração

Δp – Gradiente de pressão em processo de filtração genérico

k – Permeabilidade em processo de filtração genérico

J – Fluxo volumétrico em processo de filtração genérico

Q – Vazão volumétrica em processo de filtração genérico

A – Área total das membranas contactoras

Como o simulador requer a inserção da retenção para os balanços de massa dos processos de filtração, a definição abaixo foi usada principalmente para calcular a retenção de biomassa e surfactina suficientes para atingir as concentrações reportadas na literatura em cada caso.

$$R = 1 - \frac{C_p}{C_f}$$

Equação 30 : Definição de retenção nos processos de filtração

R – Retenção em processo de filtração

C_p – Concentração no permeado em processo de filtração

C_f – Concentração na alimentação em processo de filtração

7.1.9 Scheduling dos biorreatores

As equações descritas nessa seção foram utilizadas para dimensionar os biorreatores de forma a garantir uma vazão contínua da etapa de fermentação, garantindo o processamento contínuo no *Downstream*. A metodologia e o equacionamento são os mesmos utilizados e descritos por Koutinas *et al.*, 2014 e Koutinas *et al.*, 2016.

Para um tempo de fermentação definido (t_f) e um tempo de carregamento (t_l) as Equação 31 e Equação 32 são resolvidas para obter um volume de biorreator típico fornecido por fabricantes, e que possua um volume útil conforme o esperado para o processo.

$$T_u = \frac{T_l + T_f}{Nb - 1}$$

Equação 31 : Tempo de processamento após carregamento do biorreator

$$\lambda_{bf} = \frac{T_u \cdot V_{fr}}{V_b}$$

Equação 32 : Fração de ocupação do biorreator

Essas equações asseguram um planejamento do processo que possa entregar uma vazão média contínua para operação unitária seguinte. Caso o tempo de *uploading* (T_u) calculado para a operação seja maior que o tempo de enchimento do biorreator, então no simulador será alterado o tempo do ciclo de batelada, conforme a equação abaixo para garantir que após enchimento haja um tempo de espera para a sincronização e início de operação do biorreator.

$$T_b = T_u + T_l + T_f$$

Equação 33 : Tempo de ciclo de um biorreator

t_f – Tempo de fermentação

t_u – Tempo de processamento depois do reator (*uploading*)

t_l – Tempo de processamento antes do reator

t_b – Tempo da batelada do biorreator

V_{fr} – Vazão volumétrica de esvaziamento do biorreator

λ_{bf} = Ocupação percentual do biorreator ao final da fermentação

N_b -Número de biorreatores em paralelo

7.2 Fluxogramas no simulador

Nas Figura 27 a Figura 30 são mostrados como ilustração o *layout* dos fluxogramas dos 4 cenários no *SuperProDesigner*. Apenas os equipamentos principais foram simulados, equipamentos menores como bombas e silos pequenos foram, em sua maioria, negligenciados. Os tanques e alguns dos vasos foram dimensionados à parte em planilha de Microsoft Excel.

7.3 Lista de equipamentos

Os cálculos de custos fixos de investimentos foram realizados em Microsoft Excel a partir do dimensionamento dos equipamentos no SPD. Na planilha a metodologia descrita no tópico 3.2.1 foi realizada, para cada equipamento uma referência para o cálculos com custos baseados em cotação prévia foi utilizada, e X é parâmetro crítico teórico do equipamento obtido na simulação (por exemplo, volume para vasos, área para filtros, e assim por diante); a unidade do parâmetro consta ao final da descrição de cada equipamento.

Como resultado dos cálculos na tabela dois valores são obtidos. O primeiro é o custo de compra do equipamento ($C_{p,t \text{ tot}}$), calculado após a multiplicação do custo do equipamento pelo fator de Lang de 5; posteriormente a soma de todos valores resultam no custo fixo máximo de investimento. O segundo é o custo de compra e instalação do equipamento ($C_{p,t \text{ tot Inst}}$), calculado após a multiplicação do custo do equipamento pelo fator de Lang de 1,6; posteriormente a soma de todos os valores resultam no custo fixo máximo de investimento.

A metodologia descrita acima foi realizada para todas as 36 simulações, entretanto a título de ilustração, nesse tópico são apresentadas as tabelas referentes a condição operacional de 5 t/ano e $18 \text{ mg.L}^{-1}\text{h}^{-1}$ para cada um dos 4 cenários (Tabela 26 a Tabela 29).

7.4 Lista de OPEX

Os cálculos de custos variáveis foram realizados em Microsoft Excel a partir do do consumo de utilidades, consumo de matérias-primas e mão-de-obra (calculado a partir do número de equipamentos) obtidos no SPD. Na planilha a metodologia descrita nos tópicos 3.2.2, 3.2.3, e 3.2.4 foi realizada e como resultado uma tabela a contendo os três gastos variáveis de cada processo foi calculado; posteriormente esses valores são convertidos em um valor único que representa o custo total variável para a manufatura (conforme descrito no tópico 3.2.5).

A metodologia descrita foi realizada para todas as 36 simulações, entretanto a título de ilustração, nesse tópico são apresentadas as tabelas referentes a condição operacional de 5 t/ano e $18 \text{ mg.L}^{-1}\text{h}^{-1}$ para cada um dos 4 cenários (Tabela 30 a Tabela 33).

