



**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
MESTRADO EM DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS AMBIENTAIS**

**CLÁUDIO JOSÉ GALDINO DA SILVA JUNIOR**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA CELULOSE  
BACTERIANA NO TRATAMENTO DE ÁGUAS  
OLEOSAS**

**Recife, 17 de fevereiro de 2020**

**CLÁUDIO JOSÉ GALDINO DA SILVA JUNIOR**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA CELULOSE  
BACTERIANA NO TRATAMENTO DE ÁGUAS  
OLEOSAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento em Processos Ambientais da Universidade Católica de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento de Processos Ambientais.

**Área de Concentração:** Desenvolvimento em Processos Ambientais

**Linha de Pesquisa:** Biotecnologia e Meio Ambiente

**Orientadora:** Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo

**Co-orientadora:** Profa. Dra. Andrea Fernanda de Santana Costa

**Recife, 17 de fevereiro de 2020**

## Ficha Catalográfica

Galdino, C. J. da S. J.

Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de águas oleosas, 2020, 103.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Católica de Pernambuco. Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação. Curso de Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais, 2020.

1. *Gluconacetobacter hansenii*.
2. Resíduos Industriais.
3. Membranas Filtrantes.

Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento de Processos Ambientais.  
Centro de Ciências e Tecnologia.

# **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA CELULOSE BACTERIANA NO TRATAMENTO DE ÁGUAS OLEOSAS**

**CLÁUDIO JOSÉ GALDINO DA SILVA JUNIOR**

**Examinadores:**

---

Profa. Dra. Leonie Asfora Sarubbo (Orientadora)  
Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP

---

Prof. Dr. Valdemir Alexandre dos Santos  
Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP

---

Profa. Dra. Glória Maria Vinhas  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Defendida em: 17/02/2020.

Coordenador (a): Profa. Dra. Galba Maria de Campos Takaki

**DEDICATÓRIA**

Aos meus pais Semiramis Ribeiro Galdino e Cláudio José Galdino da Silva (*in memoriam*) que sempre acreditaram nos meus sonhos. À minha irmã Cláudia Catharina Ribeiro Galdino pela confiança nos momentos difíceis. À minha noiva Anantcha Karla Lafaiete de Holanda Cavalcanti, minha maior incentivadora.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir sempre a realização dos meus objetivos. Por sempre me dar forças para aprender para evoluir como ser humano.

À minha Orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Leonie Asfora Sarubbo, por toda sabedoria em gerir as dificuldades encontradas no caminho com muita paciência. Tenho a convicção de que jamais chegaríamos nesse ponto sem a sua competência e extrema sabedoria.

À Profa. Dra. Andrea Fernanda de Santana Costa pela valiosa colaboração, apoio, por toda sabedoria durante o desenvolvimento experimental da pesquisa, sendo uma verdadeira guia em toda essa jornada.

À Profa. Dra. Galba Maria de Campos Takaki, Coordenadora do Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais da UNICAP pelo atendimento prestado.

À 14<sup>a</sup> turma do mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais da UNICAP pelo companheirismo e amizade.

Ao Reitor da UNICAP, Pe. Pedro Rubens Ferreira de Oliveira, S. J. pela oportunidade em desenvolver este trabalho nesta universidade.

À Dra. Fabíola Carolina Gomes de Almeida e aos amigos Hugo Morais Meira, Julia Didier Pedrosa Amorim e Alexandre D'lamare Maia de Medeiros pela colaboração com o desenvolvimento dos experimentos.

Ao técnico Lucas Ferreira da Costa, dos laboratórios da UNICAP, pela ajuda conferida ao longo do Mestrado.

Ao CNPq, CAPES, FACEPE e FINEP pelo suporte financeiro aos laboratórios do Centro de Ciências e Tecnologia da UNICAP.

Aos meus pais Semíramis Ribeiro Galdino e Cláudio José Galdino da Silva (*in memoriam*) por toda educação dada e pelas lições de vida.

À minha noiva Anantcha Karla Lafaiete de Holanda Cavalcanti por toda paciência e apoio que me fizeram continuar sempre confiante. Obrigado por me compreender com seu amor.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

## SUMÁRIO

<b>DEDICATÓRIA</b> .....	<b>iv</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>v</b>
<b>SUMÁRIO</b> .....	<b>vi</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>vii</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>x</b>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>12</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
2.1 Objetivo Geral .....	14
2.2 Objetivos Específicos .....	14
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
3.1 Celulose vegetal (CV) .....	15
3.2 Celulose bacteriana (CB) .....	17
3.3 Resíduos industriais utilizados na produção de CB .....	20
3.4 Influência das condições de cultivo na produção de CB .....	22
3.5 Recuperação e purificação da CB .....	25
3.6 Perspectivas da CB .....	25
3.7 Águas residuárias oleosas industriais .....	26
3.8 Emulsões óleo/água .....	27
3.9 Tratamento de águas oleosas e limites permitidos .....	29
3.10 Membranas filtrantes .....	30
<b>4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>39</b>
Use of Bacterial Cellulose filter for the Removal of Oil from Wastewater .....	40
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>81</b>
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	<b>82</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>83</b>

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

<b>Figura 1</b> - Celulose produzida por bactérias .....	15
<b>Figura 2</b> -(a) CV tem um aspecto fibroso e (b) CB assemelha-se a um gel....	18
<b>Figura 3</b> - Fermentação submersa para obtenção de celulose bacteriana.....	18
<b>Figura 4</b> - Celulose Bacteriana produzida em meio alternativo.....	22
<b>Figura 5</b> - Ilustração de emulsões do tipo O/A e A/O.....	28
<b>Figura 6</b> - Membrana de celulose bacteriana com 10 dias de cultivo.....	31

### CAPÍTULO II

<b>Figura 1</b> - Diâmetros internos (25, 50 e 100 mm) dos filtros de PVC (A); Membrana de CB previamente preparada com o mesmo diâmetro do filtro acoplado ao sistema de filtração (B) e sistemas de filtração em PVC (C)....	72
<b>Figura 2</b> - Membranas úmidas de CB após 6 (B) e 10 (A) dias de cultivo.....	73
<b>Figura 3</b> - A membrana de CB após ser dobrada muito mais do que 100 vezes.....	74
<b>Figura 4</b> - Micrografias eletrônicas de varredura de membranas secas de 6 dias (A) e de 10 dias (B).....	75
<b>Figura 5</b> - Resistência à tração (N), deformação específica (%) e módulo de elasticidade (MPa) das membranas de CB.....	76
<b>Figura 6</b> - Difractometria de raios-X das membranas de CB obtidas após 6 e 10 dias de cultivo.....	77
<b>Figura 7</b> - TGA das membranas de CB.....	78
<b>Figura 8</b> - Espectros da CB.....	79
<b>Figura 8</b> - Desempenho de separação de óleo em fluxo de permeação de água versus tempo de execução para o filtro de CB de 100 mm.....	80

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

<b>Tabela 1</b> - Propriedades mecânicas da CB em relação a outros materiais ....	17
<b>Tabela 2</b> - Bactérias, fontes de carbono, suplementos, tempo de cultivo e rendimentos em celulose bacteriana.....	24

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 1</b> - Capacidade de retenção de água (CRA) das membranas de CB obtidas depois da fermentação.....	67
<b>Tabela 2</b> - Dados de decomposição térmica de amostras da CB obtidas da curva de TGA.....	68
<b>Tabela 3</b> - Remoção de óleo da emulsão com concentrações de óleo de 10, 150 e 230 ppm através de sistemas de filtragem de 25, 50 e 100 mm de diâmetro com membranas de CB (6 e 10 dias de cultivo) por quatro minutos a 1 atm (dados expressos em média e desvio padrão).....	69
<b>Tabela 4</b> - Remoção de óleo da emulsão com concentrações de óleo de 10 e 230 ppm através de sistemas de filtração de 25 e 100 mm de diâmetro com membranas de CB (6 e 10 dias de cultivo) por 30 minutos a 1 atm (dados expressos em média e desvio padrão).....	70

## RESUMO

A celulose é o biopolímero mais abundante no planeta e possui uma vasta gama de aplicações em diferentes setores da indústria. As políticas de preservação ambiental, por outro lado, impulsionam o desenvolvimento de pesquisas no sentido de substituir a celulose vegetal (CV), devido ao fato de sua produção causar vários danos ao meio ambiente. Nesse sentido, a celulose bacteriana (CB) surge como alternativa promissora à CV, ela se diferencia da sua semelhante vegetal principalmente por apresentar fibras de caráter nanométrico contra o micrométrico da CV, o que lhe confere excelentes propriedades mecânicas como maior pureza, maior índice de cristalinidade, maior poder de absorção de água e maior resistência à tração. A utilização da celulose microbiana em diferentes setores economicamente importantes como o de produção de papel, indústria têxtil, indústrias alimentícias, biomedicina, na filtração de metais pesados e materiais particulados vem crescendo. Assim, o presente estudo descreve o desenvolvimento de um filtro de celulose bacteriana (CB) para o tratamento de águas oleosas. As membranas de CB foram produzidas usando um meio alternativo contendo 2,5% milhocina. Amostras de membranas previamente purificadas foram caracterizadas e testadas como filtros para a separação do óleo da água (concentrações de óleo de 10, 150 e 230 ppm). A vazão, o diâmetro do filtro e a espessura da membrana após 6 e 10 dias de cultivo foram avaliados em um sistema de filtração construído em poli (cloreto de vinila) (PVC). As membranas CB apresentaram flexibilidade, estabilidade térmica e resistência mecânica adequadas para sua aplicação como filtro. No entanto, a membrana obtida após 10 dias resistiu 100% mais força aplicada do que a membrana obtida após 6 dias. As experiências revelaram 100% de remoção do óleo de todas as emulsões. A taxa de fluxo de filtração aumentou proporcionalmente ao diâmetro do filtro e diminuiu da membrana de 6 dias para a membrana de 10 dias. Os resultados do presente estudo são promissores e demonstram a eficiência, durabilidade e resistência deste novo material biodegradável para o tratamento de águas oleosas geradas durante atividades industriais.

**Palavras-chave:** *Gluconacetobacter hansenii*. Resíduos Industriais. Membranas Filtrantes.

## ABSTRACT

Cellulose is the most abundant biopolymer on the planet and has a wide range of applications in different industrial sectors. Environmental preservation policies, on the other hand, promote the development of research to replace vegetable cellulose (VC), due to the fact that its production causes several damages to the environment. In this way, bacterial cellulose (BC) appears as a promising alternative to VC, since it differs from its vegetal similar mainly because it presents fibers of a nanometric character against the micrometric of the vegetable, which gives it excellent mechanical properties like greater purity, higher index of crystallinity, higher water absorption power and higher tensile strength. Several studies have been carried out in order to optimize the production conditions of the polymer to supply the demand for VC in the near future. The use of BC in different economically important sectors such as paper production, textile industry, food industries, biomedicine, filtration of heavy metals and particulates have been reported. Thus, the present study describes the development of a bacterial cellulose (BC) filter for the treatment of oily waters. BC membranes were produced using an alternative medium containing 2.5 % corn steep liquor. Samples of previously purified membranes were characterized and tested as filters for the separation of oil from water (oil concentrations of 10, 150 and 230 ppm). Flow rate, filter diameter and membrane thickness after 6 and 10 days of cultivation were evaluated in a filtration system constructed in poly (vinyl chloride) (PVC). The BC membranes presented adequate flexibility, thermal stability and mechanical strength. However, the membrane obtained after 10 days supported 100 % more force than the membrane obtained after 6 days. The experiments revealed 100 % removal of the oil from all emulsions. The filtration flow rate increased proportionally to the filter diameter and decreased from the 6-day membrane to the 10-day membrane. The results of the present study are promising and demonstrate the efficiency, durability and strength of this novel biodegradable material for the treatment of oily waters generated during industrial activities.

**Keywords:** *Gluconacetobacter hansenii*. Industrial Waste. Filtration Membranes.

# **CAPÍTULO I**

## 1 INTRODUÇÃO

Para atingir as metas propostas de desenvolvimento sustentável, se torna indispensável o manejo racional dos recursos naturais, o que exigirá o emprego de novas tecnologias. Dentre as tecnologias que apresentam potencial para contribuir para o desenvolvimento sustentável, a Biotecnologia tem muito a oferecer, especialmente nos campos da larga escala para produção de alimentos, bebidas, cosméticos, produtos farmacêuticos, materiais de construção, fins energéticos e tratamento de águas residuais domésticas. Não há dúvidas de que a biotecnologia é a ciência que revolucionará a produção e a oferta de biomateriais para os mercados (RIZWAN et al., 2018)

Dentre a possibilidade de fornecimento de novos materiais biotecnológicos, destaca-se a obtenção de celulose. A celulose é um polímero natural produzido por plantas. Entretanto, o aumento da demanda de derivados de CV, aumentou o consumo de madeira como matéria-prima, causando desmatamento e questões ambientais globais. Embora as plantas sejam as maiores fontes de celulose, vários tipos de bactérias são capazes de produzir celulose como fonte alternativa. As bactérias pertencentes a diferentes gêneros, como *Gluconacetobacter*, *Sarcina* e *Agrobacterium* são capazes de produzir celulose bacteriana ou biocelulose (GOMES et al., 2013).

A CB apresenta elevada pureza, uma vez que não está associada com outros componentes da CV, tais como a lignina e a hemicelulose e devido à sua rede nanofibrillar em 3D, mostra capacidade de absorção de água (a membrana inicial possui aproximadamente 99% de água) e alta resistência à tração (COSTA et al., 2017).

Essas propriedades singulares, em conjunto com outras características, como biocompatibilidade e biodegradabilidade, resultam no caráter renovável e em uma ampla gama de aplicações na área biomédica e em vários outros domínios tecnológicos, tais como membranas para dispositivos de áudio, papel eletrônico e como material de reforço em nanocompósitos transparentes ou translúcidos (WU; LIU, 2012).

Por outro lado, novas perspectivas de aplicação surgem em função das propriedades nanométricas e hidrofílicas desse biopolímero, como sua possível utilização na separação de resíduos oleosos industriais. Pesquisas para desenvolver aerogéis de CB obtidos por hidrofobização e adição de aditivos químicos têm sido descritas na literatura para a separação de solventes e óleos derramados em ambiente marinho, embora essa tecnologia ainda necessite de um alto investimento de capital, o que inviabiliza o processo a nível industrial (CARPENTER et al., 2015). Entretanto, a utilização da membrana como um filtro para separação de componentes de misturas água e óleo gerados em ambientes industriais ainda não foi descrita.

Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi testar a viabilidade de aplicação de películas de CB obtidas em meio alternativo como filtro eficiente para separação de resíduos oleosos em misturas água e óleos gerados em ambientes industriais.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a eficiência da membrana de celulose bacteriana como filtro na separação de águas oleosas.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Produzir membranas CB utilizando meio alternativo à base de milhocina.
- Caracterizar as membranas de CB quanto à permeabilidade a óleo e flexibilidade.
- Determinar as propriedades mecânicas das membranas.
- Caracterizar a estabilidade térmica das membranas.
- Caracterizar a morfologia e os arranjos formadores do polímero de CB.
- Caracterizar a cristalinidade das membranas de CB.
- Construir filtros em PVC de diferentes diâmetros como suporte para as membranas de CB.
- Testar as membranas úmidas, de diferentes espessuras e diâmetros, como material filtrante de amostras de águas oleosas sintéticas.
- Avaliar os parâmetros diâmetro do tubo, vazão e pressão no sistema de filtração à base das membranas de CB.
- Avaliar a possibilidade de reutilização das membranas.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Celulose vegetal (CV)

A celulose é um dos polímeros naturais mais abundantes na Terra. Com uma produção estimada de  $10^{14}$  toneladas por ano e de grande importância econômica, ela pode ser encontrada em diferentes formas de vida como em plantas verdes, fungos e procariontes. A maioria desses polímeros é produzida por plantas, sendo por isso denominada de CV (GOMES et al., 2013).

Esse biopolímero é o principal componente da parede celular de plantas, contendo impurezas como lignina, pectina e hemicelulose. O aumento da demanda de derivados de CV no mundo aumentou o consumo de madeira como matéria-prima, causando desmatamento e consequentes problemas ambientais em nível global. Industrialmente, a celulose é muito usada na produção de papel, na indústria madeireira, como emulsificador, agente dispersante, agente gelificante, entre outras. Atualmente a madeira do eucalipto tem sido uma das principais fontes das industriais, sendo composta por celulose (40 a 45%), lignina (25 a 30%), hemiceluloses (30%) e extrativos (até 4%). Embora as plantas sejam as maiores fontes, vários tipos de bactérias são capazes de produzir celulose como fonte alternativa (Figura 1) (PARK et al., 2012).

Figura 1 - Celulose produzida por bactérias.



**Fonte:** Autoria própria (2019).

Classificada como um carboidrato, a celulose ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub> é um polímero que contém carbono, hidrogênio e oxigênio, sendo formada por cadeias lineares não ramificadas de moléculas β-D-glicose unidas por ligação do tipo β-1,4-glicosídicas que interagem umas com as outras através de ligações de hidrogênio intramolecular e intermolecular. A estrutura polimérica inicia sua formação quando duas moléculas de glicose se unem e formam a celobiose, considerada a unidade estrutural de repetição da molécula de celulose. Suas microfibrilas, que são moléculas longas e rígidas, se formam por ligações de hidrogênio, responsáveis pela rigidez da cadeia e pela formação de fibras retas e

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

estáveis que elevam a resistência mecânica e fazem com que a celulose seja insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos (BROWN et al, 1996; UL-ISLAM et al., 2012; SANTOS et al., 2015).

A microfibrila celulósica resulta da íntima associação de quatro fibrilas elementares agrupadas por uma monocamada de hemicelulose, sendo posteriormente circundadas em uma matriz de hemicelulose e lignina (associadas entre si por meio de interações físicas e ligações covalentes). A estrutura resultante desse arranjo químico é denominada fibrila elementar, que apresenta características de insolubilidade em água e alto grau de cristalinidade (ANTÔNIO et al., 2012).

A estrutura cristalina da celulose explica a alta resistência axial e o módulo da celulose. Um valor de 134 GPa ( $137 \text{ kgf} / \text{cm}^2$ ) foi determinado para o módulo de elasticidade dos cristais, utilizando difração XRD e fibras de celulose deformadas sob um estresse constante (SAKURADA et al. 1962). Este módulo está no mesmo nível que o de outras fibras de reforço, mas com uma densidade mais baixa (MOON et al., 2011).

As fibras de madeira e lignocelulósicas têm um módulo de elasticidade muito menor em comparação com a celulose cristalina (cerca de 30 GPa no caso das fibras de cânhamo). Para aproveitar ao máximo as propriedades mecânicas dos cristais de celulose, a estrutura complexa de madeira ou fibras lignocelulósicas deve ser quebrada para liberação dos cristais. Embora a primeira imagem de nanocristais de celulose em microscópio eletrônico de transmissão preparados por hidrólise ácida da celulose vegetal tenha sido publicada por Mukherjee e Woods (1953), foi mérito de Favier et al. (1995) enfatizar a importância dos nanocristais de celulose para reforço de polímero. Seus primeiros estudos abriram uma nova era, a nanocelulose e nanocompositos à base de celulose, que ainda são amplamente estudados e começaram a ser produzidos em plantas piloto e, alguns, em grande escala. A nanocelulose é importante porque reúne a mesma força material, flexibilidade, biocompatibilidade, disponibilidade e baixo custo. As principais desvantagens da nanocelulose quando utilizada para a preparação de nanocompositos de polímeros, são alta absorção de umidade, estabilidade térmica limitada e alta hidrofiliabilidade, sendo necessárias mais pesquisas para resolver esses problemas. Inicialmente, a nanocelulose foi classificada em três tipos (KLEMM et al., 2011):

- Celulose nanofibrilada fabricada por tratamento mecânico como processo principal (LAVOINE et al., 2012);
- Nanocristais de celulose / nanovigas preparadas por hidrólise ácida (HABIBI et al., 2010; HENRIQUE et al., 2015);
- Celulose bacteriana.

A Nanocelulose produzida a partir de solução ou derretimento por eletrospinning, utilizando forças elétricas, foi adicionada nesta classificação em revisões recentes (THAKUR, 2015). Dependendo da fonte, a celulose pode ser classificada em celulose sintetizada em plantas

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

superiores, incluindo árvores, em plantas inferiores, como algas, por alguns animais (tunicados), fungos, amebas ou por algumas bactérias (DUFRESNE, 2012).

### 3.2 Celulose bacteriana (CB)

A CB, também denominada de biocelulose, é o resultado da extrusão do material por bactérias aeróbicas e se apresenta como nanofibras (10-50 nm) orientadas uniaxialmente. Microfitas com largura de 1 a 9 nm apresentam uma nanoestrutura singular, elevado grau de polimerização, entre 2.000 a 6.000 e propriedades mecânicas indicadas ao desenvolvimento de biomateriais e como reforço para biocompósitos quando comparada com outros materiais (Tabela 1) (KLEMM et al. 2006).

As microfibrilas de CB foram primeiramente descritas por Muhlethaler, em 1949, sendo cerca de 100 vezes menores do que as de CV (CHAWLA et al., 2009; GAYATHRY; GOPALASWAMY, 2014). A rede fibrosa desse biopolímero é feita a partir de três nanofibras dimensionais bem arrumadas que resultam na formação de uma folha de hidrogel com elevada área superficial e porosidade (ESA et al. 2014).

Tabela 1 - Propriedades mecânicas da CB em relação a outros materiais.