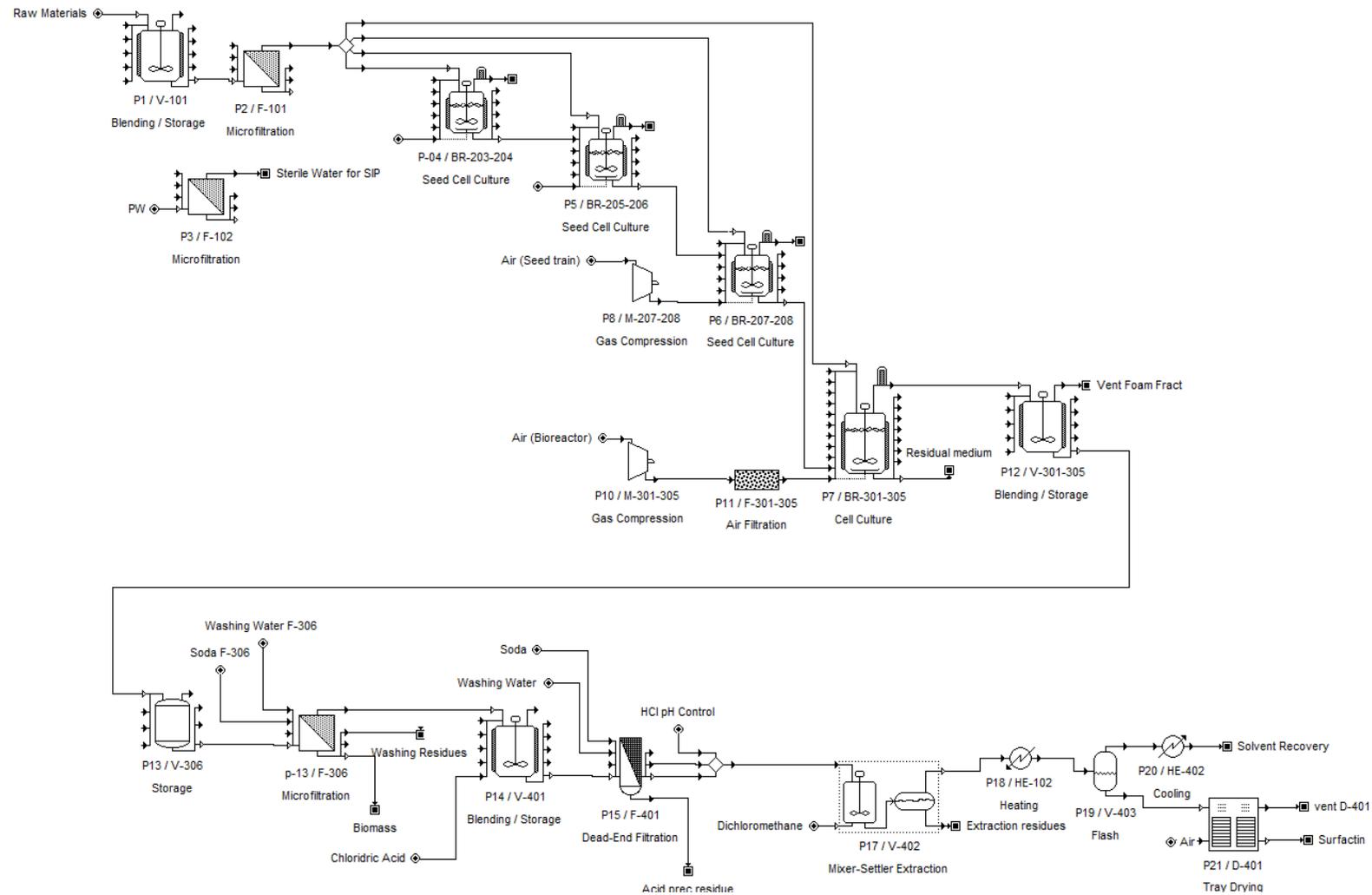


Figura 27: Layout do processo do cenário 1 e principais equipamentos simulado no SPD