<i>Material</i>	<i>Módulo de Young (GPa)</i>	<i>Resistência à tração (MPa)</i>	<i>Deformação (%)</i>
<i>Celulose Bacteriana (CB)</i>	15 – 35	200 – 300	1,5 - 2,0
<i>Polipropileno (PP)</i>	1 - 1,5	30 – 40	100 – 600
<i>Poli (tetraftalato de etileno) (PET)</i>	3 – 4	50 – 70	50 – 300
<i>Celofane</i>	2 -3	20 – 100	15 – 40

**Fonte:** Klemm et al. (2006).

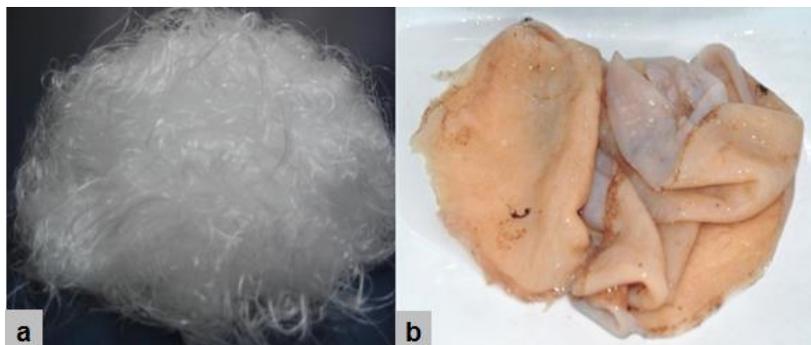
As ligações de hidrogênio inter e intra-molecular mantêm as cadeias de celulose juntas, conferindo também às fibras de CB uma baixa solubilidade e alta retenção de água, além de elevada pureza, resistência mecânica, elasticidade, flexibilidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, ausência de toxicidade, além de não ser alérgica (ESA et al. 2014), sendo pesquisada no meio científico como uma promessa potencial para utilização em várias áreas do conhecimento (KLEMM et al., 2006; PECORARO et al., 2008; DONINI et al., 2010; WANG et al., 2011).

A CV se difere de seu par biológico principalmente devido ao seu caráter de fibras micrométricas, enquanto que a CB apresenta caráter de fibras nanométricas e são estruídas através da parede celular da bactéria. Visualmente, a diferença entre a CV e a CB refere-se tanto à aparência quanto ao teor de água. A CV tem um aspecto fibroso, enquanto que a CB se assemelha a um gel

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

(Figura 2). No entanto, os grupos funcionais que caracterizam a CB são os mesmos que os da CV (DONINI et al., 2010).

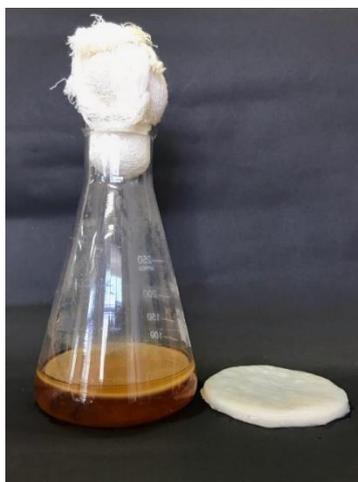
Figura 2 - (a) CV tem um aspecto fibroso e (b) CB assemelha-se a um gel.



Fonte: Donini et al., (2010).

Uma membrana de CB, com estrutura tridimensional e propriedades únicas é obtida quando o processo fermentativo é submerso estático (figura 3) (CHAWLA et al., 2009), produzindo um biomaterial de alta cristalinidade (60-90%) quando comparado com a CV (~40 %) e especialmente com a fibra do algodão (~70 %) (ROSS et al., 1991; BROWN et al., 1996; BARUD et al., 2007; PIGOSSI et al., 2015).

Figura 3 - Fermentação submersa para obtenção de celulose bacteriana.



Fonte: Autoria própria (2019).

Brown, em 1996, observou que durante o processo de fermentação do vinagre, a bactéria *Gluconacetobacter xilinus*, anteriormente *Acetobacter xylinum* e atualmente denominada de *Gluconacetobacter hansenii*, é capaz de sintetizar CB na presença de glicose e oxigênio formando uma manta gelatinosa, a qual foi observada pela primeira vez na superfície de fermentação do

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

vinagre. Após análise microscópica, a presença da referida bactéria foi constatada na manta (HESTRIN; SCHRAMM, 1954; DONINI et al., 2010; RANGASWAMY et al. 2015).

Alguns gêneros de bactérias como *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Agrobacterium* e *Alcaligenes* produzem um polímero linear de celulose fortemente associado através das ligações de hidrogênio que são responsáveis pela formação das fibras de celulose com a mesma estrutura química da CV e com propriedades físicas e mecânicas relevantes para a produção dos biomateriais (DONINI et al., 2010).

Bactérias acéticas pertencentes à família *Acetobacteraceae* do gênero *Acetobacter* produzem CB especialmente quando são usados manitol, etanol, n-butanol, glicerol e lactato como fontes de carbono para o crescimento celular, tendo em vista que não hidrolisam o amido nem a lactose e são quimiorganotróficas, organismos que obtêm energia a partir de compostos químicos orgânicos (DE LEY et al. 1984, HOLT et al., 1994, ASHTAVINAYAK et al., 2016).

A produção de CB pelas bactérias do gênero *Gluconacetobacter* foi um estudo que aconteceu visando avaliar a biossíntese deste biopolímero e extrapolá-las para o processo em plantas industriais. Essas bactérias são gram-negativas e se apresentam em forma de bastão, com alta tolerância à substâncias ácidas, crescem em valores de pH menores que 5,0, não são patogênicas e necessitam, em especial, de um suprimento contínuo de oxigênio e carbono para que a produção de CB extracelular seja eficiente (IGUCHI et al., 2000; KLEMM et al, 2001; PECORARO et al., 2008; BARUD, 2010; ESA et al. 2014).

Esse gênero produz uma biocelulose que apresenta propriedades únicas, incluindo elevada resistência mecânica à tração, possibilidade de inserções de materiais para obtenção de compósitos, elevada capacidade de retenção de água, elevada cristalinidade e uma estrutura de rede ultrafina e fibra altamente pura. Essas propriedades permitem muitas aplicações em diversos setores das indústrias (HUNGUND; GUPTA, 2010).

Para a bactéria, a celulose bacteriana funciona como mecanismo de flotação, permitindo ao microrganismo permanecer em uma interface ar/líquido para obter oxigênio com maior facilidade para seu crescimento. Atua como barreira física que protege a bactéria da radiação ultravioleta, aumenta a capacidade de colonizar substratos e seu caráter higroscópico permite a retenção de umidade, prevenindo a desidratação do substrato (DONINI et al., 2010).

Atualmente, a *G. xylinus* é considerada como micro-organismo modelo na biossíntese, cristalização e obtenção de propriedades estruturais de biocelulose. A síntese de celulose por *G. xylinus* constitui um complexo processo que envolve três etapas principais:

- (i) A primeira refere-se à polimerização dos resíduos de glicose em cadeias 1-4-glucana.
- (ii) A segunda etapa corresponde à secreção extracelular das cadeias lineares.
- (iii) E a terceira corresponde à organização e cristalização das cadeias de glucanas, por meio de ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals dispostas hierarquicamente em tiras.

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

O resultado desse processo é a formação de uma estrutura tridimensional resistente denominada microfibrila (DONINI et al., 2010).

Os poros existentes na membrana desse microrganismo proporcionam a extrusão da celulose para formar uma fibrila elementar que apresenta um diâmetro aproximado de 3,5 nm. Cerca de 46 fibrilas adjacentes juntam-se através de ligações de hidrogênio para formar uma fita, que tem uma largura variando de 40 a 60 nm. As fitas rolam para cima para formar a fibra, que ficam emaranhadas com as outras fibras dispersas no meio de cultura. As fibras entrelaçadas formam uma película gelatinosa denominada *Zooglea*, que contém cerca de 98 % (m/m) de água e apresenta-se sobre a superfície do meio de cultura líquido. Sua espessura depende do tempo de cultura e, geralmente, pode chegar a 1 ou 2 cm (PECORARO et al., 2008).

As características estruturais da CB estão diretamente relacionadas a dois fatores: a origem a estirpe, a qual determina a razão  $I\alpha/I\beta$ , que consistem em duas diferentes estruturas cristalinas, uma monoclinica - celulose  $I\beta$ , e outra triclinica - celulose  $I\alpha$ , e a composição do meio de cultura, que influencia o tamanho da cadeia. Tais características determinam também o grau de cristalinidade e consequentemente as propriedades físico-químicas da CB (LIMA et al., 2015).

A estrutura nanométrica e porosa da membrana produzida pelos microrganismos é um material que age como uma barreira física contra bactérias. Pode ser desidratada, mas, devido à elevada capacidade absorvente, a CB se reidrata quando entra em contato com líquidos, com a capacidade de absorver o mesmo volume de líquido original (CZAJA et al., 2007).

Estudos sobre a cinética de crescimento dos microrganismos auxiliam os estudos para obtenção da membrana de CB com a espessura desejada, utilizando por base os processos fermentativos. Observando a possibilidade do aumento substancial da produtividade da CB, diversos autores vêm trabalhando no tema, utilizando diferentes formas de cultivo em biorreatores e cultivos agitados, em contraste com o cultivo tradicional estático, além de variações nas condições de suplementação (DONINI et al., 2010).

### **3.3 Resíduos industriais utilizados na produção de CB**

O meio padrão utilizado para a manutenção e produção de CB, o meio Hestrin-Schramm (HS), descrito em 1954, tem custo elevado e requer muitos recursos adicionais, incluindo a suplementação de glicose, extrato de levedura, peptona, dentre outros.

Pesquisas recentes têm se concentrado na tentativa para produzir a CB a um custo mais reduzido usando diferentes estirpes de bactérias produtoras de celulose e fontes alternativas de carbono e nitrogênio. Tais pesquisas que visam a descoberta de fontes de carbono alternativas e de baixo custo que sirvam de substrato são de extrema importância para a viabilidade da produção desse biopolímero em uma escala significativa que permita a substituição da celulose vegetal pelo bacteriana, uma vez que o custo de produção associado ao substrato em processos fermentativos

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

referentes à produção de CB são responsáveis por até 65% do custo total de produção (JOZALA et al., 2014; TSOUKO et al., 2015).

Resíduos estão se tornando matérias-primas interessantes para o meio industrial, devido a uma maior consciência ambiental das empresas e da população. Os resíduos industriais vêm sendo utilizados para substituir os compostos sintéticos como uma alternativa relativamente barata para reduzir ou substituir a fonte de carbono de maneira que o cultivo da celulose bacteriana alcance aplicações industriais de grande escala (KONGRUANG, 2008; CAVKA et al., 2013; HUANG et al., 2014; KIZILTAS, et al., 2015).

Muitos trabalhos têm sido realizados no sentido de testar novas fontes de carbono de baixo custo para a produção de CB. O futuro potencial para esse biopolímero está muito além das aplicações existentes, especialmente para a produção de grandes quantidades a partir de matérias-primas de baixo custo, e pode incluir materiais têxteis especiais, materiais funcionais avançados e embalagens (CAVKA et al., 2013).

A produção de celulose microbiana a partir de resíduos agrícolas e resíduos industriais, que incluem resíduos de alimentos, palha de trigo (CHEN et al., 2007; 2010; HONG; QIU, 2008; KONGRUANG, 2008), resíduos de frutas (KONGRUANG, 2008), resíduos de glicerol e resíduos têxteis à base de algodão (HONG; QIU 2008) tem sido demonstrada. A vantagem em usar resíduos agrícolas ou industriais não só fornece uma maneira barata de produzir a CB, mas também funciona como uma proposta ambiental (LI et al., 2015). Além disso, a utilização de tais materiais residuais não só melhora a sustentabilidade da produção de celulose por microrganismos, mas também reduz a poluição ambiental associada ao descarte de resíduos industriais (LI et al., 2015).

Os resíduos da agroindústria estão sendo utilizados para substituir a água e/ou compostos que são fontes de carbono e nitrogênio visando minimizar custo e agregar valor à produção de CB (ANDRADE et al., 2010). Muitos substratos estão sendo utilizados como meio de cultura para a produção da celulose microbiana, desde que nesses meios ocorra a fermentação de açúcares e carboidratos de plantas. Leite, soro de leite, água de coco, resíduos agrícolas como leite, frutas em decomposição, sucos, cerveja, vinhos não pasteurizados ou esterilizados, chás verde ou preto, líquido do sisal, dentre outros, têm sido citados (KLEMM et al., 2006; CZAJA et al., 2007; ALMEIDA et al., 2010).

Os arranjos das nanofibrilas de CB produzidas em substratos cuja composição apresente resíduos agroindustriais foram estudados por Carreira et al. (2011) e Fernandes e Martendal. (2016), em experimentos realizados com extrato de casca de uva, cerveja, soro de queijo e azeite com ou sem adição de suplementos (carbono e/ou nitrogênio). Tyagi e Suresh (2016) e Çakar et al. (2014) utilizaram melaço de cana de açúcar. Wu et al. (2014) testaram o efluente de uma fábrica de doces. O líquido de sisal (suco de sisal) e o suco de caju vêm sendo utilizados nas pesquisas desenvolvidas pela EMBRAPA Tropical – Fortaleza/Ceará, Brasil, para a produção de CB como fonte alternativa de carbono (ANDRADE et al., 2010).

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

Compostos como manitol, sacarose e xarope foram testados por Mohammadkazemi et. al. (2015). Gomes et al. (2013) usaram resíduo da produção de azeite em substituição da água no meio de cultivo padrão HS. A água residuária lipídica proveniente do beneficiamento do milho foi utilizada por Huang et al. (2014) como meio de cultivo. O extrato retirado de madeira Bordo Vermelho (*Acer Rubrum*) foi testado por Kiziltas et al. (2015). Todos os resíduos apresentaram êxito na produção de CB quando incubados em condições agitadas ou estáticas, sob pH controlado ente 4-7, temperatura entre 26-30° C durante, no mínimo, 7 dias.

### 3.4 Influência das condições de cultivo na produção de CB

Além da composição do meio de cultivo, a influência de parâmetros como pH, temperatura e aeração, agitação e tempo de cultivo exercem influência na produção da celulose microbiana (JUNG et al., 2005; ZYWICKA et al., 2015).

A produção desse biopolímero pode ser obtida em laboratório utilizando cultivos em meios sólidos e líquidos. Cultivos em culturas estáticas, cultivos em culturas agitadas em agitador orbital ou em biorreator são métodos utilizados em pesquisas de laboratório para a produção de CB. Diferentes formas de celulose são produzidas sob estas condições (SANI; DALMAN 2010; MOOSAVI-NASAB; YOUSEFI; 2011).

Em condições estáticas é necessário regular a aeração do meio e a concentração da fonte de carbono para que uma película tridimensional, interconectada reticularmente, semelhante a um couro branco (Figura 4), seja produzida e emerja para a interface ar-líquido quando acontece a oxidação incompleta de diversos açúcares e álcoois do meio de cultura (KLEMM et al., 2006; WU et al., 2014).

O aumento do tempo de crescimento irá aumentar a formação de CB juntamente com hidrogênio e ligações de C-H (SHEYKHNAZARIA et al., 2011). A síntese da CB atinge o seu limite quando o crescimento da película em direção ao interior do meio aprisiona todas as bactérias, as quais se tornam inativas devido ao fornecimento insuficiente de oxigênio (BORZANI; SOUZA, 1995).

Figura 4 - Celulose Bacteriana produzida em meio alternativo.



Fonte: Autoria própria, (2019).

Quando o experimento acontece sob agitação ou em condição agitada, são produzidas partículas de celulose irregulares, semelhantes a esferas (TANSKUL et al., 2013). O processo semi-contínuo na condição estática é recomendado em escala industrial, uma vez que permite aumentar a produtividade de CB em relação ao processo contínuo (ESA et al. 2014). O biopolímero produzido sob agitação apresenta baixa resistência mecânica, na forma de “pellet” ou como um emaranhado de fibras; no entanto, esse método objetiva aumentar a produção de CB para fins industriais (DONINI et al., 2010).

Por outro lado, o crescimento das bactérias produtoras de celulose e os rendimentos do polímero são reduzidos em meios estáticos, mesmo nos meios de cultura de composição mais favorável. O período de cultivo pode variar de 6 à 10 dias até 6 semanas, dependendo da cepa utilizada (DUDMAN, 1960). Uma das possíveis causas para a baixa taxa de crescimento bacteriano é a dificuldade na transferência de oxigênio e de nutrientes para o interior da película. Segundo Li et al. (2015), o rendimento típico na produção de CB em meios estáticos é de 5 g/L após 27 dias de cultivo.

O advento das pesquisas que estudam a produtividade de CB em meios agitados surgiu da necessidade de diminuir este longo tempo necessário para a produção em culturas estáticas. Dudman et al., (1960) mostram que o tempo de 3 – 4 semanas normalmente necessário para a produção em culturas estáticas é reduzido para 2 – 4 dias em culturas agitadas e a estrutura química da celulose em ambos os casos é exatamente a mesma. Em 4 dias, foi observado um rendimento de 2,5g/L. A taxa de crescimento bacteriano também foi significativamente maior, embora o rendimento tenha sido menor do que o conseguido em condições estáticas. Isto é explicado devido ao fato de a agitação ter a desvantagem de promover a mutação das cepas produtoras de celulose em mutantes não produtores. Na tentativa de produzir CB de forma mais viável economicamente, novos biorreatores vêm sendo utilizados de forma a aumentar a taxa de crescimento e produtividade bacteriana ao mesmo tempo em que se tenta evitar ao máximo a mutação das cepas produtoras e principalmente reduzir o custo da produção.

O pH ótimo para a produção da celulose bacteriana irá depender do microrganismo produtor. De acordo com a literatura, o melhor valor de pH está situado entre 4 e 7. Alguns estudos variaram o pH do meio de 4,5 a 7,5, e o valor que levou à maior produção de CB foi 6,5 (SON; HEO, 2001). Porém, industrialmente, além da atenção dada à produtividade, empresas que fabricam o polímero para fins biomédicos utilizam valores de pH entre 4 e 4,5 a fim de evitar contaminação do meio durante o cultivo (JONAS; FARAH, 1998).

É importante salientar que a adição de um tampão para evitar a redução do pH durante o processo fermentativo é necessária para se alcançar o maior rendimento possível, devido à produção de metabólitos de caráter ácido, como os ácidos láctico e acético, que podem levar a oscilações indesejáveis de pH (JONAS; FARAH, 1998).

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

Son e Heo (2001) estudaram o efeito da temperatura na produtividade da bactéria *Acetobacter sp.* A9 entre 20°C e 40°C. O melhor valor encontrado foi de 30°C. A temperatura afeta não só a produtividade, como também a morfologia e a estrutura cristalina do polímero. Hirai et al. (1997) mostraram que a CB produzida pela bactéria *A. xylinum* ATCC 23769 em meio HS à 4°C era formada por bandas de celulose II, ao passo que o polímero produzido em 28°C levou à uma morfologia formada por tiras de celulose I.

O Oxigênio dissolvido no meio de cultura é essencial para o metabolismo celular e não é importante apenas no rendimento, mas também na qualidade do polímero final (SHIRAI et al., 1994). Por outro lado, elevadas taxas de oxigênio dissolvido podem aumentar a concentração de ácido glucônico, o que pode inviabilizar a célula e reduzir o rendimento de CB. Concentrações reduzidas de oxigênio, por outro lado, impedem o crescimento bacteriano e a produção do biopolímero.

De acordo com Hestrin e Schramm (1954), a produção de CB por *G. xylinus* utilizando 2% de glicose, com pH entre 5,0 e 7,0 e temperatura entre 25°C a 37°C como condições de cultivo, foram consideradas ótimas para o cultivo estático, uma vez que após duas horas de cultivo já foi observada a produção de um gel viscoso na interface líquido/ar. Para a referida bactéria, fontes de carbono como frutose, sacarose, glicerol, manitol, lactose, maltose, sorbitol e cultivo em agitador orbital já foram testados sem sucesso para a formação da membrana de CB.

De acordo com Donini et al. (2010), o melhor rendimento em CB relatado na literatura foi de 15,3 g/L após 50 horas de cultivo estático, como ilustrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Bactérias, fontes de carbono, suplementos, tempo de cultivo e rendimentos em celulose bacteriana.

Bactéria	Fonte de Carbono	Suplementação	Tempo (h)	Rendimento (g/L)
<i>G. xylinum</i> BRC 5	Glicose	Etanol + Oxigênio	50	15,30
<i>G. hansenii</i>	Glicose	Oxigênio	48	1,72
<i>G. hansenii</i>	Glicose	Etanol	72	2,50
<i>Acetobacter sp.</i> V6	Glicose	Etanol	192	4,16
<i>Acetobacter sp.</i> A9	Glicose	Etanol	192	15,20
<i>G. xylinum</i> BPR2001	Melaço	---	72	7,82
<i>G. xylinum</i> BPR2001	Frutose	Ágar e Oxigênio	72	14,10
<i>G. xylinum</i> BPR2001	Frutose	Ágar	56	12,00
<i>G. xylinum ssp.</i> <i>Sucrofermentans</i> BPR2001	Frutose	Oxigênio	52	10,40
<i>G. xylinum ssp.</i> <i>Sucrofermentans</i> BPR2001	Frutose	Ágar e Oxigênio	44	8,70

<i>G. xylinum</i> E25	Glicose	---	168	3,5
<i>G. xylinum</i> K3	Manitol	Chá Verde	168	3,34
<i>G. xylinum</i> IFO 13773	Glicose	Lignosulfato	168	10,10
<i>G. xylinum</i> NUST4.1	Glicose	Alginato de Sódio	120	6,00
<i>G. xylinum</i> IFO 13773	Melaço	---	168	5,76
<i>Gluconacetobacter</i> sp RKY5	Glicerol	---	144	5,63

Fonte: Chawla (2009).