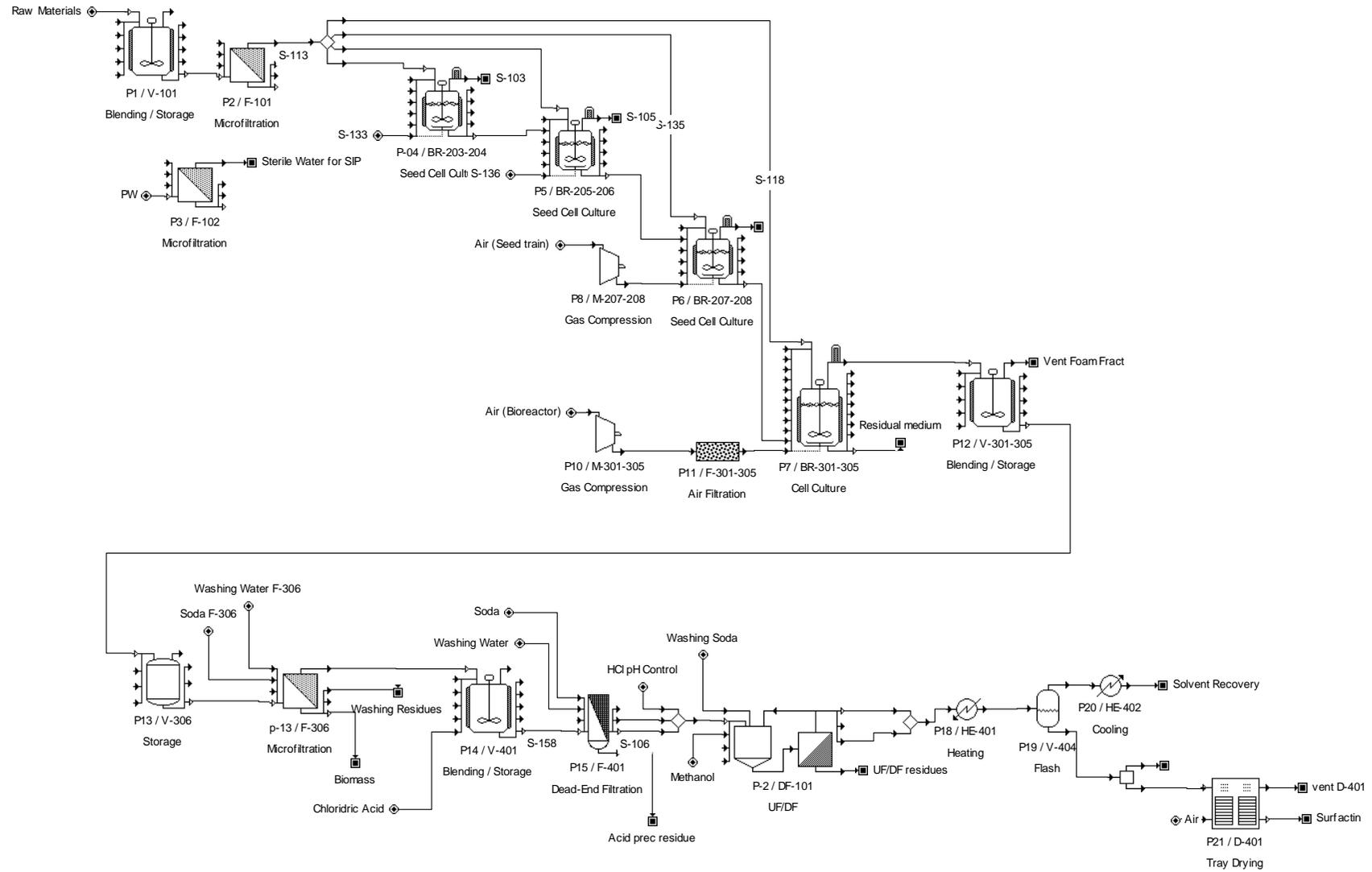


Figura 28: Layout do processo do cenário 2 e principais equipamentos simulado no SPD

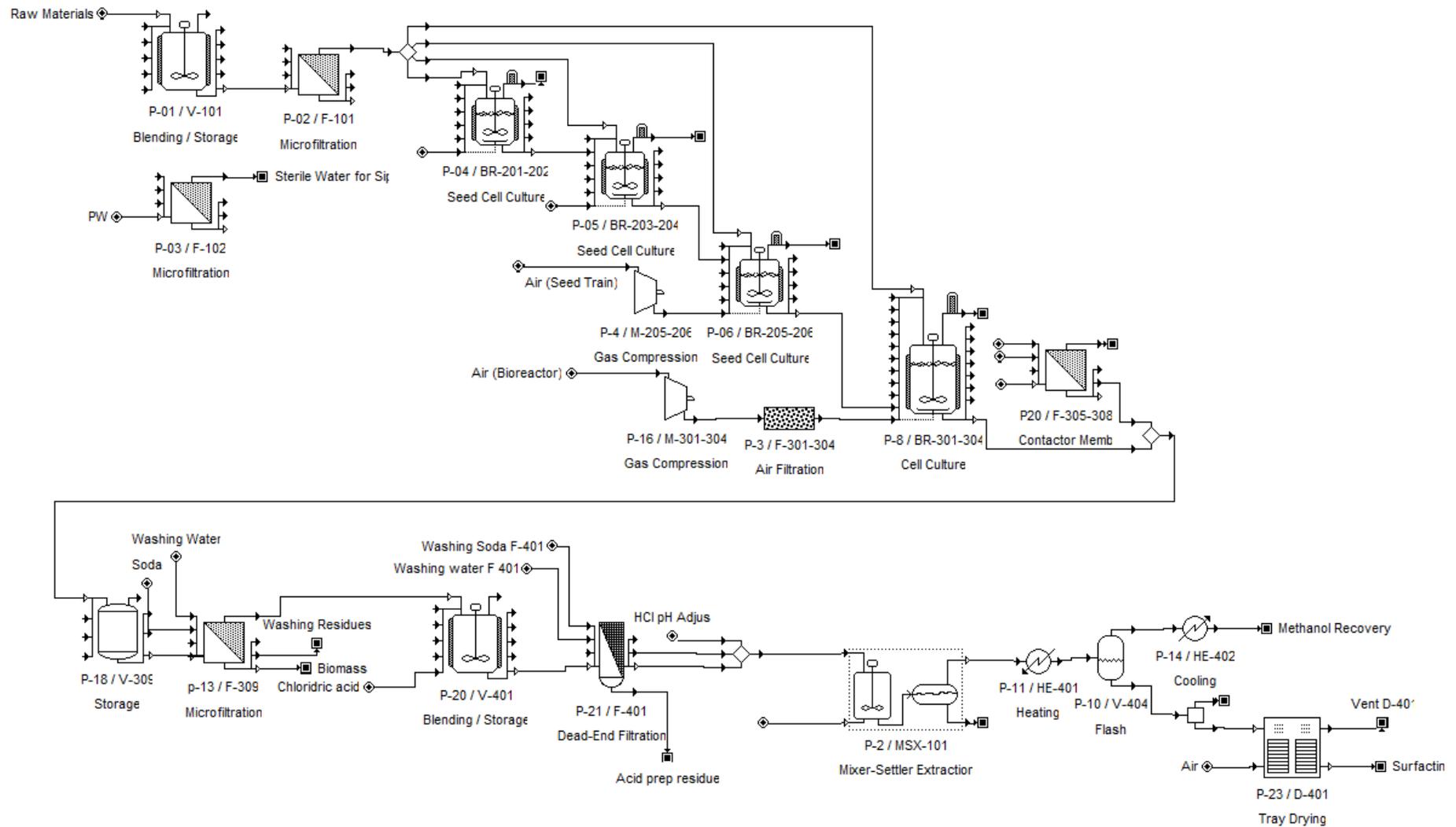


Figura 29: Layout do processo do cenário 3 e principais equipamentos simulado no SPD