### 3.5 Recuperação e purificação da CB

A CB apesar de não possuir outros compostos em sua composição como ocorre com a CV, precisa passar por processos de recuperação. Impurezas como células e componentes do meio de cultivo devem ser retiradas para que a celulose pura seja obtida e o rendimento calculado (CHAWLA et al., 2009).

Chawla et al (2009) descreveram os principais processos de purificação do polímero bacteriano, tanto para aplicações gerais quanto para aplicações médicas, as quais exigem um tratamento mais refinado. O principal processo de purificação de celulose bacteriana é o tratamento com álcali (hidróxido de sódio ou potássio), ácidos orgânicos como ácido acético ou lavagens repetidas com água de osmose reversa ou com água quente. Estas metodologias podem ser usadas separadamente ou em conjunto. Quando o polímero final se destina as aplicações médicas, tratamentos subsequentes devem ser realizados para que células bacterianas e toxinas sejam retiradas da celulose. Uma das metodologias mais utilizadas consiste em processar delicadamente a película do polímero entre duas folhas de papel absorvente, o qual retira aproximadamente 80% da fase líquida e então submergir o polímero em NaOH a 3% por 12 hs. O procedimento é repetido por três vezes e então a película é incubada em solução de HCl, prensada e lavada com água destilada. Finalmente, a película é esterilizada em autoclave ou por irradiação com Co<sup>60</sup>.

### 3.6 Perspectivas da CB

O futuro potencial para a CB está muito além das aplicações hoje existentes, especialmente se as pesquisas forem capazes de desenvolver processos para a produção em grande escala a partir de matérias-primas de baixo custo ou utilizando resíduos agroindustriais (COSTA et al., 2017)

A substituição da CV pela CB trará, no futuro próximo, avanços tecnológicos, ambientais, econômicos e sociais no sentido de permitir a aplicação de um novo insumo biotecnológico, de possibilitar a recuperação ambiental através do fim do desmatamento e do consequente reflorestamento de espécies nativas, de movimentar o mercado através das inúmeras aplicações

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

industriais e de propiciar o bem-estar e a qualidade de vida à população mundial (COSTA et al., 2017)

Espera-se, de acordo com Donini et al., (2010), que um novo enfoque seja permitido para esse produto oriundo da biotecnologia de microrganismos, igualmente ao que ocorreu na década de 70 com o apoio governamental ao Proálcool, através da utilização de *Saccharomyces cerevisiae* na produção de etanol, permitindo a criação de uma área em pleno desenvolvimento nacional.

A sustentabilidade exige um bom equilíbrio entre as questões ambientais, econômicas e sociais. Os biopolímeros podem ser considerados sustentáveis em termos de fornecimento de materiais, água e energia e geração de resíduos. Além disso, a viabilidade dos produtos, os recursos humanos e o desenvolvimento tecnológico também devem ser ponderados sob um ponto de vista de sustentabilidade. Os produtos biodegradáveis são geralmente mais caros do que os polímeros fabricados a partir de produtos petroquímicos, mas esta circunstância está mudando gradualmente, seja pela colheita de materiais, processamento e tecnologias de conversão, bem como economias de escala. Com as crescentes demandas de plástico no mundo, as preocupações dos consumidores com o meio ambiente e o uso de produtos ecológicos cresceram. Além disso, foram implementadas novas regulamentações, nomeadamente nos países da União Europeia, restringindo a utilização de materiais tradicionais, o que levou a um grande desenvolvimento em materiais de embalagem biodegradáveis (CRUZ-ROMERO; KERRY, 2008). Tais acontecimentos constituem as bases para o desenvolvimento dos produtos biotecnológicos como a CB.

### **3.7 Águas residuárias oleosas industriais**

A contínua expansão da indústria de processamento e a extensa utilização de produtos relacionados ao petróleo na maioria dos ramos industriais (indústrias de automóvel, fábricas de aviões, indústrias químicas, oficinas mecânicas, etc.), têm aumentado o risco de poluição por hidrocarbonetos (ZOUBOULIS; AVRANAS, 2000), devido ao aumento da frequência com que descartes de óleo e derrames acidentais envolvendo transporte, estocagem, distribuição do óleo cru e de seus derivados ocorre, acarretando sérios danos ambientais (DEMORE, 2001).

As águas residuárias oleosas podem ocorrer nos estágios de produção, transporte, manutenção das instalações, bem como derramamento durante a utilização de derivados de petróleo e seus derivados. O descarte ou até mesmo a reinjeção da água oleosa só é permitido após a remoção do óleo e sólidos em suspensão em níveis aceitáveis (RAMALHO, 1992).

A exploração do petróleo gera, inevitavelmente, grandes volumes de águas residuais oleosas. Ambas as operações a montante (extração, transporte e armazenamento) e a jusante (refinação) da indústria de petróleo, podem gerar uma grande quantidade de resíduos oleosos (HU; LI; ZENG, 2013). O descarte ambientalmente aceitável continua sendo um desafio, e o tratamento de águas residuais oleosas tornou-se uma necessidade urgente e emergente para a indústria

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

petrolífera. O estado de desenvolvimento de métodos de tratamento pode ser resumido em seis aspectos, os quais contemplam os processos de flotação, coagulação, tratamento biológico, tecnologia de separação por membrana, tecnologia combinada e processo de oxidação avançada (YU, HAN & HE, 2013).

O cisalhamento causado por bombas, válvulas, restrições hidráulicas e outros equipamentos, dispersa o óleo e a água, formando emulsões, que podem apresentar-se altamente estabilizadas pela presença de sólidos finamente divididos, substâncias surfactantes naturais do petróleo e outros reagentes adicionados durante o processo de produção de óleos lubrificantes e combustíveis (GONZALEZ *et al.*, 1988).

Além de iniciativas para a redução do consumo de água, dependendo da disponibilidade de recursos hídricos, qualquer instalação industrial fica presa às questões ambientais e às recentes condicionantes legais de gestão de recursos associados à cobrança pelo uso da água (CEIVAP, 2002; CNRH, 2005; TESSELE *et al.*, 2009). Fica então condicionada a reusar, na medida do possível, os seus próprios efluentes, após tratamento adequado, uma vez que os referidos custos de implantação e de operação são inferiores aos associados à captação e ao tratamento de águas de mananciais ou à compra de água oferecida por empresas de saneamento tanto de sistemas potáveis como de sistemas de água de reúso.

Segundo Rajasulochana e Preethy (2016), os métodos de tratamento das águas industriais variam de acordo com alguns fatores, tais como volumes envolvidos, constituição da água, limites da legislação ambiental vigente, entre outros. Esses tratamentos têm como finalidade a redução da concentração de óleo disperso na água para que depois elas possam ser descartadas nos corpos d'água ou reutilizadas no processo.

As técnicas convencionais apresentam baixa eficiência de remoção, sendo assim, o óleo remanescente pode provocar entupimento das tubulações em unidades de tratamento que precisam de limpeza e às vezes substituição das canalizações, ocasionando aumento de custo devido às manutenções recorrentes. Nesse sentido, recentes materiais têm sido propostos como alternativas, para tratar as águas residuais complexas (EL-GAWAD, 2014).

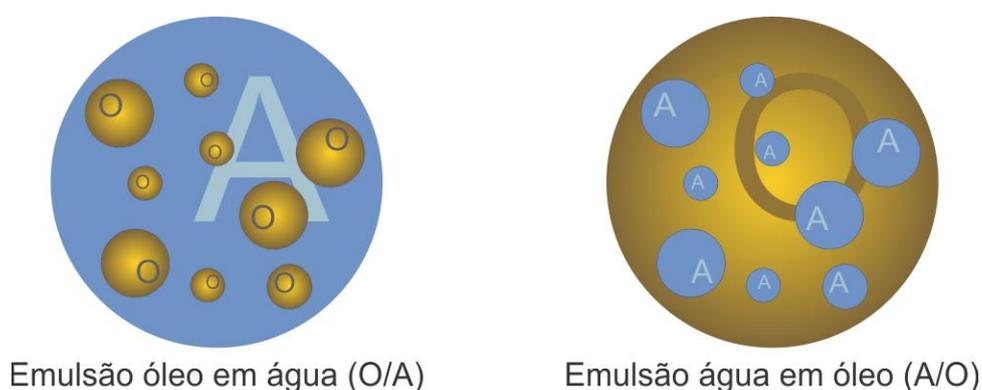
### **3.8 Emulsões óleo/água**

Uma emulsão é um sistema de dois líquidos imiscíveis onde uma fase dispersa sobre o líquido (fase dispersa) é suspensa sob a forma de pequenas gotículas de um segundo líquido (fase contínua). Isto só é possível na presença de um agente emulsificante e de energia (mecânica ou não) suficiente para que ocorra a dispersão. Dependendo da disposição do líquido na fase contínua, as emulsões são classificadas como água-em-óleo (A/O) ou óleo-em-água (O/A) (figura 5) (KELEŞOĞLU; PETTERSEN; SJÖBLOM, 2012).

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

O tipo mais comum de emulsão de petróleo é o de A/O, devido à natureza hidrofóbica dos agentes estabilizantes presentes no petróleo. As emulsões podem ser geradas em diversas indústrias como as de aço, alumínio, alimentos, têxteis, couro, produtos petroquímicos e indústrias de acabamento de metais, entre outras (BECKER, 1997; KELEŞOĞLU; PETTERSEN; SJÖBLOM, 2012).

Figura 5 - Ilustração de emulsões do tipo O/A e A/O



**Fonte:** Keleşoğlu; Pettersen; Sjöblom (2012).

As emulsões podem ser estabilizadas física ou quimicamente. As emulsões estabilizadas fisicamente são aquelas formadas sem adição de substâncias surfactantes, ou seja, a estabilidade é mantida por cargas elétricas inerentes ao sistema ou outras forças diferentes à influência de agentes estabilizantes (ZADYMOVA et al., 2016). Quando se mistura mecanicamente a água e óleo é possível produzir uma suspensão de gotículas de óleo em água, ou uma emulsão (WEN et al., 2016).

Estudos realizados por Silva et al. (2015) demonstraram a produção de uma emulsão óleo/água sintética com concentração de 50 ppm utilizando um óleo lubrificante, por mecanismos de agitação, onde o efluente (água industrial ou água do mar) passa por uma bomba de recirculação em que o óleo é misturado com mesmo fluido de entrada, e através de agitadores mecânicos é simulada a formação de emulsão no processo.

Zhang et al. (2016) também gerou uma emulsão estável por meio do cisalhamento do óleo através da cavitação hidrodinâmica, obtendo estabilidade física de 8 meses.

Karhu et al. (2012) constataram que uma emulsão óleo/água sintética é muito mais estável que uma emulsão não sintética, não perdendo suas características iniciais, e ainda diminui bastante alguns interferentes, como por exemplo, aditivos utilizados no processo, facilitando o estudo de remoção do óleo da água.

Emulsões com concentração média de 300 ppm são mais representativas, dessa maneira, pode-se avaliar melhor a possibilidade de remoção do óleo por meio de tensoativos (KULIK et al., 2007). Esta concentração é uma referência utilizada em trabalhos envolvendo flotação de petróleo disperso em água produzida (SANTANDER, RODRIGUES & RUBIO, 2011).

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

Contudo, essa concentração normalmente é utilizada quando a flotação é precedida de outras técnicas como a coagulação/floculação. Segundo Shaw (1975), se uma emulsão for preparada por homogeneização dos componentes líquidos a separação de fases geralmente será rápida. Durante o processo de produção e processamento de petróleo as emulsões podem ser encontradas dentro de reservatórios, centro e topo dos poços, nas instalações de manipulação de petróleo úmido, transporte pelas tubulações, estocagem e durante o processamento do petróleo (KOKAL, 2005).

### 3.9 Tratamento de águas oleosas e limites permitidos

O lançamento de efluentes no meio ambiente é regulamentado pelos órgãos ambientais e de saúde pública, e independente do destino final ele deve passar por algum tipo de tratamento e se adequar aos requisitos para disposição final no ambiente a que se destina. Quanto à legislação ambiental, independente da forma como o óleo se apresenta, o descarte ou reinjeção da solução oleosa só é permitido depois que o óleo e os sólidos em suspensão são removidos (BRASIL, 2011).

A resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011 “Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes e complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, estabelece que o limite permitido para efluente oleoso é de 20 mg/L ou 20 ppm (BRASIL, 2011).

Referindo-se ao descarte de água produzida (água oleosa gerada na produção/exploração de petróleo) a Resolução nº 393 do CONAMA de 2007 estabelece que o descarte dessa água deva obedecer à concentração média aritmética simples mensal de óleos e graxas de até 29 mg/L, com valor máximo diário de 42 mg/L. Apesar desta resolução especificar o descarte de água produzida apenas quanto ao TOG (Teor de Óleos e Graxas), esta mesma resolução, no artigo 10, sinaliza outros parâmetros de controle no futuro, a partir do monitoramento semestral de frações orgânicas solúveis, HPA (Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), BTEX (benzenos, toluenos, etilbenzenos e xilenos), HTP (hidrocarbonetos totais de petróleo) (BRASIL, 2007).

Algumas técnicas como a adsorção, decantação, centrifugação, ultrafiltração e flotação são exemplos de tratamentos físicos ou químicos utilizados para a separação de uma mistura de óleo-água (PAINMANAKULA *et al.*, 2010). Segundo HU *et al.* (2002) os métodos tradicionais não são eficientes para separar o óleo emulsionado, principalmente quando as gotas de óleo estão finamente dispersas e em baixas concentrações. Identificar a forma como o óleo se encontra na água é fundamental para determinar a técnica que será utilizada para a sua remoção, pois para cada forma que o óleo se encontra na água existe uma técnica ideal para remoção eficiente do mesmo.

A presença de óleo em solução aquosa pode ser classificada de forma distinta, podendo estar livre, disperso, emulsionado e solubilizado. O óleo livre representa dispersões grosseiras constituídas por gotas com diâmetro superior a 150 µm. Este tipo de dispersão é facilmente removido por meio de processos convencionais de separação gravitacional. O óleo disperso, normalmente

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

com diâmetros de gota entre 50 e 150  $\mu\text{m}$ , também pode ser removido por processos gravitacionais, utilizando agentes estabilizantes dependendo da distribuição dos diâmetros das gotas. O óleo pode também estar solubilizado na água sendo extremamente difícil a sua remoção, requerendo o uso de processos químicos especiais tais como, a extração com solventes, e/ou o emprego do tratamento biológico. No caso do óleo emulsionado, o pequeno diâmetro das gotas (abaixo de 50  $\mu\text{m}$ ) e a estabilização da emulsão tornam a separação ainda mais difícil, o que requer a utilização de processos mais sofisticados tais como, a adsorção, a centrifugação ou a flotação, associados ao emprego de técnicas auxiliares, como a adição de coagulantes e surfactantes (CHEN; HE, 2003; ZADYMOVA et al., 2016).

### **3.10 Membranas filtrantes**

Uma membrana é um material (ou estrutura), com tamanho de poros específicos, tipicamente plana e fina, que separa dois ambientes que tem um volume finito. As membranas controlam seletivamente o transporte de massa entre as fases ou ambientes, através da interação em superfície. Elas são fabricadas em uma diversidade de configurações como estrutura tubular, fibra oca e espiral. Cada tipo de configuração possui grau variável de separação. Além disso, a hidrofília da superfície e o tamanho dos poros são características importantes para sua comercialização, pois ambas as características desempenham um papel central no sua performance (PADAKI, 2015).

Normalmente, os processos envolvendo separação por membranas são classificados de acordo o tamanho característico dos poros e suas respectivas aplicações em: microfiltração (MF) para remoção de sólidos suspensos, protozoários e bactérias; ultrafiltração (UF) para remoção de vírus e coloides, nanofiltração (NF) para remoção de dureza, metais pesados e matéria orgânica dissolvida; e por ultimo osmose reversa (OR) para dessalinização, reutilização de água e produção de água ultrapura (PENDERGAST; HOEK, 2011).

O excessivo requisito da produção de energia nos últimos tempos, vem produzindo uma maior quantidade de efluentes oleosos, que causam vários efeitos negativos no meio ambiente. No Mercado existem vários métodos para a purificação de águas residuais oleosas, incluindo métodos químicos (oxidação eletroquímica, tratamento com ozônio e com desmulsificantes) e físicos (filtros de areia, ciclones, adsorção com carvão ativado e resinas) convencionais. Porém esses métodos convencionais possuem suas próprias desvantagens, tais como: alto custo, usam compostos tóxicos, necessitam de grandes espaços para instalação e geram poluentes secundários (PADAKI, 2015).

Tendo em vista essas desvantagens, a utilização da membrana tornou-se uma tecnologia de separação significativa. As aplicações dessa se espalharam e se tornaram uma tecnologia de separação essencial. Entre as vantagens podem-se citar os fatos de que essa funciona sem adição de produtos químicos, com menor necessidade de energia, é fácil de manusear e tem conduções

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

de processo bem organizadas. Separação de membranas já mostra mais eficiência em comparação com as técnicas convencionais e a eficiência depende inteiramente da própria membrana (PADAKI, 2015).

Entretanto, segundo Hassan (2017) uma enorme desvantagem da utilização das membranas e que a maioria das disponíveis comercialmente é produzida a partir de polímeros sintéticos de origem fóssil, e a produção dessas geralmente requer grandes quantidades de solventes e produtos químicos, como solventes orgânicos e inorgânicos como ácidos (ácido fluorídrico e clorídrico), álcoois (etanol e isopropanol), N, N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, 1,3-dimetil-2-imidazolidinona, N, N-dimetilacetamida, 1-metil-2-pirrolidinona, entre outros. Devido a esses fatos, um crescente interesse em produzir membranas baseadas em polímeros naturais, especialmente aqueles baseados em nanocelulose, tais como nanofibras de celulose e celulose bacteriana (CB) (figura 6).

Figura 6 - Membrana de celulose bacteriana com 10 dias de cultivo.



Fonte: Autoria própria (2019).

A CB quando produzida é dotada de uma estrutura de rede altamente porosa, que a qualifica para uso em propósitos de filtração. Relativamente poucos estudos foram publicados sobre a utilização de CB não modificada e modificada como membranas para tratamento de água. Porém, com esses poucos estudos, é nitido o potencial que as membranas de CB têm para serem usadas em remoções eficientes de óleo de não estabilizado e emulsões óleo-em-água estabilizadas (HASSAN, 2017).

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D. M. Biofilme de blenda de féculas de batata e celulose bacteriana na conservação de fruta minimamente processada. 2010. 283f. **Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais) - Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos Agroindustriais**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- ANDRADE, F. K.; PERTILE, R. A. N.; DOURADO, F.; GAMA, F. M. Bacterial cellulose: properties, production and applications. **Nova Science Publishers**, p. 427 - 458, 2010.
- ANTÔNIO, R. V.; RECOUVREUX, D. O. S.; NAZARIO, A. C.; TIMBONI, D.; FERRARINI, E.; RODOWANSKI, G. P.; CAUDURO, M. T.; PERES, S. S. Produção de celulose bacteriana a partir de diferentes substratos. 2012. In: **Simpósio de Integração Científica e Tecnológica do Sul Catarinense. Revista Técnico Científica**, v. 3, n. 1, 2012.
- ASHTAVINAYAK, P.; ELIZABETH, H. A. Review: Gram Negative Bacteria in Brewing. **Advances in Microbiology**. v. 6, p. 195 - 209, 2016.
- BARUD, H. S. Materiais multifuncionais baseados em celulose bacteriana. 2010. **Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista**, Araraquara, 2010.
- BARUD, H. S.; RIBEIRO, C. A.; CRESPI, M. S.; MARTINES, M. A.; DEXPERTGHYS, J.; MARQUES, R. F. C.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. Thermal characterization of bacterial cellulose-phosphate composite membranes. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 87, n. 3, p. 815 - 818, 2007.
- BECKER, J.R. Crude oil waxes, emulsions and asphaltene. Oklahoma: Pennwell, pp. 5-29, 1997.
- BORZANI, W.; SOUZA, S. J. Mechanism of the film thickness increasing during the bacterial production of cellulose on non-agitated liquid media. **Biotechnology Letters**, v. 17, p. 1271–1272, 1995.
- BRASIL. Resolução CONAMA 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes e complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2011.
- BRASIL. Resolução CONAMA nº 393 de 2007. Dispõe sobre o descarte contínuo de água de processo ou de produção em plataformas marítimas de petróleo e gás natural, e dá outras providências. **Diário Oficial da União nº 152**.
- BROWN JR., R. M.; SAXENA, I.; KUDLICKA, K. Cellulose biosynthesis in higher plants. **Trends in Plant Science**. v. 1, n. 5, p. 149 - 156, 1996.
- ÇAKAR, F.; ÖZER, I.; AYTEKIN, A.Ö.; ŞAHİN, F. Improvement production of bacterial cellulose by semi-continuous process in molasses medium. **Carbohydrate Polymers**, v. 106, p. 7–13, 2014.
- CARPENTER, A.W.; LANNOY S-F., WIESNER, M.R. Cellulose nanomaterials in water treatment technologies. **Environmental Science & Technology**, v. 49, p. 5277-87 2015.
- CARREIRA, P.; MENDES, J. A. S.; TROVATTI, E.; SERAFIM, L. S.; FREIRE, C. S. R.; SILVESTRE, A. J. D.; PASCOAL NETO, C. Utilization of Residues from Agro-forest Industries in The Production of High Value Bacterial Cellulose. **Bioresources Technology**. v. 102, n. 15, p. 7354 - 7360, 2011.

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

CAVKA, A.; GUO, X.; TANG, S. J.; WINESTRAND, S.; JÖNSSON, L. J.; HONG, F. Production of bacterial cellulose and enzyme from waste fiber sludge. **Biotechnology for Biofuels**, v. 6, p. 1–10 2013.

CEIVAP - Comitê de Integração da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul. **Resolução nº 27. D.O.U** em 17 de janeiro, 2002.

CHAWLA, P. R.; BAJAJ, I. B.; SURVASE, S. A.; SINGHAL, R. S. Microbial cellulose: fermentative production and applications. **Food Technology and Biotechnology**. v. 47, n. 2, p. 107 - 124.2009.

CHEN, G. H.; HE, G. H. Separation of water and oil from water-in-oil emulsion by freeze/thaw method. **Separation and Purification Technology**, v. 31, p. 83-89, 2003.

CHEN, P.; CHO, S. Y.; JIN, H-J. Modification and Applications of Bacterial Celluloses in Polymer Science. **Macromolecular Research**. v. 18, n. 4, p. 309 - 320, 2010.

CHEN, Y.; SHARMA-SHIVAPPA, R. R.; KESHWANI, D.; CHEN, C. Potential of agricultural residues and hay for bioethanol production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. v.2, n. 142, p.276-290, 2007.

CNRH - Conselho Nacional de Recursos Hídricos. **Resolução nº 55. D.O.U em 08 de fevereiro**, 2005.

COSTA, A. F. S.; ROCHA, M. A. V.; SARUBBO, L. A. Bacterial cellulose: an ecofriendly biotextile. **International Journal of Textile and Fashion Technology**, v. 7, p. 11-26, 2017.

COSTA, Andrea F. S. et al. Production of Bacterial Cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* Using Corn Steep Liquor As Nutrient Sources. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 8, p.1-12, 17 out. 2017. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.02027>.

CRUZ-ROMERO, M.; KERRY, J.P. Crop-based biodegradable packaging and its environmental implications. CAB Reviews: **Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 3, p. 1–25, 2008.

CZAJA, W. K.; KRYSZYNOWICKZ, A.; BIELECKI, S.; BROWN JR., R. M. Microbial cellulose—the natural power to heal wounds. **Biomaterials**, v. 27, n. 2, p. 145–151, 2006.

CZAJA, W. K.; YOUNG, D. J.; KAWECKI, M.; BROWN JR, R. M. The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. **Biomacromolecules**. v.8, n. 8, p. 1 - 12, 2007.

DE LEY, J.; GILLIS, M.; SWINGS, J.; Family VI. Acetobacteraceae. In: Krieg, N.R. and Holt, J.G., Eds., Bergey's. **Manual of Systematic Bacteriology**. v. 1, p. 267 - 278, 1984.

DEMORE, J. P. Aspectos sedimentares do estuário da lagoa dos patos e sua interação com a poluição por petróleo: subsídios para um plano de contingência. 2001. 52 f. **Monografia (Graduação em oceanografia) - Universidade Federal do Rio Grande**, Rio Grande, 2001.

DONINI, Í. A. N.; SALVI, D. T. B. DE; FUKUMOTO, F. K.; LUSTRI, W. R.; BARUD, H. S.; MARCHETTO, R.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. **Eclética Química**, v. 35 - 4: p. 165 - 178, 2010.

DUDMAN, W. F. Cellulose production by *Acetobacter* strains in submerged culture. **J Gen Microbiol**, v. 22, n. 1900, p. 25–39, 1960.

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

DUFRESNE, A. Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials. **Walter De Gruyter**, Berlin, 2012.

EL-GAWAD, H. S. A. Oil and Grease Removal from Industrial Wastewater Using New Utility Approach. **Advances in Environmental Chemistry**, 2014.

ESA, F.; TASIRIN, S. M.; RAHMAN, N. A. Overview of bacterial cellulose production and application. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**. v. 2, p. 13 - 119, 2014.

FAVIER, V.; CANOVA, G.R.; CAVAILLÉ, J.Y.; CHANZY, H.; DUFRESNE, A.; GAUTHIER, C. Nanocomposite materials from latex and cellulose whiskers. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 6, p. 351–355, 1995.

FERNANDES, V. K.; MARTENDAL, C. P. **Tag: roupa de bactérias - Descubra a matéria-prima mais inusitada para a fabricação de roupas**. 2016. Disponível em: <<http://engenheirodemateriais.com.br/tag/roupa-de-bacterias/>>. Acesso em: 10 dez. 2016.

GAYATHRY, G.; GOPALASWAMY, G. Production and Characterization of Microbial Cellulosic Fibre From *Acetobacter Xylinum*. **Indian Journal of Fibre and Textile Research**. v. 39, p. 93 - 96, 2014.

GOMES, F. P.; SILVA, N. H. C. S.; TROVATTI, E.; SERAFIM; L. S.; DUARTE, M. F.; SILVESTRE, A. J. D.; PASCOAL NETO, C.; FREIRE, C. S. R. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue. **Biomass and Bioenergy**. v. 55, p.205 - 211, 2013.

GONZALEZ, G.; FRANCO, Z. A.; TAVARES, A. F. C.; DIBAI, A. J. V.; PORTO, J. M. S. Emulsões e borras (parte 1): teoria da formação e quebra das emulsões. **Boletim Técnico da Petróbras**, Rio de Janeiro, v. 31, p.95-103, 1988.

HABIBI, Y.; LUCIA, L.A.; ROJAS, O.J. Cellulose nanocrystals: chemistry self-assembly, and applications. **Chemical Reviews**, v. 110, p. 3479–3500, 2010.

HASSAN, E.; HASSAN, M.; ABOU-ZEID, R.; BERGLUND, L.; OKSMAN, K. Use of Bacterial Cellulose and Crosslinked Cellulose Nanofibers Membranes for Removal of Oil from Oil-in-Water Emulsions. **Polymers**, v.9, p. 388-351 , 2017.

HENRIQUE, M.A.; NETO, W.P.F.; SILVÉRIO, H.A.; MARTINS, D.F.; GURGEL, L.V.A.; DA SILVABARUD, H.; DE MORAIS, L.C.; PASQUINI, D. Kinetic study of the thermal decomposition of cellulose nanocrystals with different polymorphs, cellulose I and II extracted from different sources and using different types of acids. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 128–140, 2015.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **Biochemistry Journal**, v. 58, n. 2, p. 345-352, 1954.

HIRAI, A.; TSUJI, M.; HORII, F. Culture conditions producing structure entities composed of Cellulose I and II in bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 4, p. 239–245, 1997.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. Genus *Acetobacter* and *Gluconobacter*. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. **Williams and Wilkins**, 19 th edn. Williams and Wilkins , MD, USA, v. 71, p. 84, 1994.

HONG, F.; QIU, K. An alternative carbon source from konjac powder for enhancing production of bacterial cellulose in static cultures by a model strain *Acetobacter aceti* subsp. *xylinus* ATCC 23770. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 3, p. 545 - 549, 2008.

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

HU, G.; LI, J.; ZENG, G.; Recent development in the treatment of oily sludge from petroleum industry: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 261, p. 470 – 490, 2013.

HU, X.; BEKASSY-MOLNAR, E.; VATAI, G. Study of ultrafiltration behaviour of emulsified metalworking fluids. **Desalination**, v. 149, p. 191-197, 2002.

HUANG, Y.; ZHU, C.; YANG, J.; NIE, Y.; CHEN, C.; SUN, D. Recente advances in bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 21, p. 1 - 30, 2014.

HUNGUND, B. S.; GUPTA, S. G. Improved production of bacterial cellulose from *Gluconacetobacter persimmonis* GH-2. **Journal of Microbial and Biochemical Technology**, v. 2, p. 127-133, 2010.

IGUCHI M.; YAMANAKA, S.; BUDHIONO, A. Bacterial cellulose: a masterpiece of nature's arts. **Journal of Materials Science**. v. 35, n. 2, p.261 - 270, 2000.

JONAS, R.; FARAH, L. F. Production and application of microbial cellulose. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, n. 1-3, p. 101–106, 1998.

JOZALA, A. F.; PÉRTILE, R. A. N.; SANTOS, C. A.;EBINUMA, V. C. S.; SECKLER, M. M.; GAMA, F. M.; PESSOA JÚNIOR, A. Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* by employing alternative culture media. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 3, p. 1181–1190, 2014.

JUNG, J. Y.; PARK, J. K.; CHANG, H. N. Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* in an agitated culture without living non-cellulose producing cells. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, n. 3, p. 347–354, 2005.

KARHU, M.; KUOKKANEN, V.; KUOKKANEN, T.; RAMO, J. Bench scale electrocoagulation studies of bio oil-in-water and synthetic oil-in-water emulsions. **Separation and Purification Technology**, v. 96, p. 296-305, 2012.

KELESOGLU, S.; PETTERSEN, B. H.; SJOBLUM, J. Flow properties of water-in-North Sea Heavy crude oil emulsions. **Journal of Petroleum Science and Engineering**. v. 100, p. 14-23, 2012.

KIZILTAS, E. E.; KIZILTAS, A.; GARDNER, D. J. Synthesis of bacterial cellulose using hot water extracted wood sugars. **Carbohydrate Polymers**, v. 124, p. 131–138, 2015.

KLEMM, D.; KRAMER, F.; MORITZ, S.; LINDSTROM, T.; ANKERFORS, M.; GRAY, D.; DORRIS, A. Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. **Angewandte Chemie International**, v. 50, p. 5438–5466, 2011.

KLEMM, D.; SCHUMANN, D.; KRAMER, F.; HEßLER, N.; HORNUNG, M.; SCHMAUDER, H-P.; MARSCH, S. Nanocelluloses as innovative polymers in research and application. **Advances in Polymer Science**, v. 205, p. 49 - 96, 2006. DOI 10.1007/12\_097

KLEMM, D.; SCHUMANN, D.; UDHARDT, U.; MARSCH, S. Bacterial synthesized cellulose - artificial blood vessels for microsurgery. **Progress in Polymer Science**, v. 26, p. 1561-1603, 2001. DOI: 10.1016/S0079-6700(01)00021-1

KOKAL, S. L. Crude Oil Emulsions: A State-Of-The-Art Review. **Society of Petroleum Engineers**. 2005.

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

KONGRUANG, S. Bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* strains from agricultural waste products. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 148, p. 245 - 256, 2008. DOI 10.1007/s12010-007-8119-6

KULIK, K.; TRAPIDO, M.; VERESSININA, Y.; MUNTER, R. Treatment of surfactante stabilized oil-in-water emulsions by means of chemical oxidation and coagulation. **Environment Technology**, 2007.

LAVOINE, N.; DESLOGES, I.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. Microfibrillated cellulose—its barrier properties and applications in cellulosic materials: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 735–764, 2012.

LI, Z.; WANG, L.; HUA, J.; JIA, S.; ZHANG, J.; LIU, H. Production of nano bacterial cellulose from waste water of candied jujube-processing industry using *Acetobacter xylinum*. **Carbohydrate Polymers**, v. 120, p. 115–119, 2015.

LIMA, L. R.; SANTOS, D. B.; SANTOS, Mo. V.; BARUD, H. S.; HENRIQUE, M. A.; PASQUINI, D.; PECORARO, E.; RIBEIRO, S. J. L. Nanocristais de celulose a partir de celulose bacteriana. nanocristais de celulose a partir de celulose bacteriana. **Química Nova**. v. 9, p. 1140 - 1147, 2015. DOI 10.5935/0100-4042.20150131

MOHAMMADKAZEMI, F.; AZIN, M.; ASHORI, A. Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. **Carbohydrate Polymers**. v. 117, p. 518 - 523, 2015. DOI 10.1016/j.carbpol.2014.10.008

MOON, R.J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, v. 40, p. 3941–3994, 2011.

MOOSAVI-NASAB, M.; YOUSEFI, M. Biotechnological production of cellulose by *Gluconacetobacter Xylinus* from agricultural waste. **Iranian Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 94–101, 2011

MUKHERJEE, S.M.; WOODS, H.J. X-ray and electron microscope studies of the degradation of cellulose by sulphuric acid. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 10, p. 499–511, 1953.

PADAKI, M.; SURYA MURALI, R.; ABDULLAH, M.S.; MISDAN, N.; MOSLEHYANI, A.; KASSIM, M.A.; HILAL, N.; ISMAIL, A.F.; Membrane technology enhancement in oil–water separation. A review. **Desalination**, v. 357 , p. 197–207, 2015

PAINMANAKULA, P.; SASTARAVETA, P.; LERSJINTANAKARNB, S.; KHAODHIARA, S. Effect of bubble hydrodynamic and chemical dosage on treatment of oily wastewater by induced air flotation (IAF). **Process. Chem. Eng. Res. Des**, v. 88, p. 693–702, 2010.

PARK, S. Uk.; LEE, B. K.; KIM, M. S.; PARK, K. K.; SUNG, W. J.; KIM, H. Y.; HAN, D. G.; SHIM, J. S.; LEE, Y. J.; KIM, S. H.; KIM, I. H.; PARK, D. H. The possibility of microbial cellulose for dressing and scaffold materials. **International Wound Journal**. v. 11, p. 35 - 43, 2012.

PECORARO, E.; MANZANI, D.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. Bacterial cellulose from *Gluconacetobacter xylinus*: preparation, properties and applications. In: **BELGACEM, M. N.; GANDINI, A. Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Amsterdam: Elsevier, 2008. v. 1, cap. 17, p. 369-383.

PENDERGAST, M. M.; HOEK, E.M.V; A review of water treatment membrane nanotechnologies. **Energy Environ. Sci.**, v. 4, p. 1946–1971, 2011

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

PIGOSSI, S. S. C.; DE OLIVEIRA, G. J. P. L.; FINOTI, L. S.; NEPOMUCENO, R.; SPOLIDORIO, L. C.; ROSSA, C. JR.; RIBEIRO, S. J. L.; SASKA, S.; SCAREL-CAMINAGA, R. M. Bacterial cellulose-hydroxyapatite composites with osteogenic growth peptide (OGP) or pentapeptide OGP on bone regeneration in critical-size calvarial defect model. **Journal of Biomedical Materials Research – Part A**. v. 10, n. 10, p. 3397 - 406, 2015.

RAJASULOCHANA, P.; PREETHY, V. Comparison on efficiency of various Technologies in tratment of waste and sewage water A – comprehensive review. **Resource – Efficient Technologies**, 2016.

RAMALHO, J. B. V. S. **Curso básico de processamento de petróleo: tratamento de água oleosa**, RPSE/DIROLISEPET, Rio de Janeiro, 1992.

RANGASWAMY, B. E.; VANITHA, K. P.; HUNGUND, B. S. Microbial Cellulose Production from Bacteria Isolated from Rotten Fruit. **International Journal of Polymer Science**. v. 2015, p. 1 - 9, 2015.

RIZWAN, Muhammad et al. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [s.l.], v. 92, p.394-404, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.034>.

ROSS, P.; MAYER, R.; BENZIMAN, M. Cellulose Biosynthesis and Function In Bacteria. **Microbiological Reviews**. v. 55, n. 1, p. 35 - 58, 1991.

SAKURADA, I.; NUKUSHINA, Y.; ITO, T. Experimental determination of the elastic modulus of crystalline regions in oriented polymers. **Journal of Polymer Science**, v. 57, p. 651–660, 1962.

SANI, A.; DAHMAN, Y. Improvements in the production of bacterial synthesized biocellulose nanofibres using different culture methods. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 85, p. 151–164, 2010.

SANTANDER, M.; RODRIGUES, R. T.; RUBIO, J. Modified jet flotation in oil (petroleum) emulsion/water separations. **Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 375, p. 237-244, 2011.

SANTOS, S. M.; CARBAJO, J. M.; QUINTANA, E.; IBARRA, D.; GOMEZ, N.; LADERO, M.; EUGENIO, M. E.; VILLARA, J. C. Characterization of purified bacterial cellulose focused on its use on paper restoration. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 173 - 181, 2015.

SHAW, D. J. Introduction to colloid and surface chemistry. London: **Butterworths**, 1975.

SHEYKHNAZARIA, S.; TABARSAA, T.; ASHORIB, A.; SHAKERIC, A.; GOLALIPOURD, M. Bacterial synthesized cellulose nanofibers; effects of growth times and culture mediums on the structural characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, p. 1187– 1191, 2011.

SHIRAI, A.; TAKAHASHI, M.; KANEKO, H.; NISHIMURA, S-I.; OGAWA, M.; NISHI, N.; TOKURA, S. Biosynthesis of a novel polysaccharide by *Acetobacter xylinum*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 16, n. 6, p. 297–300, 1994.

SILVA, F.C.P.R.E.; SILVA, N.M.P.R.; MOURA, A.E.; ALMEIDA, R.G.; LUNA, J.M.; RUFINO, R.D.; SANTOS, V.A.; SARUBBO, L.A. Effect of biosurfactant addition in a pilot scale dissolved air flotation system. **Separation Science and Technology**, v.50, p. 618- 625, 2015.

SON; H-J.; HEO, M-S.; KIM, T-G.; LEE, S-J. Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose by a newly isolated *Acetobacter*. **Biotechnology and Applied biochemistry**, v. 33, p. 1–5, 2001.

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

TANSKUL, S.; AMORNTHATREE, K.; JATURONLAK, N. A new cellulose-producing bacterium, *Rhodococcus* Sp. MI 2: screening and optimization of culture conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 421-428, 2013.

TESSELE, F.; ROSA, J. J.; RUBIO, J. Os avanços da flotação no tratamento de águas, esgotos e efluentes. **Saneamento Ambiental**, v. 102, p. 30-42, 2009.

THAKUR, V.K. Nanocellulose Polymer Nanocomposites. Fundamentals and Applications. **Wiley-Scrivener Publishing**, New York, 2015.

TSOUKO, E.; KOURMENTZA, C.; LADAKIS, D.; KOPSAHELIS, N.; IOANNA MANDALA, I.; PAPANIKOLAOU, S.; PALOUKIS, F.; ALVES, A. KOUTINAS, A. Bacterial Cellulose Production from Industrial Waste and by-Product Streams. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 7, p. 14832–14849, 2015.

TYAGI, N.; SURESH, S. Production of cellulose from sugarcane molasses using *Gluconacetobacter intermedius* SNT-1: optimization & characterization. **Journal of Cleaner Production**, v. 112, p. 71-80, 2016.

UL-ISLAM, M.; KHAN, T.; PARK, J. K. Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 2, p. 596 - 603, 2012.

WANG, J.; ZHU, Y.; DU, J. Bacterial cellulose: a natural nanomaterial for biomedical applications. **Journal of Mechanics in Medicine and Biology**, v. 11, p. 285-306, 2011.

WEN, J.; ZHANG, J.; WANG, Z.; ZHANG, Y. Correlations between emulsification behaviors of crude oil – water systems and crude oil compositions. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 146, p. 1-9, 2016.

WU, J.; ZHENG, Y.; SONG, W.; LUAN, J.; WEN, X.; WU, Z.; CHEN, X.; WANG, Q.; GUO, S. In Situ Synthesis of Silver-Nanoparticles/Bacterial Cellulose Composites for Slow-Released Antimicrobial Wound Dressing. **Carbohydrate polymer**, v. 102, p. 762 - 771, n. 15, 2014.

WU, J.M.; LIU, R.H. Thin stillage supplementation greatly enhances bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 116-121, 2012.

YU, L.; HAN, M.; HE, F. A review of treating oily wastewater. **Arabian Journal of chemistry**, 2013.

ZADYMOVA, N. M.; SKVORTSOVA, Z. N.; TRASKINE, V. Y.; KULIKOV-KOSTYUSHKO, F. A.; KULICHIKHIN, V. G.; MALKIN, A. Y. Rheological properties of heavy oil emulsions with diferente morphologies. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, 2016.

ZHANG, Z.; WANG, G.; NIE, Y.; JI, J. Hydrodynamic cavitation as na eficiente method for the formation of sub-100nm O/W emulsions withe high stability. **Chinese Journal of chemical Engineering**, v. 24, p. 1477-1480, 2016.

ZOUBOULIS, A. I.; AVRANAS, A. Treatment of oil-in-water emulsions by coagulation and dissolved-air flotation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 172, p.153–161, 2000.

ZYWICKA, A.; PEITLER, D.; RAKOCZY, F.; KONOPACKI, M.; KORDAS, M.; FIJAŁKOWSKI, K. The Effect of Different Agitation Modes on Bacterial Cellulose Synthesis BY *Gluconacetobacter xylinus* strains. **ACTA Scientarium Polonorum Zootechnica**, v. 14, p. 137–150, 2015.

# CAPÍTULO II

**Use of a bacterial cellulose filter for the removal of oil from wastewater**

Claudio José S. Galdino Jr.<sup>a,b</sup>, Alexandre D. Maia<sup>a</sup>, Hugo M. Meira<sup>a,b</sup>, Thais C. Souza<sup>a,b</sup>,  
Julia D. P. Amorim<sup>c</sup>, Fabiola C. G. Almeida<sup>b</sup>, Andréa F. S. Costa<sup>d</sup>, Leonie A. Sarubbo<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> *Universidade Católica de Pernambuco. Rua do Príncipe, 526, Boa Vista, CEP: 50050-900, Recife, Pernambuco, Brazil*

<sup>b</sup> *Instituto Avançado de Tecnologia e Inovação (IATI), Rua Joaquim de Brito, 216, Boa Vista, CEP: 50070-280, Recife, Pernambuco, Brazil*

<sup>c</sup> *Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, Pernambuco, Brazil*

<sup>d</sup> *Centro Acadêmico da Região Agreste, UFPE, Av. Campina Grande, s/n, Nova Caruaru, CEP: 50670-90, Caruaru, Pernambuco, Brazil*

\*Leonie Asfora Sarubbo (Author for correspondence)

Tel.: +55 81 21194084; fax: +55 81 21194000.