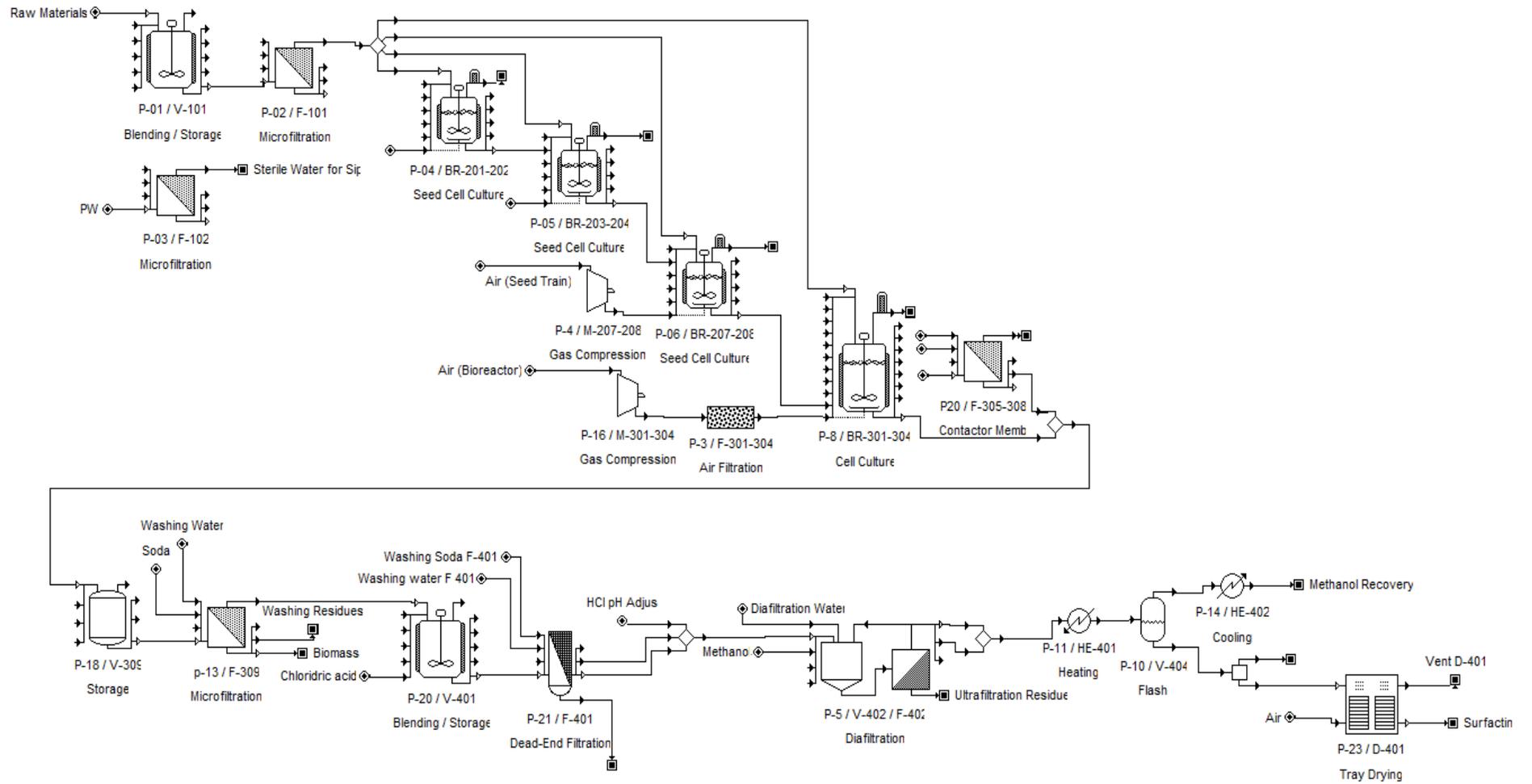


Figura 30: Layout do processo do cenário 4 e principais equipamentos simulado no SPD

Tabela 26: Custos fixos do cenário 1 (5 t/ano e 18 mg.L⁻¹.h⁻¹)

Equipamento	Descrição	Referência	X	Cp,t tot (kUS\$)	Cp,t tot Inst (kUS\$)
ÁREA 100					
Tanque	TT 102 - Aço Carbono - gal	NREL 2011	135.947	183	476
Tanque	TT 103 - Aço Carbono - gal	Garret 1989	16.252	38	60
Tanque	TT 104 - Aço Inox SS 304 - gal	Garret 1989	101.674	219	346
Vaso	V 101 - Aço Carbono - L/D=3 - gal	NREL 2006	462	19	50
Vaso	V 101 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	3,7	3,9	5,8
Filtro	F 101 - Módulo para MF de meio - m ²	PAM	12	31	53
Filtro	F 102 - Módulo para MF de água - m ²	PAM	63	31	53
ÁREA 200					
Biorreator	BR 203-204 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	6,0	36	65
Biorreator	BR 205-206 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	60	86	155
Biorreator	BR 207-208 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	538	102	183
Biorreator	BR 207-208 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	5,5	20	33
Compressor	M 205-206- Aço carbono - pressão de saída = 25psig - SCFM	Garret 1989	24	73	116
ÁREA 300					
Biorreator	BR 301-305 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	7.699	522	1.045
Biorreator	BR 301-305 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	47	271	433
Compressor	M 301-305- Aço carbono e acessórios - pressão de saída = 40 psig - SCFM	Garret 1989	252	296	474
Vaso	V 301-305 - Aço Inox SS 306	NREL 2006	1.228	167	283
Vaso	V 306 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	1,3	18	29
Vaso	V 306 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2011	82	17	29
Filtro	F 301-305 - Filtro de Ar - SCFM	SPD built-in	252	43	72
Filtro	F 309 - Módulo de Microfiltração - m ²	PAM	5,3	2,7	4,5
ÁREA 400					
Vaso	V 401 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	75	16	28
Vaso	V 402 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	9.563	122	208
Vaso	V 403 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	399	35	59
Trocador de Calor	HE 401- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	NREL 2006	1,2	12	35
Trocador de Calor	HE 402- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	NREL 2006	5	34	95
Secador	D 401 - Secador com Bandejas de aço inoxidável - m ²	SPD built-in	16	109	179
Filtro	F 401 - Filtro cartucho de aço inoxidável - m ²	PAM	0,6	1,5	2,5

Tabela 27: Custos fixos do cenário 2 (5 t/ano e 18 mg.L⁻¹.h⁻¹)

Equipamento	Descrição	Referência	X	Cp,t tot (kUS\$)	Cp,t tot Inst (kUS\$)
ÁREA 100					
Tanque	TT 102 - Aço Carbono - gal	NREL 2011	28166	61	158
Tanque	TT 103 - Aço Carbono - gal	NREL 2011	25611	57	148
Tanque	TT 104 - Aço Inox SS 304 - gal	NREL 2011	37638	164	295
Vaso	V 101 - Aço Carbono - L/D=3 - gal	NREL 2006	462	19	50
Vaso	V 101 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	3,7	3,9	5,8
Filtro	F 101 - Módulo para MF de esterilização de meio - m ²	PAM	10	17	28
Filtro	F 102 - Módulo para MF de esterilização de água - m ²	PAM	304	36	62
ÁREA 200					
Biorreator	BR 203-204 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	5,9	36	65
Biorreator	BR 205-206 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	61	86	155
Biorreator	BR 207-208 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	601	102	183
Biorreator	BR 207-208 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	5,5	20	33
Compressor	M 205-206- Aço carbono - pressão de saída = 25psig - SCFM	Garret 1989	24	73	116
ÁREA 300					
Biorreator	BR 301-305 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	7219	522	1045
Biorreator	BR 301-305 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	33	271	433
Compressor	M 301-305- Aço carbono e acessórios - pressão de saída = 40 psig - SCFM	Garret 1989	252	296	474
Vaso	V 301-305 - Aço Inox SS 306	NREL 2006	911	167	283
Vaso	V 306 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	1,3	102	164
Vaso	V 306 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2011	78	17	29
Filtro	F 301-305 - Filtro de Ar - SCFM	SPD built-in	252	43	72
Filtro	F 309 - Módulo de Microfiltração - m ²	PAM	5,5	2,7	4,5
ÁREA 400					
Vaso	V 401 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	77	17	28
Vaso	V 402 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	123	23	39
Vaso	V 403 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	38	10	17
Vaso	V 404 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	32	9,0	15
Trocador de Calor	HE 401- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	NREL 2006	0,5	6,8	25
Trocador de Calor	HE 402- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	NREL 2006	1,7	16	19
Secador	D 401 - Secador com Bandejas de aço inoxidável - m ²	SPD built-in	13	107	175
Filtro	F 401 - Filtro cartucho de aço inoxidável - m ²	PAM	1,7	4,3	7,2
Filtro	F 402 - Sistema de diafiltração de aço inoxidável SS316 para Ultrafiltração - m ²	PAM	29	8,6	15

Tabela 28: Custos fixos do cenário 3 (5 t/ano e 18 mg.L⁻¹.h⁻¹)

Equipamento	Descrição	Referência	X	Cp,t tot (kUS\$)	Cp,t tot Inst (kUS\$)
ÁREA 100					
Tanque	TT 102 - Aço Carbono - gal	NREL 2011	43251	82	213
Tanque	TT 103 - Aço Carbono - gal	Garret 1989	18236	40	64
Tanque	TT 104 - Aço Inox SS 304 - gal	Garret 1989	41398	130	205
Vaso	V 101 - Aço Carbono - L/D=3 - gal	NREL 2006	462	19	50
Vaso	V 101 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	3,7	3,9	5,8
Filtro	F 101 - Módulo para MF de tratamento de água - m ²	PAM	12	31	53
Filtro	F 102 - Módulo para MF de tratamento de água - m ²	PAM	87	44	74
ÁREA 200					
Biorreator	BR 203-204 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	6,0	18	33
Biorreator	BR 205-206 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	60	86	155
Biorreator	BR 207-208 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	538	102	183
Biorreator	BR 207-208 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	5,5	20	33
Compressor	M 205-206- Aço carbono - pressão de saída = 25psig - SCFM	Garret 1989	18	71	114
ÁREA 300					
Biorreator	BR 301-304 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes	NREL 2011	7373	407	814
Bomba	P 301-304 - Bomba de circulação de aço inoxidável TDH=245 ft - gpm - SS316	NREL 2011	1,8	10	16
Compressor	M 301-304- Compressor de aço carbono - pressão de saída = 20psig - SCFM	Garret 1989	472	283	453
Vaso	V 301 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	562	44	75
Filtro	F 301-305 - Filtro de Ar - SCFM	SPD built-in	472	34	57
Filtro	F 305-308 - Módulo de Fibra oca para contactoras - m ²	PAM	10	462	785
Filtro	F 309 - Módulo de Microfiltração - m ²	PAM	40	40	67
ÁREA 400					
Vaso	V 401 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	452	38	65
Vaso	V 402 - Aço Inox SS 306 - gal	Garret 1989	22267	131	222
Trocador de Calor	HE 401- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	NREL 2006	1,8	17	48
Trocador de Calor	HE 402- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	NREL 2006	9,1	47	132
Secador	D 401 - Secador com Bandejas de aço inoxidável - m ²	SPD built-in	8,4	81	133
Filtro	F 401 - Filtro cartucho de aço inoxidável - m ²	PAM	7,3	7,3	12

Tabela 29: Custos fixos do cenário 4 (5 t/ano e 18 mg.L⁻¹.h⁻¹)