E-mail: [leonie.sarubbo@unicap.br](mailto:leonie.sarubbo@unicap.br)

## Resumo

O presente estudo descreve o desenvolvimento de um filtro a base de celulose bacteriana (CB) para o tratamento de águas oleosas. As membranas de CB foram produzidas em meio alternativo contendo 2.5% milhocina. Amostras de membranas previamente purificadas foram caracterizadas e testadas como filtros para a separação de óleo da água (concentrações de óleo de 10, 150 e 230 ppm). A vazão, o diâmetro do filtro e a espessura da membrana após 6 e 10 dias de cultivo foram avaliados em um sistema de filtração construído em poli (cloreto de vinila) (PVC). As membranas CB apresentaram flexibilidade, estabilidade térmica e resistência mecânica convincentes para sua aplicação como filtro. Entretanto, a membrana obtida após 10 dias suportou 100% mais força do que a membrana obtida após 6 dias. Os experimentos revelaram 100% de remoção do óleo de todas as emulsões. A vazão da filtração aumentou proporcionalmente ao diâmetro do filtro e diminuiu da membrana de 6 dias para a membrana de 10 dias. Os resultados do presente estudo são promissores e demonstram a eficiência, durabilidade e resistência deste novo material biodegradável e atóxico para o tratamento de águas oleosas geradas durante atividades industriais.

Palavras-chave: *Gluconacetobacter hansenii*; Membranas; Celulose Bacteriana; Filtração; Emulsões Oleosas; Águas Oleosas.

## 1. Introdução

Grandes quantidades de efluentes industriais emulsionados oriunda de atividades petroquímicas, químicas e minerais, bem como derramamentos de óleo são gerados diariamente em todo o mundo e o tratamento dessas águas oleosas é um problema para muitas indústrias [1,2]. De fato, águas residuais oleosas e emulsões de óleo em água estão

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

entre os principais poluentes lançados no meio ambiente. Tais emulsões consistem em uma mistura complexa de água, óleo e aditivos, como emulsificantes, inibidores de corrosão e agentes antiespumantes.

O teor de óleo das águas oleosas podem geralmente variar de 1 até 50% [3]. Os óleos flutuantes ou suspensos podem ser facilmente separados da fase aquosa dessas águas residuais por processos físicos simples. Entretanto, as emulsões são quimicamente estabilizadas e só podem ser separadas com um método apropriado [4].

As leis que regulam o descarte de águas residuais oleosas estão se tornando cada vez mais rigorosas. A concentração máxima de óleo permitida nos efluentes é estipulada pela legislação vigente em cada país. Nos Estados Unidos, o descarte de efluentes oleosos no setor de produção de metais e máquinas deve obedecer a um limite mensal máximo de 17 mg/L [5], enquanto no Brasil a concentração de óleo nos efluentes não deve exceder 20 mg/L [6]. Por outro lado, a concentração de óleo comumente encontrada em águas oleosas de efluentes (óleo emulsionado) da instalação comercial de usinas termelétricas, como exemplo, é calculada como aproximadamente 10 ppm [7].

Os processos mais comumente usados para o tratamento de efluentes oleosos, que compreendem um conjunto de etapas físicas e químicas, não são eficazes na remoção de gotículas de óleo ou na separação de emulsões. [4]. Tais dificuldades levaram ao desenvolvimento de novos processos para o tratamento de águas residuais oleosas [8]. Um grande número de publicações descreve o uso da filtração por membrana para essa finalidade. Microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração para o tratamento de águas residuais oleosas e emulsões, bem como a purificação da água são usadas para garantir o fornecimento de água limpa. Entretanto, a maioria das membranas disponíveis comercialmente são produzidas a partir de polímeros sintéticos de origem fóssil, que geralmente requerem grandes quantidades de solventes e produtos químicos. Durante os

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

estágios de construção do filtro, a utilização de solventes orgânicos e inorgânicos como ácidos (ácido fluorídrico e clorídrico), álcoois (etanol e isopropanol), N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, 1,3-dimetil-2-imidazolidinona, N, N-dimetilacetamida, 1-metil-2-pirrolidinona (NMP), entre outros, são utilizados [9, 10]. Assim, há um interesse crescente em membranas produzidas à base de polímeros naturais, como a celulose bacteriana (CB).

A CB é uma forma pura de celulose sintetizada por alguns microrganismos, como *Acetobacter xylinum* e *Gluconacetobacter hansenii* [11,12]. É altamente porosa e possui uma estrutura reticular com poros pequenos, o que qualifica esse material para fins de filtração. A CB também é resistente, biocompatível, biodegradável e renovável [13]. No entanto, o uso de CB como membrana de filtração ainda não foi amplamente investigado e poucos estudos foram publicados sobre o uso de membranas BC modificadas ou não modificadas para o tratamento de água. [4,14]. Por exemplo, um aerogel CB com a superfície modificada por trimetilsilano foi usado para remover o óleo e alguns solventes orgânicos da água [15]. Uma membrana CB menor que 6 µm na espessura foi coletada após dois dias de fermentação e foi testada para a filtração de *Chlorella* sp. albumina sérica bovina [16]. As membranas de CB estudadas mostraram-se capazes de remover aproximadamente 99% dos materiais-alvo. Folhas de nanopartículas preparadas a partir de CB foram testadas como membranas de ultrafiltração para remoção de polietilenoglicol com eficiência de 75% [17]. Compósitos laminados feitos de CB e quitina desacetilada foram testados para a remoção de polietileno glicol, com taxas de remoção de 85 a 90%, em comparação com a taxa de 30% usando a membrana pura de CB [18].

Apesar do uso de membranas de CB modificadas como filtros para algumas misturas oleosas, o uso da membrana pura como filtro para emulsões geradas em ambientes industriais ainda não foi descrito. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi testar a viabilidade das membranas de CB obtidas utilizando um meio alternativo como um filtro

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ... eficiente para a separação de óleo de emulsões modelo simulando as condições encontradas em processos industriais.

## **2. Materiais e Métodos**

### *2.1 Materiais*

Peptona, extrato de levedura, ácido cítrico mono-hidratado,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , glicose, ágar e hidróxido de sódio foram adquiridos da Merck Ltda., EUA. Já o resíduo industrial milhocina foi adquirido de empresas locais no estado de Pernambuco, Brasil.

### *2.2. Microrganismo*

*Gluconacetobacter hansenii* UCP1619 depositada no Banco de Culturas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pernambuco foi utilizada como produtora da celulose bacteriana.

### *2.3. Meio de crescimento e manutenção dos microrganismos*

A metodologia utilizada para manter a viabilidade do micro-organismo e para cultivá-lo em um meio padrão pré-estabelecido se baseia em estudos realizados por Hestrin e Schramm (HS) [19] adaptada por Hungund e Gupta [20] e Gomes et al. [11]. O meio HS utilizado para o crescimento da bactéria é composto por 20,0 g/L de glicose, 5,0 g/L de peptona, 5,0 g/L de extrato de levedura, 2,7 g/L de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e 1,15 g/L de ácido cítrico, em pH 5,0. Para a manutenção da bactéria, há um acréscimo de 15 g/L de ágar ao meio HS anteriormente citado. Ambos os meios são esterilizados a 121° por 15 minutos.

### *2.4. Meio de produção da celulose*

A celulose bacteriana foi produzida em meio HS modificado, com a seguinte composição: 1,5% de glicose, 2,5% de milhocina, 0,27% de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,15% de ácido

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ... cítrico, pH 5. A milhocina é composta por 21–45% proteína, 20–26% ácido láctico, 8% cinzas (contendo  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ), 3% açúcar e tem baixo teor de gorduras (0.9–1.2%) [21]. O meio HS modificado foi esterilizado a 121° por 15 minutos [12].

### 2.5. Condições de cultivo

O pré-inoculo foi preparado a partir do crescimento do microrganismo a 30 °C durante 48 h, em condições estáticas, em 100 mL de meio líquido HS contido em frascos Erlenmeyer de 500 mL. A suspensão celular preparada foi então inoculada a 3% em 100 ml do meio HS modificado contidos em frascos Scohtt de 500 ml e, em seguida, incubada estaticamente a 30 °C, durante 6 e 10 dias. Os experimentos foram realizados em triplicata.

### 2.6. Lavagem e purificação da película de CB

Após o cultivo, o líquido metabólico e as membranas de CB foram recolhidos e limpos por imersão em solução de NaOH a 4% durante 2h para eliminar as células retidas. Posteriormente, a CB foi pesada e o rendimento calculado. As amostras foram mantidas em um dessecador antes da pesagem [22].

### 2.7. Capacidade de Retenção de água (CRA)

Membranas úmidas de CB obtidas após 6 e 10 dias de cultivo foram pesadas e secas na estufa a 60°C a fim de remover completamente a água, até peso constante. Em seguida, a CRA foi obtida usando a Eq. 1:

$$\text{CRA (\%)} = \left( \frac{\text{Média dos pesos úmidos} - \text{Média dos pesos secos}}{\text{Média dos pesos úmidos}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

### *2.8. Medições do ângulo de contato*

As medições do ângulo de contato foram realizadas a 24 ° C em um sistema de ângulo de contato baseado em vídeo modelo ACO (ângulo de contato óptico). As medições do ângulo de contato foram obtidas através da análise do formato de uma gota de água destilada após ser colocada sobre a membrana CB por 20 s.

### *2.9. Permeabilidade ao óleo*

Para esse experimento, 3 g de óleo de soja foram colocados em um tubo de vidro com diâmetro interno de 25 mm e diâmetro externo de 27 mm. Uma membrana CB seca medindo 50 x 50 mm foi usada para selar a extremidade aberta do tubo. O tubo foi invertido e colocado em cima de um papel de filtro sobre uma lâmina de vidro para determinar se o óleo permeava a membrana ao longo do tempo. Foram realizadas observações com cinco amostras durante 3 dias de armazenamento [23,24].

### *2.10. Flexibilidade*

Para testar a flexibilidade, a membrana foi dobrada 100 vezes ao longo da mesma linha. A classificação da flexibilidade foi baseada no número de dobras até a falha na estrutura: pobre (< 20), razoável (20 to 49), boa (50 to 99) e excelente ( $\geq$  100) [24].

### *2.11. Microscopia Eletrônica de Varredura*

Amostras de CB obtidas após 6 e 10 dias, previamente secas, foram metalizadas (SANYU ELECTRON). A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies das amostras foi realizada utilizando um instrumento JEOL, JSM-5600 operando a 27 KV.

### 2.12. Porosidade

O cálculo da porosidade das membranas de CB de 6 dias e 10 dias foi realizado segundo a Eq. 2 [25], onde  $W_w$  (g) e  $W_d$  (g) são o peso úmido e o peso seco das membranas, respectivamente,  $d$  é a densidade da água ( $1 \text{ g/cm}^3$ ),  $D$  é a espessura (cm) e  $A$  é a área da membrana ( $\text{cm}^2$ ).

$$\text{Porosidade} = \frac{W_w - W_d}{(d \times A \times D)} \times 100 \% \quad (2)$$

### 2.13. Propriedades mecânicas

Resistência de tração à carga máxima (MPa), módulo de elasticidade de Young (E) e deformação até a ruptura ( $\epsilon$ ) (mm%) foram determinados para a caracterização das propriedades mecânicas das membranas de CB obtidas após 6 e 10 dias, seguindo os métodos descritos por Rethwisch and William [26]. As amostras secas foram cortadas em pedaços medindo  $10 \times 30 \text{ mm}$  e  $0,10 \text{ mm}$  de espessura. A resistência à tração foi determinada usando uma máquina de teste universal (EMIC DL - 500MF, Brasil) à temperatura ambiente com uma carga estática de  $0,5 \text{ N}$  e uma velocidade de  $5 \text{ m/min}$  (Método ASTM D882). O módulo de elasticidade e a relação tensão-deformação foram calculados com o auxílio do software Bluehill Lite™.

### 2.14. Difratomia de raios-X

O Índice de Cristalinidade (IC) da celulose é utilizado desde os anos 60, para explicar mudanças na estrutura da celulose após tratamentos biológicos e físico-químicos [27]. O X'pert MPD difratômetro (Phillips) com  $\text{CuK}\alpha$  radiação foi usada para medir os padrões de difratometria de raios X das membranas de CB. A cristalinidade foi medida como  $x (\%) = (I_{\text{max}} - I_{\text{min}}) / I_{\text{max}} \times 100\%$ , em que  $I_{\text{max}}$  é a altura do pico em  $2\theta = 22.5^\circ$  e  $I_{\text{min}}$  é o vale entre os picos  $2\theta = 22.5^\circ$  e  $\theta = 16.3^\circ$  [11].

### 2.15. Análise termogravimétrica

O analisador Mettler Toledo foi utilizado para a análise termogravimétrica (TGA) de amostras pesando aproximadamente 8 mg. Cada amostra foi digitalizada da temperatura ambiente até 600 °C, sob uma atmosfera de nitrogênio com uma taxa de fluxo de 20 mL/min para evitar a degradação termo oxidativa das amostras (taxa de aquecimento: 10 °C/min) [28].

### 2.16. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Para obter membranas mais desidratadas, as amostras foram colocadas em um dessecador com sílica gel em temperatura ambiente por duas semanas. As amostras foram digitalizadas com um espectrômetro Bruker FTIR (Equinox 55 Model, Bruker Co., Ettlingen, Alemanha). Grupos funcionais nas membranas de CB foram identificados no espectrofotômetro entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ . Todos os espectros foram registrados após 32 digitalizações com uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  [29].

### 2.17. Construção dos sistemas de filtração

Filtros construídos em PVC com diâmetros internos de 25 mm, 50 mm e 100 mm foram utilizados nos experimentos (Fig. 1A). Os filtros foram construídos com uma tela de nylon como suporte para as membranas, evitando a deformação e rasgo do biomaterial. As membranas de CB previamente preparadas com o mesmo diâmetro do filtro foram acopladas ao sistema de filtração (Figs. 1B,C), o qual foi preenchido com cada tipo de solução oleosa a ser tratada. Durante o procedimento de filtração, a pressão manométrica do sistema foi fixada em 1 atm e cada filtração teve uma duração de 4 minutos.

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

As membranas foram testadas 20 vezes nas mesmas condições de filtração para avaliar a remoção do óleo, durante o período de quatro meses. Durante os experimentos, as membranas foram lavadas com água da torneira à temperatura ambiente e armazenadas submersas em água deionizada em recipientes fechados (1L) sob refrigeração (8 °C) até o uso.

Experiências adicionais foram realizados após o cálculo da vazão mais alta e mais baixa para verificar a eficiência de filtração da membrana CB de 6 dias (100 mm de diâmetro) e da membrana CB de 10 dias (25 mm de diâmetro), durante 30 minutos, respectivamente, nas mesmas condições operacionais.

#### *2.18. Preparo das emulsões oleosas*

As emulsões de óleo em água foram preparadas com óleo de motor usado em motores "flex", capazes de funcionar com gasolina, GNV e álcool. O óleo do motor era do tipo SAE 20W-50 e continha uma proteção sintética (PETROBRAS), composta por um óleo lubrificante à base de parafina (mistura complexa de hidrocarbonetos) e aditivos que melhoram o desempenho.

Emulsões com concentrações de 10 ppm, 150 ppm e 230 ppm de óleo foram preparadas, tendo em vista que 20 ppm é o valor máximo de óleo permitido em efluentes industriais pela legislação brasileira vigente [6]. As emulsões foram preparadas e homogeneizadas por 15 min em banho de gelo usando um processador ultrassônico Hielscher (Hielscher UP400s, Teltow, Alemanha) e avaliadas nas formas estabilizadas com um surfactante não iônico apolar (monolaurato de polioxietileno sorbitano - Tween 20) adicionado em uma concentração de 0,5%.

#### *2.19. Determinação da concentração de óleo*

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

Para a determinação da concentração de óleo antes e depois da filtração pela membrana de CB, foi plotada uma curva de turbidez (NTU) versus concentração de óleo (ppm) com um auxílio do Turbidímetro ALFAKIT. Com a curva plotada e a partir da obtenção da equação da reta, foi possível obter a concentração de óleo antes e depois da filtração. Todos os dados são apresentados como média  $\pm$  DP.

### **3. Resultados and Discussões**

#### *3.1. Produção das membranas de CB*

O rendimento médio da celulose produzida em termos de membranas hidratadas foi  $475.2 \pm 13.7$  g/L de meio depois de 10 dias (Fig. 2A) e  $195.0 \pm 19.5$  g/L de meio depois de 6 dias (Fig. 2B). Para membranas secas, o rendimento foi  $2.69 \pm 0.12$  g/L depois de 6 dias e  $6.82 \pm 0.32$  g/L depois de 10 dias. Esses rendimentos são compatíveis com aqueles descritos e trabalhos anteriores envolvendo a produção de CB [4,12]. Como esperado, a etapa da purificação com NaOH favoreceu a uniformização da cor e a remoção de possíveis metabólitos do meio de cultura aderidos à superfície das membranas, conforme ilustrado na Fig. 2. Após a etapa de purificação, as membranas foram lavadas com água desionizada várias vezes para remover completamente o alcalino, até a obtenção de um pH neutro [19].

#### *3.2 Capacidade de Retenção de água (CRA)*

A CRA foi determinada após as membranas CB de 6 e 10 dias serem completamente secas até atingirem um peso constante. Os valores da CRA são exibidos na Tabela 1. Os resultados confirmam que ambas as membranas de CB têm uma alta porcentagem de água, superior a 98%, conforme descrito por Costa et al. [12]. Apesar dos diferentes tempos de fermentação, o teor de água permaneceu para ambas as membranas. Esse comportamento também pode ser observado mesmo em diferentes meios alternativos de fermentação [30].

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

Esse conteúdo de água fornece características hidrofílicas e oleofóbicas às membranas, conforme descrito pelo ângulo de contato obtido ( $34.5 \pm 2.3^\circ$ ), fundamentais para a separação eficiente de emulsões e misturas oleosas. O ângulo da superfície formado, entre  $0^\circ$  e  $90^\circ$ , é considerado hidrofílico, aumentando assim o contato da gota de água com sua superfície, o que, neste caso, é fundamental para a separação eficiente de emulsões e misturas oleosas.

O ângulo de contato com a água é um parâmetro vital para refletir a molhabilidade das membranas. A molhabilidade da superfície da membrana, por sua vez, é de grande importância, pois pode afetar diretamente o mecanismo de deslocamento de fluido através do sistema de filtragem. Com o ângulo de contato obtido, a água pode se espalhar e permear na superfície da membrana, enquanto os óleos presentes em emulsões não podem se espalhar e permear a superfície do filtro devido à sua característica hidrofílica, sendo retida na forma de gotículas.

### *3.3. Permeabilidade ao óleo, flexibilidade e porosidade*

As membranas CB foram testadas em relação à permeabilidade ao óleo. Sem isso, o óleo exsudaria através das membranas ao longo do tempo, afetando a eficiência da filtração. Tubos contendo óleo de soja foram cobertos com as membranas e colocados de cabeça para baixo em papel de filtro à temperatura ambiente e umidade constante. Os resultados não revelaram vestígios de permeação através das membranas.

As membranas de CB têm um grande número de grupos hidroxila e grupos carboxila hidrofílicos que impedem a absorção de moléculas de óleo na superfície da membrana. Hu et al. [23] e Chen et al. [24] relatam resultados semelhantes para membranas feitas de amido de batata oxidadas com glicerol como plastificante e sulfato de celulose (NaCS) plastificado com glicerol incorporado com amido, respectivamente. As membranas de CB também

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

exibiram excelente flexibilidade, permanecendo intactas (Fig. 3b), depois de dobradas muito mais de 100 vezes, conforme ilustrado na Fig. 3a.

A porosidade das membranas de 6 e 10 dias foi de 76,12% e 62,10%, respectivamente. A redução na porosidade é explicada pelo aumento da concentração de fibra de CB à medida que o tempo de fermentação aumenta. Da mesma forma, a mistura composta de nanofibrilas celulose (NFC) e polissulfona (PSF) produzida por Ding et al. [25] apresentou uma porosidade de 73.70%. Vale ressaltar que o aumento do valor da porosidade permite uma maior permeabilidade à água, melhorando a eficiência da separação do processo.

#### *3.4. Caracterização das membranas de CB por MEV*

Fig. 4 exibe as imagens do MEV das membranas de CB secas e puras. A rede de fibras das membranas foi ampliada 14 100 vezes (Fig. 4) depois de produzidas em um meio alternativo, nas condições ideais previamente selecionadas por Costa et al. [12]. As figuras mostram a dispersão das fibras e a aderência interfacial. A estrutura da rede compacta da CB consiste em um conjunto aleatório de fibrilas que formam uma rede tridimensional porosa. Ambas as membranas exibiram uma estrutura reticulada composta por nanofibrilas ultrafinas, com a membrana de 10 dias exibindo uma estrutura mais ligada e mais fechada (Figs. 4A,B).

A largura das nanofibras mudou com o aumento do tempo de cultivo e a espessura da membrana também aumentou devido à maior massa de CB formada. De acordo com Hassan et al. [4], a estrutura do tecido CB é única em termos de porosidade, compactação e impermeabilização.

### 3.5. *Ensaio Mecânicos*

Os resultados do ensaio de tensão máxima (N), Deformação Específica (%) e Módulo de Elasticidade (Mpa) das membranas de CB são mostrados na Fig. 5. A resistência à tração da membrana de CB obtida após 10 dias foi aumentada em 100% em relação à membrana de 6 dias. Entretanto, os valores de módulo de Elasticidade (Mpa) e a deformação específica (%) não se diferenciaram muito entre as membranas.

Como pode ser evidenciado pelas imagens do MEV, a membrana de CB obtida após 10 dias possui uma estrutura de fibra mais densa, resultando em uma resistência mecânica melhorada, devido à boa adesão interfacial e à formação de fortes interações entre as suas fibras.

De acordo com Almeida et al. [31], Gao et al. [32] and Costa et al. [12], a água e os resíduos agroindustriais presentes no meio de cultura atuam como plastificantes, alterando o desempenho mecânico da membrana. A água na CB hidratada diminui o número de ligações entre as moléculas de hidrogênio e reduz as forças intermoleculares, fazendo assim com que as membranas hidratadas exibam maior alongamento e menor resistência à tração do que a membranas secas.

Uma deformação plástica considerável das membranas de CB foi observada antes da ruptura na forma de uma fratura dúctil irreversível do biopolímero. A propagação de rachaduras no biomaterial aconteceu lentamente durante os testes de tração. Em relação à deformação, as películas hidratadas não retornam ao estado natural (não deformado), demonstrando que o biopolímero não tem elasticidade quando submetido a grandes estresses, sendo a quantidade de água mantida entre as fibras CB um fator determinante, pois ela atua como plastificante e sua ausência torna o biomaterial quebradiço e duro.

### 3.6. *Difratometria de Raio-X (DRX)*

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

O índice de cristalinidade (IC) foi calculado com base na intensidade dos picos. O IC obtido foi de 74.4% para a membrana de 6 dias e 78.8% para a membrana de 10 dias (Fig. 6). Estes resultados mostram que o aumento do tempo de cultivo aumentou a cristalinidade da membrana de CB.

A cristalinidade tem uma relação inversamente proporcional com a porosidade da superfície da celulose, isto é, quanto maior o tamanho dos cristais e a proximidade entre eles, menor o número de poros e menor a hidrofiliabilidade do polímero. O fato de os poros aumentarem de tamanho permite que uma quantidade maior de moléculas de água penetre e seja absorvida pela membrana, demonstrando um aumento no grau de hidrofiliabilidade [12]. No caso das membranas de CB, o aumento da cristalinidade indicou uma redução na porosidade, calculada e, conseqüentemente, menor penetração da água, como também demonstrado pelos resultados da filtração. Portanto, a membrana de 6 dias é mais favorável para uso como filtro, pois a maior porosidade aumenta a permeabilidade do material em comparação à membrana de 10 dias.

### 3.7. *Análise termogravimétrica*

A estabilidade térmica das membranas de CB, foram investigadas através da análise termogravimétrica (TGA) para amostras obtidas após 6 e 10 dias. Os resultados são mostrados na Fig. 7 e na tabela 2.

Os resultados mostram a ocorrência de duas etapas da perda de massa em ambas as amostras. O primeiro refere-se à evaporação da água remanescente na membrana e o segundo diz respeito à pirólise do polímero.

Durante a análise, as membranas produzidas no meio alternativo exibiram uma perda inicial de massa até uma temperatura de 105 ° C devido à perda de água. Ocorreu uma segunda perda significativa em torno de 300 °C, que pode ser atribuída à decomposição das

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

membranas. Essa perda de massa de biopolímero pode estar associada à degradação da celulose, envolvendo despolimerização e decomposição de unidades de glicose. Acima de 550 °C, as taxas de perda de massa eram baixas e as cinzas queimadas correspondiam a aproximadamente 20% da massa das membranas de CB. De acordo com Costa et al. [12], os resíduos agroindustriais usados na produção de membranas de CB conferem maior estabilidade térmica ao biopolímero em comparação com as membranas produzidas no meio HS padrão. Assim, o uso de um subproduto na produção de membranas de CB pode ajudar a reduzir o custo de produção, conferir características benéficas à membrana e minimizar o impacto ambiental, agregando valor econômico à membrana.

A temperatura máxima de deposição de um produto é um critério de estabilidade térmica. A degradação térmica é afetada por fatores estruturais variáveis, como massa molecular, cristalinidade e disposição das fibras [33]. Como a decomposição máxima das membranas ocorreu a 328 e 341 ° C, a CB exibe boa estabilidade térmica. Essa propriedade pode ser considerada positiva em termos de aplicações industriais do biopolímero, que permanecerá intacto sob condições operacionais a altas temperaturas (250 °C).

### *3.8. Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (ATR/FTIR)*

A Fig. 8 mostra regiões relevantes dos espectros de FTIR. As bandas principais observadas para a CB pura podem ser atribuídas a estiramento do grupo OH ( $3286\text{ cm}^{-1}$ ), estiramento CH de alcanos e estiramento assimétrico CH<sub>2</sub> ( $2921\text{ cm}^{-1}$ ), deformação C-OH e CH ( $1399\text{ cm}^{-1}$ ), sendo essas as principais atribuições que caracterizam uma celulose bacteriana pura, provando assim que os resultados obtidos a partir da espectroscopia para a membrana produzida em meio alternativo apresentaram resultados característicos, que provam que as membranas utilizadas nos experimentos são compostas de CB pura.

### 3.9. *Eficiência de remoção do óleo pelo sistema de filtração à base de membrana de CB*

A Tabela 3 demonstra a eficiência de remoção do óleo pelos sistemas de filtração à base de membranas de CB (obtidas após 6 e 10 dias), os volumes filtrados pelos sistemas de filtração durante 4 minutos à 1 atm e a quantidade de óleo remanescente no filtrado após a filtração pelos sistemas.

A eficiência máxima (100%) foi alcançada com os diferentes sistemas de filtração, pois todo o óleo foi removido das emulsões. Além disso, as membranas de CB produzidas após 6 dias apresentaram uma taxa de fluxo de filtração mais alta, atingindo quase o dobro do volume de emulsão filtrada com a mesma eficiência de remoção que as membranas obtidas após 10 dias de cultivo. Isso é explicado pelo índice de cristalinidade (74,4% para as membranas de 6 dias e 78,8% para as membranas de 10 dias). De acordo com Hassan et al. [4] e Costa et al. [12], a cristalinidade é inversamente proporcional à porosidade da superfície da celulose. Poros maiores permitem maior penetração das moléculas de água. Assim, o aumento da cristalinidade do biopolímero indica uma redução no tamanho dos poros e conseqüentemente uma menor vazão. Esses achados favorecem o uso do CB de 6 dias como membrana filtrante nas condições aqui estudadas. Uma explicação plausível para uma taxa de filtração mais lenta para a membrana de 10 dias seria a presença de mais camadas sem um arranjo de alinhamento adequado.

Os ensaios mecânicos (Fig. 5) mostram que a resistência à tração da membrana de 10 dias foi 100% maior que a da membrana de 6 dias. Isso indica que, apesar da menor vazão, a membrana de 10 dias é mais indicada quando são usadas pressões mais altas, pois suporta o dobro da quantidade de força que a membrana de 6 dias.

A taxa de remoção de óleo nesses experimentos foi superior aos resultados descritos por Silva et al. [34] e Chaprão et al. [35], que usaram um método clássico de separação (flotação de ar dissolvido) e obtiveram respectivamente taxas de remoção de óleo de 90 e

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

92% de águas oleosas. Hassan et al. [4] utilizou CB e uma membrana de nanofibra de celulose reticulada (NFC) e encontrou taxas de remoção de 98,3% e 92,9% de óleo de mamona de uma emulsão estabilizada, respectivamente.

Recentemente, outros tipos de membranas também foram testados com sucesso no tratamento de emulsões óleo-água. Membranas de carbono de microfiltração (MFCMs) têm sido usadas para o tratamento de águas residuais oleosas emulsionadas. No entanto, MFCMs mostra a restrição da deficiência de remoção de óleo inferior em cerca de 70% na ausência de qualquer meio de reforço. Para melhorar a remoção de óleo por essas membranas, microesferas à base de poliacrilonitrila (PAN) foram incorporadas. Os resultados demonstram que, com a adição de microesferas, a remoção de óleo pode atingir 93,6% [36]. Membranas de carbono de microfiltração híbrida de diatomita de alto desempenho (MFCMs) também foram desenvolvidas para remoção de óleo de águas residuais oleosas. A rejeição máxima de óleo alcançada foi de 98,2% para águas residuais oleosas de 200 mg / L [37]. Uma membrana hidrofóbica de fluoreto de polivinilideno (PVDF) também foi modificada por meio de uma estratégia de co-deposição fácil para melhorar sua hidrofobicidade e resistência à incrustação de óleo por reação e co-deposição de ácido tanino (TA) na superfície das membranas. A membrana otimizada foi dotada de super-hidrofobicidade e superoleofobicidade subaquática. Ele mostrou reutilização e sustentabilidade na separação de várias emulsões de óleo em água com 96% de eficiência [38].

Outro aspecto importante é que as membranas de CB dos sistemas de filtração do presente estudo foram limpas e reutilizadas 20 vezes. Durante esse processo: a forma, a espessura e a porosidade das membranas mantiveram-se inalteradas, demonstrando a considerável resistência e durabilidade do biomaterial, que continuou retendo 100% do óleo nas condições testadas nesta pesquisa. Novos testes realizados ao longo de 30 minutos

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

(Tabela 4 e Figura 9) para entender o comportamento da filtração durante um tempo mais longo de separação mostraram que, mesmo por durando um período mais longo, a vazão através da membrana permaneceu constante e a filtração manteve 100% de sua eficiência na remoção de óleo, com a membrana de 6 dias e 10 dias mostrando os valores de volume de  $1016.32 \pm 4.23$  mL e  $64.32 \pm 1.17$  mL, respectivamente. Como pode ser visto na figura 9, a membrana apresentou uma estabilização do fluxo de permeação de água durante o intervalo final da filtração. Outro ponto importante diz respeito à biodegradabilidade da membrana, ou seja, não existe mecanismo de poluição por essa membrana, uma vez que a CB é biodegradável. As membranas de CB são degradadas por microrganismos em condições ambientes, conforme descrito na literatura [39,40].

## **Conclusões**

Os estudos da aplicação da membrana de CB como um filtro para águas oleosas continuarão identificando parâmetros físicos e químicos como referência para esse tipo de efluente. Contudo, com a execução desses experimentos, identificou-se claramente o potencial da membrana pura de CB obtida em meio alternativo como um filtro eficiente para a separação de misturas oleosas em ambientes industriais. A alta resistência à umidade da CB, sua estrutura nanoporosa e a capacidade de remover contaminantes de tamanho micro fazem dela uma ótima candidata como membranas de filtração ambientalmente amigáveis. Para uma pesquisa futura, o estudo terá seu foco na diferença entre a filtração de uma solução oleosa emulsionada estabilizada contra uma solução não emulsionada. A caracterização adicional das membranas CB apoiará o uso do biomaterial como um filtro biotecnológico industrial.

## Acknowledgments

Este estudo recebeu financiamento das agências de fomento brasileiras *Fundação de Amparo à Ciência do Estado de Pernambuco (FACEPE)*, *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)*, *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)* e o Programa de Pesquisa e Desenvolvimento da *Agência Nacional de Energia Elétrica (ANEEL)*. Os autores agradecem aos laboratórios da *Universidade Católica de Pernambuco*, *Universidade Federal de Pernambuco* e *Instituto Avançado de Tecnologia e Inovação*, Brasil.

## Referências

- [1] Q. Wen, D.J. Jiang, L. Yu, J. Xu, Zeolite-coated mesh film for efficient oil–water separation, *Chem. Sci.* 4 (2013) 591–595. <http://dx.doi.org/10.1039/C2SC21772D>
- [2] S. Tao, Y. Wang, Synthesis of hierarchically porous silica film with controllable surface wettability, *Int. Nano Lett.* 4 (2014) 1–6. <https://doi.org/10.1007/s40089-014-0102-y>
- [3] F.C.P. Rocha e Silva, N.M.P. Rocha e Silva, J.M. Luna, R.D. Rufino, V.A. Santos, L.A. Sarubbo, Dissolved air flotation combined to biosurfactants: a clean and efficient alternative to treat industrial oily water, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol* 17 (2018) 591–602. <https://doi.org/10.1007/s11157-018-9477-y>

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

[4] E. Hassan, M. Hassan, R. Abou-zeid, L. Berglund, K. Oksman, Use of bacterial cellulose and crosslinked cellulose nanofibers membranes for removal of oil from oil-in-water emulsions, *Polymers*, 9 (2017) 388-351. <http://dx.doi.org/10.3390/polym9090388>

[5] H. Zhu, Z. Guo, Understanding the separation of oil/water mixtures from immiscible to emulsions on super-wettable surfaces, *J. Bionic. Eng.* 13 (2016) 1–29. [https://doi.org/10.1016/S1672-6529\(14\)60156-6](https://doi.org/10.1016/S1672-6529(14)60156-6)

[6] Brazil, 2011, Diário Oficial República Federativa do Brasil, Resolução CONAMA 430, <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>> accessed 20.12.2018.

[7] F.C.P. Rocha e Silva, N.M.P. Rocha e Silva, A. E. Moura, R.A. Galdino, J.M. Luna, R.D. Rufino, V.A. Santos, L.A. Sarubbo, Effect of biosurfactant addition in a pilot scale Dissolved Air Flotation system, *Sep. Sci. Technol.* 50 (2015) 618-625. <https://doi.org/10.1080/01496395.2014.957319>

[8] L. Yan, S. Hong, M.L. Li, Y.S. Li, Application of the Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>– PVDF nanocomposite tubular ultrafiltration (UF) membrane for oily wastewater treatment and its antifouling research, *Sep. Purif. Technol.* 66 (2009) 347–352.

[9] K.P., Lee, T.C., Arnot, D. Mattia, A review of reverse osmosis membrane materials for desalination-development to date and future potential, *J. Membr. Sci.* 370 (2011) 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2010.12.036>.

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

[10] Okita, Y., Fujisawa, S., Saito, T., & Isogai, A. (2011). *TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibrils Dispersed in Organic Solvents*. *Biomacromolecules*, 12(2), 518–522. doi:10.1021/bm101255x

[11] F.P. Gomes, N.H.C.S. Silva, E. Trovatti, L.S. Serafim, M.F. Duarte, A.J.D. Silvestre, C. Pascoal Neto, C.S.R. Freire, Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue, *Biomass and Bioenergy*, 55 (2013) 205 - 211. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.02.004>

[12] A.F.S. Costa, F.C.G. Almeida, G.M. Vinhas, L.A. Sarubbo, Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* using corn steep liquor as nutrient sources, *Front. Microbiol.* 8 (2017) 1-12. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.02027>.

[13] D. Wu, X. Li, C. Shen, J. Lu, J. Chen, G. Xie, Decreased ethyl carbamate generation during Chinese rice wine fermentation by disruption of CAR1 in an industrial yeast strain, *Int. J. Food Microbiol.* 180 (2014) 19–23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.007>

[14] A.W. Carpenter, S-F. Lannoy, M.R. Wiesner, Cellulose nanomaterials in water treatment technologies, *Environ. Sci. Technol.* 49 (2015) 5277-87. <http://dx.doi.org/10.1021/es506351r>

[15] H. Sai, R. Fu, L. Xing, J. Xiang, Z. Li, F. Li, T. Zhang, Surface modification of bacterial cellulose aerogels' web-like skeleton for oil/water separation, *ACS Appl. Mater. Interf.* 7 (2015) 7373–7738.

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

[16] P. Wanichapichart, S. Kaewnopparat, K. Buaking, W. Puthai, Characterization of cellulose membranes produced by *Acetobacter xylinum*. Songklanakarin J. Sci. Technol. 24 (2002) 855–862.

[17] A. Mautner, K.Y. Lee, P. Lahtinen, M. Hakalahti, T. Tammelin, K. Li, A. Bismarck, Nanopapers for organic solvent nanofiltration. Chem. Commun. 50 (2014) 5778–5781. <http://dx.doi.org/10.1039/C4CC00467A>

[18] M. Takai, F. Nonomura, T. Inukai, M. Fujiwara, J. Hayashi, Filtration and permeation characteristics of bacterial cellulose composite. Sen'i Gakkaishi 47 (1991) 119–129.

[19] S. Hestrin, M. Schramm, Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose, Biochem. J. 58 (1954) 345-352. <http://dx.doi.org/10.1042/bj0580345>

[20] B.S. Hungund, S.G. Gupta, Improved production of bacterial cellulose from *Gluconacetobacter persimmonis* GH-2. J. Mic. Biochem. Technol. 2 (2010) 127-133. <http://dx.doi.org/10.4172/1948-5948.1000037>

[21] D.K.F. Santos, H.M. Meira, R.D. Rufino, J.M. Luna, L.A. Sarubbo, Biosurfactant production from *Candida lipolytica* in bioreactor and evaluation of its toxicity for application as a bioremediation agent, Process Biochem 54 (2017) 20-27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2016.12.020>

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

[22] Z. Li, L. Wang, J. Hua, S. Jia, J. Zhang, H. Liu, Production of nano bacterial cellulose from waste water of candied jujube-processing industry using *Acetobacter xylinum*, Carbohydr. Polym. 120 (2015) 115–119. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.061>

[23] G. Hu, J. Chen, J. Gao, Preparation and characteristics of oxidized potato starch films, Carbohydr. Polym. 76 (2009) 291–298. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.090>

[24] G. Chen, B. Zhang, J. Zhao, H. Chen, Improved process for the production of cellulose sulfate using sulfuric acid/ethanol solution, Carbohydr. Polym. 95 (2013) 332–337. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.003>

[25] Ding, Z., Liu, X., Liu, Y., & Zhang, L. (2016). Enhancing the Compatibility, Hydrophilicity and Mechanical Properties of Polysulfone Ultrafiltration Membranes with Lignocellulose Nanofibrils. Polymers, 8(10), 349. doi:10.3390/polym8100349

[26] D.G. Rethwisch Jr., D.C. William, Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução, 9 (2016.) LTC, Rio de Janeiro, Brazil.

[27] S. Park, J.O. Baker, M.E. Himmel, P.A. Parilla, D.K. Johnson. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. Biotechnology for Biofuels, (2010). 3:10. [Online] Available: <http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/3/1/10>.

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

[28] E.E. Kiziltas, A. Kiziltas, D.J. Gardner, Synthesis of bacterial cellulose using hot water extracted wood sugars, *Carbohydr. Polym.* 124 (2015) 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.01.019>

[29] N. Limpan, T. Prodpran, S. Benjakul, S. Prasarpran, Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly(vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films, *Food Hydrocolloids*, 29 (2012), 226-233. [doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.007](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.007)

[30] J. D. P. Amorim, C.J.S.J. Galdino, A.F.S. Costa, J.F.H. Melo, L.A. Sarrubo, Potential evaluation of bacterial cellulose for cosmetic application, *Brazilian Journal of Development*, 5 (2019) 18457-18462. DOI:10.34117/bjdv5n10-098

[31] L.R. Almeida, A.R. Martins, E.M. Fernandes, M.B. Oliveira, V.M. Correlo, I. Pashkuleva, et al. New biotextiles for tissue engineering: development, characterization and in vitro cellular viability. *Acta Biomater.* 9 (2013) 8167–8181. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2013.05.019>

[32] X. Gao, Z. Shi, P. Kuśmierczyk, C. Liu, G. Yang, I. Sevostianov, Time-dependent rheological behaviour of bacterial cellulose hydrogel, *Mater. Sci. Eng.* 58 (2016) 153–159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.019>

[33] A. Vazquez, M.L. Foresti, P. Cerrutti, M. Galvagno, Bacterial cellulose from simple and low cost production media by *Gluconacetobacter xylinus*, *J. Polym. Environ.* 21 (2013) 545–554. <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-012-0541-3>

[34] F.C.P.R. Silva, N.P.P.R. Silva, I.A. Silva, P.P.F. Brasileiro, J.M. Luna, R.D. Rufino, V.A. Santos, L.A. Sarubbo, Oil removal efficiency forecast of a Dissolved Air Flotation (DAF) reduced scale prototype using the dimensionless number of Damköhler, *J. Water Process Eng.* 23 (2018) 45-49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.01.019>.

[35] M.J. Chaprão, R.C.F. Soares da Silva, R.D. Rufino, J.M. Luna, V.A. Santos, L.A. Sarubbo, Formulation and application of a biosurfactant from *Bacillus methylotrophicus* as collector in the flotation of oily water in industrial environment, *J. Biotechnol.* 285 (2018) 15-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.08.016>.

[36] X. Hong, B. Zhang, X. Zhang, Y. Wu, T. Wang, J. Qiu, Tailoring the structure and property of microfiltration carbon membranes by polyacrylonitrile-based microspheres for oil-water emulsion separation, *J. Water Process Eng.* 32 (2019) 100973. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100973>

[37] X. Zhang, B. Zhang, Y. Wu, T. Wang, J. Qiu, Preparation and characterization of a diatomite hybrid microfiltration carbon membrane for oily wastewater treatment, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 89 (2018) 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.04.035>

[38] Y. Sun, Y. Zong, N. Yang, N. Zhang, B. Jiang, L. Zhang, X. Xiao, Surface hydrophilic modification of PVDF membranes based on tannin and zwitterionic substance towards effective oil-in-water emulsion separation, *Sep. Pur. Technol.* 234 (2020) 116015. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116015>

Galdino, C. J. da S. J. Avaliação do potencial da celulose bacteriana no tratamento de ...

[39] M.W. Ullah, M. Ul-Islam, S. Khan, Y. Kim, J.K. Park, Innovative production of bio-cellulose using a cell-free system derived from a single cell line, *Carbohydr. Polym.* 132 (2015) 286–294. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.037>

[40] M.U. Islam, M.W. Ullah, S. Khan, N. Shah J.K. Park, Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose, *Int. J. Biol. Macromol.* 102 (2017) 1166-1173. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.110>.