Equipamento	Descrição	Referência	X	Cp,t tot (kUS\$)	Cp,t tot Inst (kUS\$)
ÁREA 100					
Tanque	TT 102 - Aço Carbono - gal	NREL 2011	107955	156	405
Tanque	TT 103 - Aço Carbono - gal	Garret 1989	16252	38	60
Tanque	TT 104 - Aço Inox SS 304 - gal	Garret 1989	1882	22	34
Vaso	V 101 - Aço Carbono - L/D=3 - gal	NREL 2006	462	19	50
Vaso	V 101 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	3,7	3,9	5,8
Filtro	F 101 - Módulo para MF de meio - m ²	PAM	12	31	53
Filtro	F 102 - Módulo para MF de tratamento de água - m ²	PAM	63	31	53
ÁREA 200					
Biorreator	BR 203-204 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	6,0	36	65
Biorreator	BR 205-206 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	60	86	155
Biorreator	BR 207-208 - Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes - gal	NREL 2011	615	110	198
Biorreator	BR 207-208 -Impelidor de Aço Inox SS 304 - HP	NREL 2011	4,2	18	28
Compressor	M 205-206- Aço carbono - pressão de saída = 25psig - SCFM	Garret 1989	24	73	116
ÁREA 300					
Biorreator	BR 301-304 -Aço Inox SS 304 incluso serpentina e suportes	NREL 2011	7373	407	814
Bomba	P 301-304 - Bomba de circulação de aço inoxidável TDH=245 ft - gpm - SS316	NREL 2011	1,8	10	22
Compressor	M 301-304- Compressor de aço carbono - pressão de saída = 20psig - SCFM	Garret 1989	472	283	453
Vaso	V 301 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	531	24	41
Filtro	F 301-305 - Filtro de Ar - SCFM	SPD built-in	472	40	68
Filtro	F 305-308 - Módulo de Fibra oca para contactoras - m ²	Kimball 2019	10	462	785
Filtro	F 309 - Módulo de Microfiltração - m ²	PAM	38	9	16
ÁREA 400					
Vaso	V 401 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	558	22	37
Vaso	V 402 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	867	25	43
Vaso	V 403 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	71	16	27
Vaso	V 404 - Aço Inox SS 306 - gal	NREL 2006	189	10	17
Trocador de Calor	HE 401- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	NREL 2006	0,7	8,6	29
Trocador de Calor	HE 402- Trocador de Calor casco e tubos - Aço Inox SS 306 - m ²	NREL 2006	1,6	15	24
Secador	D 401 - Secador com Bandejas de aço inoxidável - m ²	SPD built-in	6,9	84	138
Filtro	F 401 - Filtro cartucho de aço inoxidável - m ²	PAM	7,8	2,0	3,3
Filtro	F 402 - Sistema de diafiltração de aço inoxidável SS316 para Ultrafiltração - m ²	PAM	60	24	41

Tabela 30: Custos variáveis do cenário 1 (5 t/ano e 18 mg.L⁻¹.h⁻¹)

Utilidade	Consumo	Custo operacional (kUS\$/y)
Água de Processo (t/y)	381.022	27
Energia Elétrica (kWh/y)	2.312.801	14
Vapor de Baixa pressão (t/y)	1.884	23,9
Água de resfriamento (t/y)	480.129	33,6
Membrana MF 0.45 µm F-101 (m ² /y)	1,3	0,04
Membrana MF 0.45 µm F-102 (m ² /y)	14,6	0,41
Membrana MF 0.22 µm F-306 (m ² /y)	1,1	0,03
Filtro Cartucho 0.22 µm F-401 (m ² /y)	0,1	0,001
Custo total de utilidades (MUS\$/y)		0,10
Matéria Prima	Consumo anual (t/y)	Custo do componente (US\$/kg)
NaH ₂ PO ₄	55,4	2,12
K ₂ HPO ₄	60,4	2,30
MgSO ₄	1,1	0,64
CaCl ₂	0,009	3,98
FeSO ₄	0,007	0,42
MnCl ₂	0,001	4,37
NH ₄ NO ₃	60,8	3,22
C ₆ H ₁₂ O ₆	467,8	1,51
HCl 1M	14	0,01
CH ₂ Cl ₂	589	0,70
NaOH 0.5M	25.939	0,003
NaOCl 100 ppm	385.091	0,00007
Custo Total de Matérias-Primas (MUS\$/y)		1,70
Equipamento	Mão de obra/equipamento/turno	Unidades
Vaso	0,2	10
Bioreatores inóculo	0,1	6
Bioreator principal	0,3	5
Compressor inóculo	0,1	2
Compressor principal	0,2	5
Filtro	0,2	4
Tanques/Silos	0,1	3
Secagem	0,2	1
Total de trabalhadores por turno requeridos		6,6
Trabalhadores/Turno		4,5
Total de trabalhadores contratados		30
Custo total de mão-de-obra (MUS\$/y)		1,20

Tabela 31: Custos variáveis do cenário 2 (5 t/ano e 18 mg.L⁻¹.h⁻¹)

Utilidade	Consumo	Custo operacional (kUS\$/y)
Água de Processo (t/y)	456.987	32
Energia Elétrica (kWh/y)	1.781.487	11
Vapor de Baixa pressão (t/y)	5.831	74,1
Água de resfriamento (t/y)	389.459	27,3
Membrana MF 0.45 µm F-101 (m ² /y)	1,2	0,03
Membrana MF 0.45 µm F-102 (m ² /y)	35,3	0,99
Membrana MF 0.22 µm F-306 (m ² /y)	3	0,08
Filtro RC 10 kDa F-402	14,4	1,20
Filtro Cartucho 0.22 µm F-401 (m ² /y)	0,85	0,01
Custo total de utilidades (MUS\$/y)	0,15	
Matéria Prima	Consumo anual (t/y)	Custo do componente (US\$/kg)
NaH ₂ PO ₄	55,4	2,12
K ₂ HPO ₄	60,4	2,30
MgSO ₄	1,1	0,64
CaCl ₂	0,009	3,98
FeSO ₄	0,007	0,42
MnCl ₂	0,001	4,37
NH ₄ NO ₃	60,8	3,22
C ₆ H ₁₂ O ₆	468,0	1,51
HCl 1M	11	0,46
CH ₃ OH	33	0,70
NaOH 0.5M	33.948	0,003
NaOCl 100 ppm	405.088	0,00007
Custo Total de Matérias-Primas (MUS\$/y)	1,30	
Equipamento	Mão-de-obra/equipamento/turno	Unidades
Vaso	0,2	11
Bioreatores inóculo	0,1	6
Bioreator principal	0,3	5
Compressor inóculo	0,1	2
Compressor principal	0,2	5
Filtro	0,2	5
Tanques/Silos	0,1	3
Secagem	0,2	1
Total de trabalhadores por turno requeridos	7,0	
Trabalhadores/Turno	4,5	
Total de trabalhadores contratados	32	
Custo total de mão-de-obra (MUS\$/y)	1,28	

Tabela 32: Custos variáveis do cenário 3 (5 t/ano e 18 mg.L⁻¹.h⁻¹)

Utilidade	Consumo	Custo operacional (kUS\$/y)
Água de Processo (t/y)	1.121.921	79
Energia Elétrica (kWh/y)	3.079.359	185
Vapor de Baixa pressão (t/y)	4.111	52,2
Água de resfriamento (t/y)	358.738	25,1
Membrana MF 0.45 um F-101 (m ² /y)	1,4	0,04
Membrana MF 0.45 um F-102 (m ² /y)	17,5	0,49
Membrana MF 0.45 um F-305-308 (m ² /y)	3.078	86,2
Membrana MF 0.45 um F-309 (m ² /y)	6,4	0,18
Filtro Cartucho 2.5 um F-401 (m ² /y)	1,46	0,01
Custo total de utilidades (MUS\$/y)		0,43
Matéria Prima	Consumo anual (t/y)	Custo do componente (US\$/kg)
NaH ₂ PO ₄	55,4	2,12
K ₂ HPO ₄	60,4	2,30
MgSO ₄	1,1	0,64
CaCl ₂	0,009	3,98
FeSO ₄	0,007	0,42
MnCl ₂	0,001	4,37
NH ₄ NO ₃	60,8	3,22
C ₆ H ₁₂ O ₆	467,8	1,51
HCl 1M	1.379	0,01
CH ₂ Cl ₂	3.539	0,27
NaOH 0.5M	92.066	0,003
NaOCl 100 ppm	244.357	0,00007
Custo Total de Matérias-Primas (MUS\$/y)		2,44
Equipamento	Mão deobra/equipamento/turno	Unidades
Vaso	0,2	6
Bioreatores inóculo	0,1	6
Bioreator principal	0,3	4
Compressor inóculo	0,1	2
Compressor principal	0,2	4
Filtro	0,2	9
Tanques/Silos	0,1	3
Secagem	0,2	1
Total de trabalhadores por turno requeridos		6,3
Trabalhadores/Turno		4,5
Total de trabalhadores contratados		29
Custo total de mão-de-obra (MUS\$/y)		1,16

Tabela 33: Custos variáveis do cenário 4 (5 t/ano e 18 mg.L⁻¹.h⁻¹)

Utilidade	Consumo	Custo operacional (kUS\$/y)
Água de Processo (t/y)	1.623.206	114
Energia Elétrica (kWh/y)	3.081.398	185
Vapor de Baixa pressão (t/y)	1.339	17,0
Água de resfriamento (t/y)	378.690	26,5
Membrana MF 0.45 um F-101	2,5	0,07
Membrana MF 0.45 um F-102	12,5	0,35
Membrana MF 0.45 um F-301-304	3.078	86,2
Membrana MF 0.45 um F-305	7,5	0,21
Filtro Cartucho 2.5 um F-402	1,56	0,02
Filtro RC 10 kDa F-402	12	1,00
Custo total de utilidades (MUS\$/y)		0,43
Matéria Prima	Consumo anual (t/y)	Custo do componente (US\$/kg)
NaH ₂ PO ₄	55,4	2,12
K ₂ HPO ₄	60,4	2,30
MgSO ₄	1,1	0,64
CaCl ₂	0,009	3,98
FeSO ₄	0,007	0,42
MnCl ₂	0,001	4,37
NH ₄ NO ₃	60,8	3,22
C ₆ H ₁₂ O ₆	467,8	1,51
HCl 1M	1.379	0,01
CH ₃ OH	3.539	0,27
NaOH 0.5M	92.066	0,003
NaOCl 100 ppm	244.357	0,00007
Custo Total de Matérias-Primas (MUS\$/y)		2,44
Equipamento	Mão de obra/equipamento/turno	Unidades
Vaso	0,2	6
Bioreatores inóculo	0,1	4
Bioreator principal	0,3	6
Compressor inóculo	0,1	4
Compressor principal	0,2	9
Filtro	0,2	3
Tanques/Silos	0,1	1
Secagem	0,2	6
Total de trabalhadores por turno requeridos		7,5
Trabalhadores/Turno		4,5
Total de trabalhadores contratados		34
Custo total de mão-de-obra (MUS\$/y)		1,36

7.5 Lista de EVTE

O resultado final compilado das 36 simulações é apresentado nesse tópico, na Tabela 34 a Tabela 37. Nelas destacam-se os custos fixos (CAPEX), o custo total de manufatura, bem como os parâmetros representativos da análise econômica, principalmente o VPL ao final do tempo de projeto.

Tabela 34: Resumo do EVTE das simulações do cenário 1

P (t/ano)	5	1	10	5	1	10	5	1	10
rp (mg/L.h)	18	18	18	10	10	10	50	50	50
FCI Área 100 (MUS\$)	1,6	0,6	2,3	2,6	0,7	3,9	0,7	0,3	0,7
FCI Área 200 (MUS\$)	1,2	1,0	1,5	1,3	1,3	1,4	1,1	0,4	0,9
FCI Área 300 (MUS\$)	5,6	1,6	6,1	6,2	2,4	8,3	2,0	1,5	3,3
FCI Área 400 (MUS\$)	1,3	0,6	1,7	1,6	0,7	2,6	0,7	0,4	1,0
CAPEX (MUS\$)	9,6	3,8	11,6	11,6	5,1	16,4	4,5	2,6	6,0
Matéria - Prima (MUS\$/y)	1,7	0,4	3,3	3,0	0,6	5,8	0,7	0,1	0,9
Mão-de-obra (MUS\$/y)	1,2	0,64	1,1	1,2	0,6	1,4	0,7	0,6	0,8
OPEX (MUS\$/y)	6,7	2,7	9,0	8,7	3,2	14,2	3,4	2,1	4,2
Manufatura (US\$/kg)	1.346	2.718	903	1.750	3.196	1.417	679	2.116	420
MSP (US\$/kg)	2.006	3.974	1.286	2.537	5.171	1.959	985	2.974	617
PBT (ano)	2 5	-	1 6	3 3	-	2 3	1 2	4 5	1 7
PBDT (ano)	3 2	-	1 8	4 9	-	2 9	1 3	9 0	1 8
TIR	43%	-	83%	28%	-	49%	117%	18%	175%
VPL (MUS\$)	14,8	-2,4	49,2	7,5	-5,9	30,9	28,1	0,3	67,3