**Tabela 1**

Capacidade de retenção de água (CRA) das membranas de CB obtidas depois da fermentação

Membranas de CB	6 dias de cultivo		10 dias de cultivo	
	Peso úmido (g)	Peso seco (g)	Peso úmido (g)	Peso seco (g)
	19,41	0,27	47,51	0,68
<b>CRA(%)</b>	98,61±0,55		98,56±0,61	

**Tabela 2**

Dados de decomposição térmica de amostras da CB obtidas da curva de TGA

Amostra	Estágio 1 (°C)			Estágio 2 (°C)		
	T <sub>onset</sub>	T <sub>offset</sub>	T <sub>max</sub>	T <sub>onset</sub>	T <sub>offset</sub>	T <sub>max</sub>
<b>CB 6-dias</b>	79	101	90	271	328	309
<b>CB 10-dias</b>	80	105	93	272	341	319

**Tabela 3**

Remoção de óleo da emulsão com concentrações de óleo de 10, 150 e 230 ppm através de sistemas de filtragem de 25, 50 e 100 mm de diâmetro com membranas de CB (6 e 10 dias de cultivo) por quatro minutos a 1 atm (dados expressos em média e desvio padrão)

Membranas de CB	Concentração do óleo na emulsão (ppm)	Diâmetro do Filtro (mm)								
		25			50			100		
		Volume filtrado (ml/4 min)	Conc. do óleo na água filtrada (ppm)	Eficiência na remoção do óleo (%)	Volume Filtrado (ml/4 min)	Conc. do óleo na água filtrada (ppm)	Oil removal efficiency (%)	Volume Filtrado (ml/4 min)	Conc. do óleo na água filtrada (ppm)	Oil removal efficiency (%)
Obtida após 6 dias	10	14,58 ± 0,52	0,00	100%	46,68 ± 2,29	0,00	100%	149,79 ± 2,50	0,00	100%
	150	13,49 ± 0,88	0,00	100%	37,38 ± 0,72	0,00	100%	145,00 ± 1,47	0,00	100%
	230	13,36 ± 1,16	0,00	100%	36,60 ± 1,20	0,00	100%	147,14 ± 1,62	0,00	100%
Obtida após 10 dias	10	9,28 ± 0,33	0,00	100%	29,13 ± 2,04	0,00	100%	88,45 ± 2,03	0,00	100%
	150	9,12 ± 0,14	0,00	100%	33,46 ± 2,09	0,00	100%	89,58 ± 1,31	0,00	100%
	230	9,00 ± 0,10	0,00	100%	31,92 ± 1,53	0,00	100%	90,50 ± 0,46	0,00	100%

**Tabela 4**

Remoção de óleo da emulsão com concentrações de óleo de 10 e 230 ppm através de sistemas de filtração de 25 e 100 mm de diâmetro com membranas de CB (6 e 10 dias de cultivo) por 30 minutos a 1 atm (dados expressos em média e desvio padrão)

<b>Membranas de CB</b>	<b>Concentração de óleo na emulsão(ppm)</b>	<b>Diâmetro do filtro (mm)</b>	<b>Volume Filtrado (mL / 30 min)</b>	<b>Conc. de óleo na água filt. (ppm)</b>	<b>Eficiência na remoção do óleo (%)</b>
6-dias	10	100	1016,32 ± 4,23	0,00	100
10-dias	230	25	64,32 ± 1,17	0,00	100

## LEGENDA DA FIGURAS

**Fig. 1.** Diâmetros internos (25, 50 e 100 mm) dos filtros de PVC (A); Membrana de CB previamente preparada com o mesmo diâmetro do filtro acoplado ao sistema de filtração (B) e sistemas de filtração em PVC (C).

**Fig. 2.** Membranas úmidas de CB após 6 (B) e 10 (A) dias de cultivo.

**Fig. 3.** A membrana de CB após ser dobrada muito mais do que 100 vezes

**Fig. 4.** Micrografias eletrônicas de varredura de membranas secas de 6 dias (A) e de 10 dias (B).

**Fig. 5.** Resistência à tração (N), deformação específica (%) e módulo de elasticidade (MPa) das membranas de CB.

**Fig. 6.** Difractometria de raios-X das membranas de CB obtidas após 6 e 10 dias de cultivo.

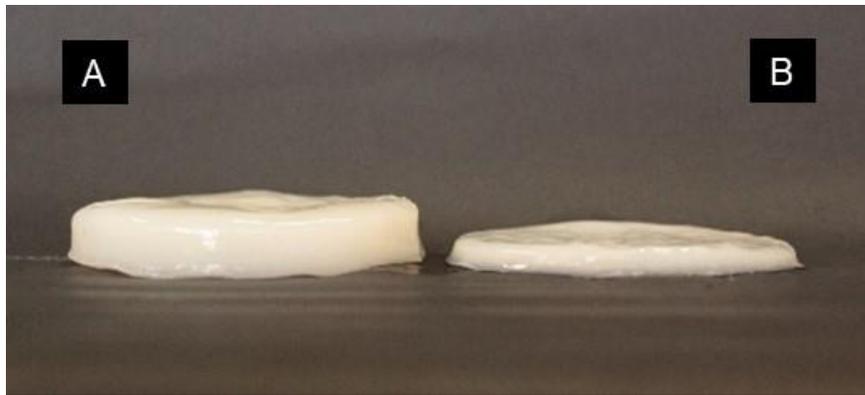
**Fig.7.** TGA das membranas de CB.

**Fig. 8.** Espectros da CB

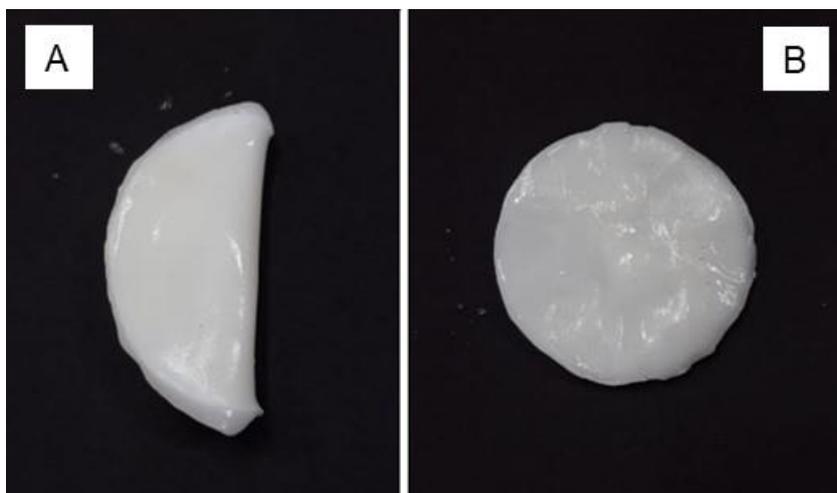
**Fig 9.** Desempenho de separação de óleo em fluxo de permeação de água versus tempo de execução para o filtro de CB de 100 mm



**Fig. 1.**



**Fig. 2.**



**Fig. 3.**

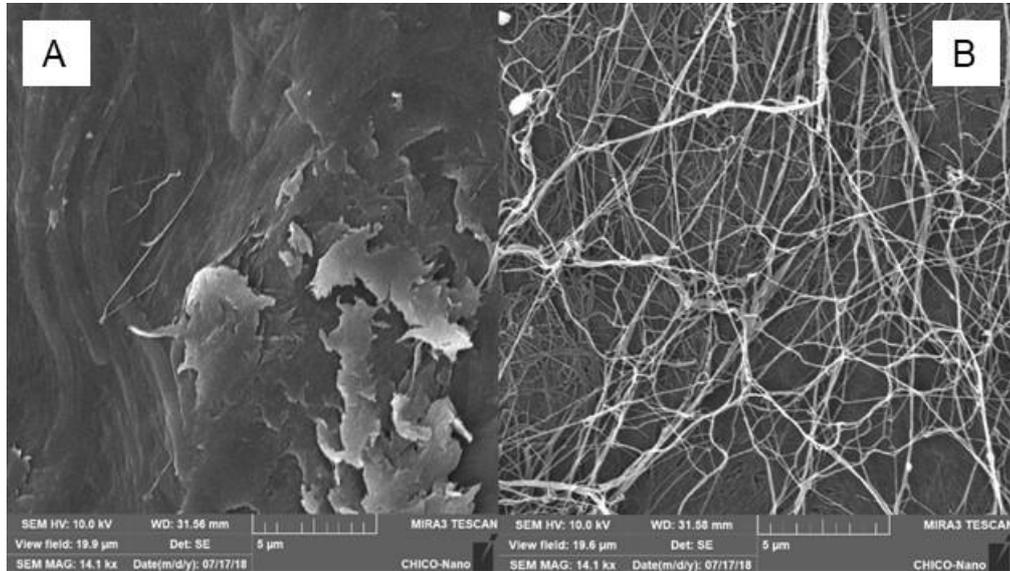
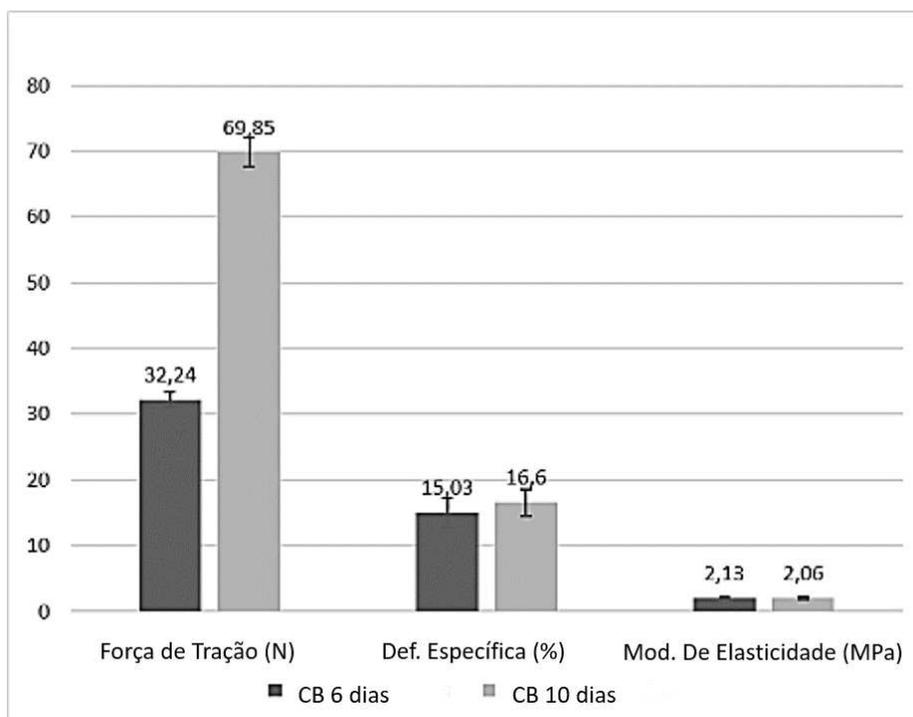
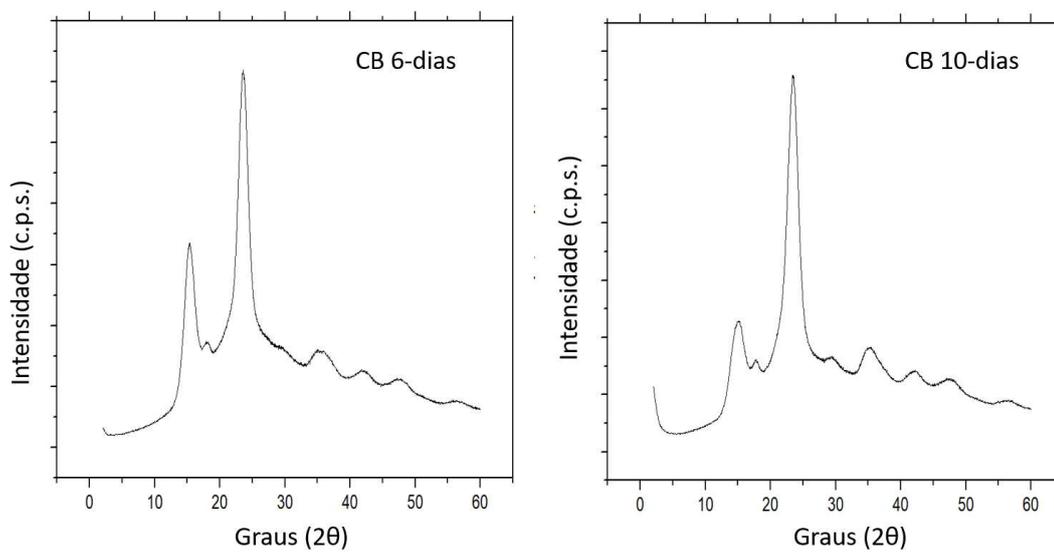


Fig. 4.



**Fig. 5.**



**Fig. 6.**

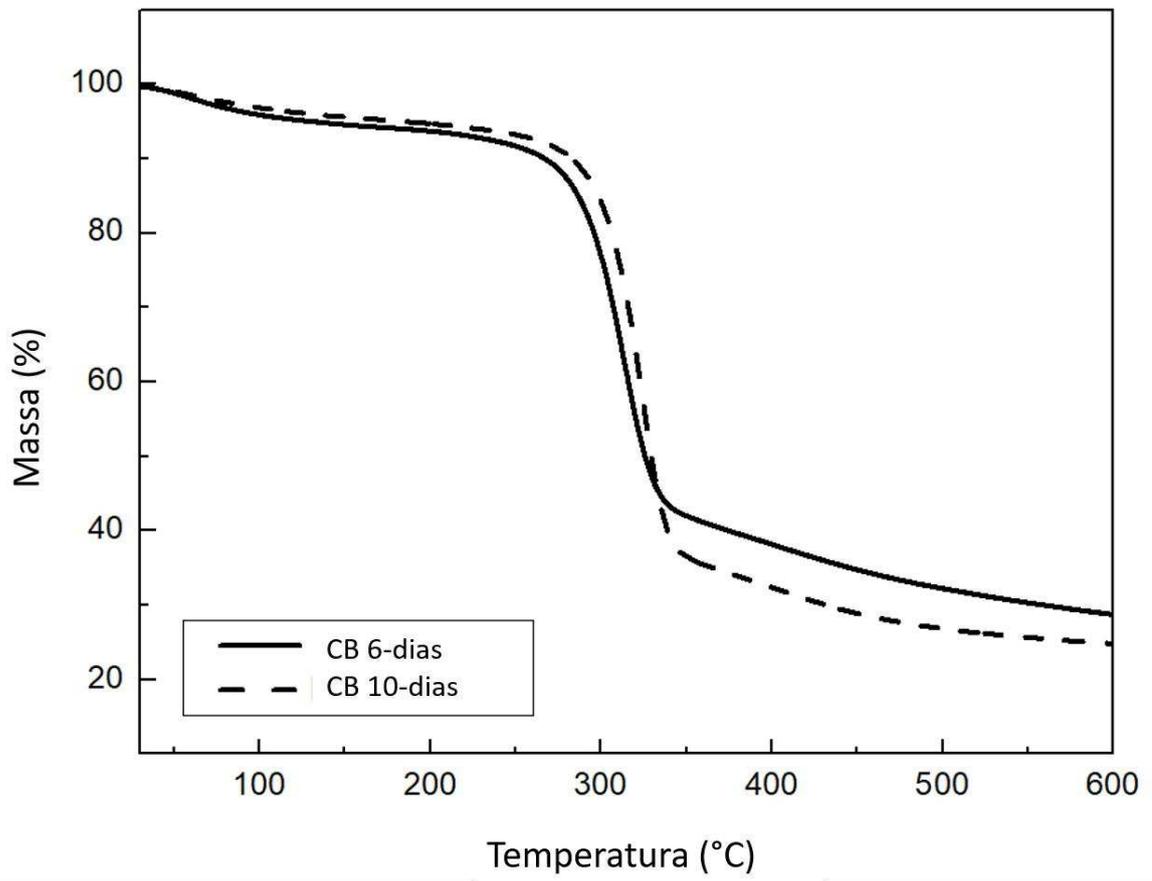
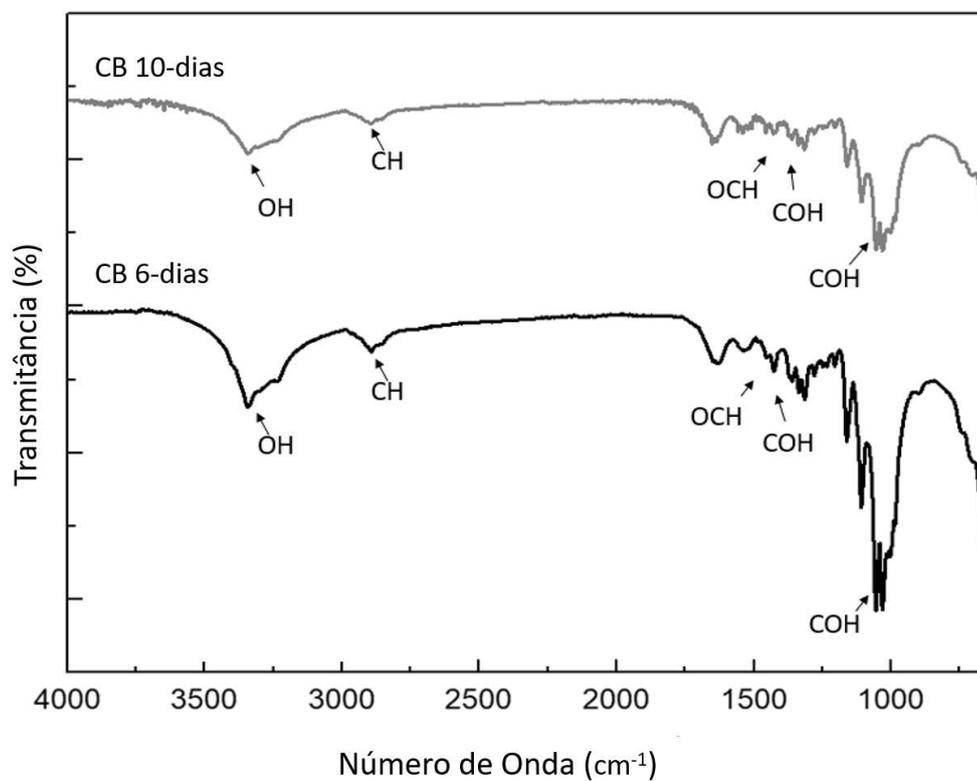
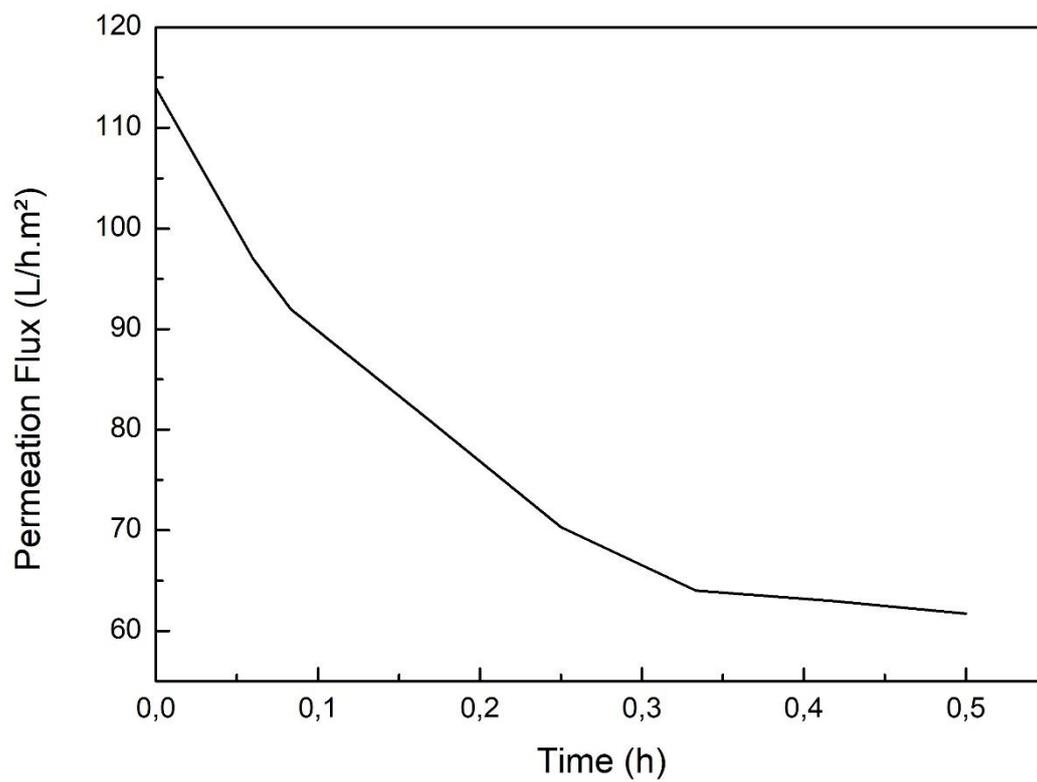


Fig.7.



**Fig. 8.**



**Fig. 9.**

# **CAPÍTULO III**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nessa pesquisa permitem as seguintes conclusões:

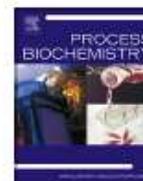
- A produção de CB utilizando meios alternativos é uma saída para a destinação dos rejeitos industriais.
- As membranas de CB produzidas em meio alternativo constituem um insumo de alto valor agregado, não só do ponto de vista científico, como também do ponto de vista ambiental, econômico e social.
  - As membranas de CB se mostraram extremamente flexíveis e impermeáveis a óleo.
  - As membranas de CB são mecânicas favoráveis para uso como membrana filtrante.
  - As membranas de CB são termicamente estáveis para o uso como membranas filtrantes.
  - As análises por microscopia eletrônica de varredura mostraram que a estrutura das fibras de CB na membrana apresenta porosidade, compactação, estanqueidade e resistência próprias para esse material.
- As análises da cristalinidade das membranas de CB mostraram que com o aumento dos dias de cultivo, houve um aumento da cristalinidade da CB.
- Os filtros construídos em PVC serviram como suporte para as membranas de CB durante as filtrações.
- As membranas úmidas serviram como membranas filtrantes das amostras de águas oleosas sintéticas.
  - Foi observado quanto maior o diâmetro do tubo e menor a quantidade de dias de cultivo, maior a vazão durante a filtração no filtro base das membranas de CB.
- As membranas provaram ser reutilizáveis para várias filtrações.
- A CB se apresenta como uma matéria-prima sustentável, pois, durante o processo de produção, uso e descarte, o impacto ambiental é quase nulo.
- O uso de polímeros naturais e biodegradáveis, como a CB podem fornecer, no futuro próximo, novos produtos biotecnológicos que atendam às necessidades do mercado mundial que busca opções seguras e compatíveis com o meio ambiente.
- A utilização de membranas de CB pode permitir uma redução dos impactos ambientais resultante do uso de membranas filtrantes.