Tabela 35 : Resumo do EVTE das simulações do cenário 2

P (t/ano)	5	1	10	5	1	10	5	1	10
rp (mg/L.h)	18	18	18	10	10	10	50	50	50
FCI Área 100 (MUS\$)	1,7	0,5	2,5	2,3	0,6	3,8	0,6	0,4	1,0
FCI Área 200 (MUS\$)	0,9	0,6	1,0	1,1	0,9	1,9	0,8	0,7	1,1
FCI Área 300 (MUS\$)	5,2	2,1	5,9	5,4	3,1	8,0	3,2	1,8	3,7
FCI Área 400 (MUS\$)	1,0	0,7	1,0	1,1	0,6	1,5	0,7	0,5	0,9
CAPEX (MUS\$)	8,8	4,0	10,4	9,9	5,1	15,2	5,3	3,4	6,7
Matéria - Prima (MUS\$/y)	1,5	0,4	2,7	2,5	0,5	5,0	0,5	0,5	1,1
Utilidades (MUS\$/y)	0,15	0,12	0,23	0,20	0,15	0,34	0,15	0,15	0,14
Mão-de-obra (MUS\$/y)	1,4	1,3	1,4	1,3	1,4	1,6	1,4	1,4	1,3
OPEX (MUS\$/y)	6,8	4,3	8,6	8,1	5,1	13,0	5,2	4,8	5,7
Manufatura (US\$/kg)	1.356	4.314	862	1.614	5.135	1.299	1.033	4.814	573
MSP (US\$/kg)	2.113	5.923	1.282	2.410	7.219	1.915	1.472	6.174	844
PBT (ano)	2 6	-	1 3	3 0	-	2 2	1 5	-	0 8
PBDT (ano)	3 4	-	1 5	4 3	-	3 9	1 7	-	0 9
TIR	43%	-	90%	34%	-	52%	84%	-	148%
VPL (MUS\$)	13,5	-7,7	49,3	8,9	-11	32,1	21,7	-8,3	61,2

Tabela 36: Resumo do EVTE das simulações do cenário 3

P (t/ano)	5	1	10	5	1	10	5	1	10
rp (mg/L.h)	18	18	18	10	10	10	50	50	50
FCI Área 100 (MUS\$)	2,0	0,6	1,8	2,1	1,1	2,9	1,0	0,6	1,9
FCI Área 200 (MUS\$)	1,2	0,7	1,0	1,2	0,9	1,6	0,8	0,6	1,0
FCI Área 300 (MUS\$)	3,2	1,5	3,8	3,1	3,1	5,6	2,1	0,8	2,5
FCI Área 400 (MUS\$)	1,6	1,7	1,8	1,5	1,1	2,0	0,8	0,6	1,0
CAPEX (MUS\$)	8,0	4,6	8,3	7,9	6,1	12,2	4,7	2,6	6,4
Matéria - Prima (MUS\$/y)	3,0	1,3	5,5	4,8	1,1	7,8	1,8	0,3	2,3
Utilidades (MUS\$/y)	1,31	0,10	0,72	1,04	0,33	1,20	0,27	0,49	0,78
Mão-de-obra (MUS\$/y)	1,3	1,1	1,3	1,3	1,3	1,3	1,4	1,0	1,2
OPEX (MUS\$/y)	9,7	5,1	12,1	11,5	5,8	16,2	6,6	3,8	7,6
Manufatura (US\$/kg)	1.943	5.112	1.211	2.305	5.795	1.623	1.324	3.773	762
MSP (US\$/kg)	2.470	6.646	1.487	2.827	7.814	2.026	1.628	4.625	975
PBT (ano)	3 0	-	1 2	3 8	-	2 0	1 5	-	0 8
PBDT (ano)	4 0	-	1 3	5 5	-	2 4	1 6	-	0 9
TIR	31%	-	96%	25%	-	57%	83%	-	145%
VPL (MUS\$)	8,6	-9,6	43,8	3,7	-13	29,1	19,9	-4,1	57,6

Tabela 37 : Resumo do EVTE das simulações do cenário 4

P (t/ano)	5	1	10	5	1	10	5	1	10
rp (mg/L.h)	18	18	18	10	10	10	50	50	50
FCI Área 100 (MUS\$)	2,1	0,5	3,8	2,2	1,2	3,6	1,5	0,5	2,2
FCI Área 200 (MUS\$)	1,2	0,5	1,4	1,6	0,7	1,3	0,7	0,4	0,9
FCI Área 300 (MUS\$)	4,9	1,6	8,4	7,6	2,5	12,9	2,5	1,0	3,8
FCI Área 400 (MUS\$)	1,0	0,7	1,7	1,0	1,0	1,8	0,8	0,6	1,3
CAPEX (MUS\$)	9,2	3,3	15,3	12,5	5,3	19,7	5,4	2,5	8,3
Matéria - Prima (MUS\$/y)	2,4	0,4	3,6	2,9	0,9	5,7	0,9	0,3	1,7
Utilidades (MUS\$/y)	0,43	0,09	1,29	0,70	0,44	1,69	0,43	0,10	0,86
Mão-de-obra (MUS\$/y)	1,28	0,8	1,16	1,44	0,8	1,8	1,08	0,72	1,16
OPEX (MUS\$/y)	8,16	3,07	11,44	10,04	4,46	16,84	5,12	2,56	7,35
Manufatura (US\$/kg)	1.632	3.067	1.144	2.008	4.464	1.684	1.024	2.559	735
MSP (US\$/kg)	2.337	4.282	1.703	2.934	6.450	2.387	1.418	3.484	1.043
PBT (ano)	2 7	-	2 0	4 5	-	3 0	1 5	-	1 0
PBDT (ano)	3 0	-	2 2	7 5	-	4 0	1 6	-	1 2
TIR	50%	-	59%	20%	-	34%	82%	-	116%
VPL (MUS\$)	10,8	-3,2	37,9	2,6	-9,1	19,3	22,7	-1,0	55,8