# **ANEXOS**



Contents lists available at ScienceDirect

Process Biochemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/procbio](http://www.elsevier.com/locate/procbio)

## Use of a bacterial cellulose filter for the removal of oil from wastewater

Claudio José S. Galdino Jr.<sup>a,b</sup>, Alexandre D. Maia<sup>a</sup>, Hugo M. Meira<sup>a,b</sup>, Thais C. Souza<sup>a,b</sup>,  
Julia D.P. Amorim<sup>c</sup>, Fabiola C.G. Almeida<sup>b</sup>, Andréa F.S. Costa<sup>d</sup>, Leonie A. Sarubbo<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Católica de Pernambuco, Rua do Príncipe, 526, Boa Vista, CEP: 50050-900, Recife, Pernambuco, Brazil

<sup>b</sup> Instituto Avançado de Tecnologia e Inovação (IATI), Rua Joaquim de Brito, 216, Boa Vista, CEP: 50070-280, Recife, Pernambuco, Brazil

<sup>c</sup> Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, Pernambuco, Brazil

<sup>d</sup> Centro Acadêmico da Região Agreste, UFPE, Av. Campina Grande, s/n, Nova Caruaru, CEP: 50670-90, Caruaru, Pernambuco, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

*Glucanacetobacter hansenii*

Membranes

Bacterial cellulose

Filtration

Emulsions

Oily waters

### ABSTRACT

The present study describes the development of a bacterial cellulose (BC) filter for the treatment of oily waters. BC membranes were produced using an alternative medium containing 2.5 % corn steep liquor. Samples of previously purified membranes were characterized and tested as filters for the separation of oil from water (oil concentrations of 10, 150 and 230 ppm). Flow rate, filter diameter and membrane thickness after 6 and 10 days of cultivation were evaluated in a filtration system constructed in polyvinyl chloride. The BC membranes presented satisfactory flexibility, thermal stability and mechanical strength. However, the membrane obtained after 10 days supported 100 % more force than the membrane obtained after 6 days. The experiments revealed 100 % removal of the oil from all emulsions. The filtration flow rate increased proportionally to the filter diameter and decreased from the 6-day membrane to the 10-day membrane. The results of the present study are promising and demonstrate the efficiency, durability and strength of this novel biodegradable, non-toxic material for the treatment of oily waters generated during industrial activities.

### 1. Introduction

Large amounts of emulsified industrial effluents from petrochemical, chemical and mineral activities as well as oil spills are generated on a daily basis throughout the world and the treatment of these oily waters is a problem for many industries [1,2]. Indeed, oily wastewater and oil-in-water emulsions are among the main pollutants discharged into the environment. Such emulsions consist of a complex mixture of water, oil and additives, such as emulsifiers, corrosion inhibitors and anti-foaming agents.

The oil content of oily waters can be very low or very high, generally ranging from 1 to 50 % [3]. Free-floating or suspended oils can be easily separated from the aqueous phase of these wastewaters by simple physical processes. However, emulsions are chemically stabilized and can only be separated with an appropriate method [4].

The laws that regulate the disposal of oily wastewater are becoming increasingly strict. The maximum concentration of oil permitted in effluents is stipulated by current legislation in each country. In the United States, the disposal of oily effluents in the metal and machine production sector must obey a maximum monthly limit of 17 mg/L [5], while in Brazil the concentration of oil in effluents should not exceed 20 mg/L

[6]. On the other hand, the oil concentration commonly found in oily effluent waters (emulsified oil) from commercial installation of thermal power plants, as an example, is computed as about 10 ppm [7].

The most commonly used process for the treatment of oily effluents, which comprises a set of physical and chemical steps, is not effective at removing oil droplets or separating oil from emulsions [4]. Such difficulties have led to the development of novel processes for the treatment of oily wastewater [8]. A large number of publications describe the use of membrane filtration for this purpose. Microfiltration, ultrafiltration and nanofiltration for the treatment of oily wastewater and emulsions as well as the purification of water are used to ensure the supply of clean water. However, most commercially available membranes are produced from synthetic polymers of a fossil origin, which generally requires large amounts of solvents and chemical products. During the filter constructing stages, the utilization of organic and inorganic solvents as acids (hydrofluoric and hydrochloric acid), alcohols (ethanol and iso-propanol), *N,N*-dimethylformamide, dimethylsulfoxide, 1,3-dimethyl-2-imidazolidinone, *N,N*-dimethylacetamide, 1-methyl-2-pyrrolidinone (NMP), among others, are used [9,10]. Thus, there is growing interest in membranes produced based on natural polymers, such as bacterial cellulose (BC).

\*Corresponding author at: Universidade Católica de Pernambuco. Rua do Príncipe, 526, Boa Vista, CEP: 50050-900, Recife, Pernambuco, Brazil.

E-mail address: [leonie.sarubbo@unicap.br](mailto:leonie.sarubbo@unicap.br) (L.A. Sarubbo).

<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.12.020>

Received 14 October 2019; Received in revised form 22 December 2019; Accepted 25 December 2019  
1359-5113/ © 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## ARTICLE IN PRESS

C.J.S. Galdino, et al.

Process Biochemistry xxx (xxxx) xxx–xxx

BC is a pure form of cellulose synthesized by some microorganisms, such as *Acetobacter xylinum* and *Gluconacetobacter hansenii* [11,12]. It is highly porous and has a reticular structure with small pores, which qualifies this material for the purposes of filtration. BC is also strong, biocompatible, biodegradable and renewable [13]. However, the use of BC as a filtration membrane has not yet been widely investigated and few studies have been published on the use of modified or non-modified BC membranes for the treatment of water [4,14]. For instance, a BC aerogel with the surface modified by trimethyl silane was used to remove oil and some organic solvents from water [15]. A BC membrane less than 6  $\mu\text{m}$  in thickness collected after two days of incubation was tested for the filtration of *Chlorella* sp. and bovine serum albumin [16]. The BC membranes studied proved capable of removing approximately 99 % of the target materials. Sheets of nanoparticles prepared from BC were tested as ultrafiltration membranes for the removal of polyethylene glycol with 75 % efficiency [17]. Laminated composites made of BC and deacetylated chitin were tested for the removal of polyethylene glycol, with removal rates of 85–90%, compared to the 30 % rate using the pure BC membrane [18].

Despite the use of modified BC membranes as filters for some oily mixtures, the use of the pure membrane as a filter for emulsions generated in industrial environments has not yet been described. Therefore, the aim of the present study was to test the viability of BC membranes obtained using an alternative medium as an efficient filter for the separation of oil from model emulsions simulating the conditions found in industrial processes.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

Peptone, yeast extract, mono-hydrated citric acid,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , glucose, agar and sodium hydroxide were acquired from Merck Ltd., USA. Corn steep liquor was acquired from local companies in the state of Pernambuco, Brazil.

### 2.2. Microorganism

*Gluconacetobacter hansenii* UCP1619 deposited in the Culture Bank of the Center for Research in Environmental Sciences and Biotechnology of the *Universidade Católica de Pernambuco* was used as the producer of bacterial cellulose.

### 2.3. Growth medium and maintenance of microorganism

The method used to maintain the viability of the microorganism and cultivate it in a preestablished standard medium was based on studies conducted by Hestrin and Schramm (HS) [19] and adapted by Hungund and Gupta [20] and Gomes et al. [11]. The HS medium for the growth of the bacterium is composed of 20.0 g/L of glucose, 5.0 g/L of peptone, 5.0 g/L of yeast extract, 2.7 g/L of  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  and 1.15 g/L of citric acid, with pH 5.0. For the maintenance of the bacterium, 15 g/L of agar were added to the HS medium. Both media were sterilized at 121 °C for 15 min.

### 2.4. Cellulose production medium

BC was produced in modified HS medium with the following composition: 1.5 % glucose, 2.5 % corn steep liquor, 0.27 %  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  and 0.15 % citric acid at pH 5. Corn steep liquor is composed by 21–45 % protein, 20–26 % lactic acid, 8 % ash (containing  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ), 3 % sugar and has low fat content (0.9–1.2 %) [21]. The modified HS medium was sterilized at 121 °C for 15 min [12].

### 2.5. Cultivation conditions

The pre-inoculum was prepared from the growth of the microorganism at 30 °C for 48 h under static conditions in 100 mL of HS liquid medium contained in 500-mL Erlenmeyer flasks. The prepared cell suspension was then inoculated at 3 % in 100 mL of the modified HS medium contained in 500-mL Schott flasks and incubated at 30 °C for 6 and 10 days. The experiments were performed in triplicate.

### 2.6. Washing and purification of BC membrane

After cultivation, the broth and BC membranes were withdrawn and cleaned by immersion in a 4 % NaOH solution for 2 h to eliminate the remaining cells. The BC was then weighed and the yield was calculated. The samples were maintained in a desiccator prior to weighing [22].

### 2.7. Water retention capacity

Wet BC membranes obtained after 6 and 10 days of cultivation were weighed and dried in an oven at 60 °C until reaching a constant weight for the complete removal of water. The water retention capacity (WRC) was then determined using Eq. 1:

$$\text{WRC (\%)} = \left( \frac{\text{Mean wet weight} - \text{Mean dry weight}}{\text{Mean wet weight}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

### 2.8. Contact angle measurements

Contact Angle measurements were performed at 24 °C in a Video-Based Contact Angle System model OCA (optical contact angle). Contact Angle measurements were obtained by analyzing the shape of a distilled water drop after it was placed over the BC membrane for 20 s.

### 2.9. Permeability to oil

For this experiment, 3 g of soybean oil were placed in a glass tube with an inner diameter of 25 mm and outer diameter of 27 mm. A dry BC membrane measuring 50 × 50 mm was used to seal the open end of the tube. The tube was upside down and put on the filter paper on the glass slide, and then we viewed if oil could permeate through the BC membrane as time went. Observations were carried out with five samples at 3 days of storage [23,24].

### 2.10. Flexibility

To test flexibility, the membrane was folded 100 times along the same line. The classification of flexibility was based on the number of folds until failure: poor (< 20), fair (20–49), good (50–99) and excellent ( $\geq 100$ ) [24].

### 2.11. Scanning electron microscopy

The previously dried BC samples obtained after 6 and 10 days were metal sputtered (SANYU ELECTRON). Scanning electron microscopy (SEM) was performed of the surfaces of the samples using the JEOL equipment (JSM-5600) operating at 27 KV.

### 2.12. Porosity

The calculation of porosity of the 6-days and 10-days BC membranes was carried out following Eq. 2 [25], where  $W_w$  (g) and  $W_d$  (g) are the weight of wet and dry membranes, respectively,  $d$  is the density of water (1 g/cm<sup>3</sup>),  $D$  is the thickness (cm) and  $A$  is the area of the membrane (cm<sup>2</sup>).

## ARTICLE IN PRESS

C.J.S. Galdino, et al.

Process Biochemistry xxx (xxxx) xxx–xxx

$$\text{Porosity} = \frac{W_w - W_d}{(d \times A \times D)} \times 100\% \quad (2)$$

### 2.13. Mechanical properties

Tensile strength at maximum load (MPa), Young's elastic modulus (E) and deformation until breakage ( $\epsilon$ ) (mm%) were determined for the characterization of the mechanical properties of the BC membranes obtained after 6 and 10 days, following the methods described by Rethwisch and William [26]. Dried samples were cut into pieces measuring  $10 \times 30$  mm and 0.10 mm in thickness. Tensile strength was determined using a universal testing machine (EMIC DL - 500 MF, Brazil) at room temperature with a static load of 0.5 N and a velocity of 5 m/min (ASTM D882 method). The elastic modulus and tension-deformation ratio were calculated with the aid of the Bluehill Lite™ program.

### 2.14. X-ray diffractometry

The Crystallinity Index (CI) of cellulose has been used since 60's, to explain changes in cellulose structure after biological and physico-chemical treatments [27]. The Xpert MPD diffractometer (Phillips) with  $\text{CuK}\alpha$  radiation was used to measure the X-ray diffractometry patterns of the BC membranes. Crystallinity was measured as  $x$  (%) =  $(I_{\text{max}} - I_{\text{min}}) / I_{\text{max}} \times 100$  %, in which  $I_{\text{max}}$  is the peak height at  $2\theta = 22.5^\circ$  and  $I_{\text{min}}$  is the valley between peaks at  $2\theta = 22.5^\circ$  and  $2\theta = 16.3^\circ$  [11].

### 2.15. Thermogravimetric analysis

A Mettler Toledo analyzer was used for the thermogravimetric analysis (TGA) of samples weighing approximately 8 mg. Each sample was scanned from room temperature to 600 °C, under a nitrogen atmosphere with a flow rate of 20 mL/min to avoid thermoxidative degradation of the sample (heating rate: 10 °C/min) [28].

### 2.16. Attenuated total reflectance and Fourier-transform infrared (ATR/FTIR) spectroscopy

To obtain more dehydrated membranes, samples were placed in a desiccator with silica gel at room temperature for two weeks. The samples were then digitized with a Bruker FTIR spectrometer (Equinox 55 Model, Bruker Co., Ettingen, Germany) and measured in a horizontal ATR device through a crystalline cell plate ( $45^\circ \text{ZnSe}$ ;  $80 \times 10$  mm; thickness: 4 mm) (PIKE Technology Inc., Madison, WI, USA). Functional groups in the BC membranes were identified in a spectrophotometer between 4000 and  $400 \text{ cm}^{-1}$ . All spectra were recorded after 32 scans with a resolution of  $4 \text{ cm}^{-1}$  [29].

### 2.17. Construction of filtration systems

Filters were constructed with polyvinyl chloride (PVC) with internal diameters of 25, 50 and 100 mm for use in the experiments (Fig. 1A). The filters were constructed with a nylon screen as support for the membranes to avoid the deformation and tearing of the biomaterial. The BC membranes previously prepared with the same diameter as the filter were coupled to the filtration system (Fig. 1 B, C), which was filled with each type of oily solution to be treated. During the filtration procedure, the pressure of the system was set at 1 atm and each filtration lasted 4 min.

The membranes were tested 20 times under the same filtration conditions to evaluate the oil removal, during the period of four months. During the experiments, the membranes were washed with tap water at room temperature and stored submerged in deionized water in capped containers (1 L) under refrigeration (8 °C) until use.

Additional experiments were carried out after calculation of the higher and lower flow rates to verify the filtration efficiency of the 6-day BC membrane (100 mm diameter) and of the 10-day BC membrane (25 mm diameter), during 30 min, respectively, under the same operational conditions.

### 2.18. Preparation of oily emulsions

Oil-in-water emulsions were prepared with motor oil used in "flex" engines, which are able to run on gasoline, VNG and alcohol. The motor oil was type SAE 20W-50 and contained a synthetic guard (PETROBRAS), consisting of a paraffin-based lubricating oil (complex mixture of hydrocarbons) and performance-enhancing additives.

Emulsions with concentrations of 10, 150 and 230 ppm of oil were prepared, since 20 ppm is the maximum oil content permitted in industrial effluents according to current Brazilian legislation [6]. The emulsions were prepared and homogenized for 15 min in an ice bath using a Hielscher ultrasonic processor (Hielscher UP400 s, Teltow, Germany) and evaluated in the stabilized forms with a nonpolar nonionic surfactant (polyoxyethylene sorbitan monolaurate – Tween 20) added at a concentration of 0.5 %.

### 2.19. Determination of oil concentration

A turbidity (NTU) versus oil concentration (ppm) curve was plotted with the aid of the ALFAKIT turbidimeter for the determination of the concentration of oil before and after filtration through the BC membrane.

### 2.20. Statistical analysis

The data from each test were analyzed statistically. Analysis of variance (ANOVA) was used to evaluate the significance of differences between factors and levels. Means were compared using Tukey's test to identify what groups differed significantly from other groups ( $p < 0.05$ ). All data were expressed as mean and standard deviation values.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Production of BC membranes

The mean yield of the cellulose produced in terms of hydrated membranes was  $475.2 \pm 13.7 \text{ g/L}$  of medium after 10 days (Fig. 2A) and  $195.0 \pm 19.5 \text{ g/L}$  of medium after 6 days (Fig. 2B). For the dry membranes, the yield was  $2.69 \pm 0.12 \text{ g/L}$  after 6 days and  $6.82 \pm 0.32 \text{ g/L}$  after 10 days. These yields are similar to those described in previous studies involving the production of BC [4,12]. As expected, the purification step with NaOH favored the uniformization of the color and the removal of possible metabolites from the culture medium adhered to the surface of the membranes, as illustrated in Fig. 2. After the purification step, the membranes were washed with deionized water several times to completely remove the alkali, until neutral pH was obtained [19].

### 3.2. Water retention capacity

The WRC was determined after the 6-day and 10-day BC membranes were completely dried until reaching a constant weight. The WRC values are displayed in Table 1. The results confirm that both BC membranes have a high percentage of water surpassing 98 %, as described by Costa et al. [12]. Despite the different fermentation time, the water content remained preserved for both membranes. This behavior can be also observed even in different alternative fermentation media [30].

This water content gives the membranes hydrophilic and oleophobic characteristics, as described by the contact angle obtained

## ARTICLE IN PRESS

C.J.S. Galdino, et al.

Process Biochemistry xxx (xxxx) xxx-xxxx



Fig. 1. Inner diameters (25, 50 and 100 mm) of PVC filters (A); BC membrane previously prepared with same diameter as filter coupled to filtration system (B) and filtration systems in PVC (C).

( $34.5 \pm 2.3^\circ$ ). The formed surface angle, between  $0^\circ$  and  $90^\circ$  is considered hydrophilic, thus increasing the contact of the water droplet with its surface, which in this case, is fundamental to the efficient separation of emulsions and oily mixtures.

Water contact angle is a vital parameter to reflect the wettability of membranes. The wettability of the membrane surface, in turn, is of great importance as it can directly affect the fluid displacement mechanism through the filtration system. With the contact angle obtained, water can spread and permeate on the membrane surface, while the oil present in emulsions cannot spread and permeate the filter surface due to its hydrophilic characteristic, thus being retained in droplet form.

### 3.3. Permeability to oil, flexibility and porosity

The BC membranes were tested with regards to permeability to oil. Without such, the oil would exude through the membranes over time, thereby affecting the filtration efficiency. Tubes containing soybean oil were covered with the membranes and placed topside down on filter paper at room temperature at constant humidity. The results revealed no trace of permeation through the membranes.

BC membranes have a large number of hydrophilic hydroxyl groups and carboxyl groups that impede the absorption of oil molecules to the surface of the membrane. Hu et al. [23] and Chen et al. [24] report similar results for membranes made of potato starch oxidized with glycerol as a plasticizer and cellulose sulfate (NaCS) plasticized with glycerol incorporated with starch, respectively. The BC membranes also exhibited excellent flexibility, remaining intact (Fig. 3B), after being folded much more than 100 times, as illustrated in Fig. 3A.

The porosity of the 6-day and 10-day membranes was 76.12 % and 62.10 %, respectively. The reduction in porosity is explained by the

Table 1

Water retention capacity (WRC) of BC membranes obtained after cultivation.

BC membranes	6 days of cultivation		10 days of cultivation	
	Wet weight (g)	Dry weight (g)	Wet weight (g)	Dry weight (g)
	19.406	0.269	47.509	0.682
WRC (%)	$98.61 \pm 0.55$		$98.56 \pm 0.61$	

increased fiber concentration of BC as the fermentation time increases. Similarly, the blend composed of nanofibrils cellulose (NFC) and polysulfone (PSF) produced by Ding et al. [25] showed a porosity of 73.70 %. It is worth mentioning that the increased porosity value enables a higher water permeability, thus improving the separation efficiency of the process.

### 3.4. Characterization of BC membranes by SEM

Fig. 4 displays the SEM images of the dried pure BC membranes. The fiber network of the membranes was magnified 14100 times (Fig. 4) after being produced in an alternative medium under the optimal conditions previously selected by Costa et al. [12]. The figures show the dispersion of the fibers and interfacial adherence. The structure of the compact BC network consists of a random assembly of fibrils that form a porous, three-dimensional network. Both membranes exhibited a reticulated structure consisting of ultrafine nanofibrils, with the 10-day membrane exhibiting a more linked and more closed structure (Fig. 4A, B).

The width of the nanofibers changed with the increase in cultivation

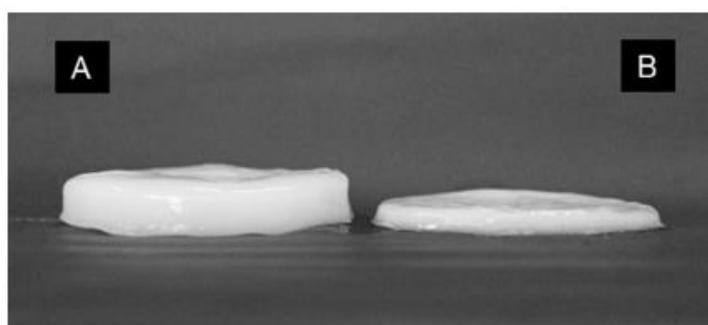


Fig. 2. Wet BC membranes after 6 (B) and 10 (A) days of cultivation.

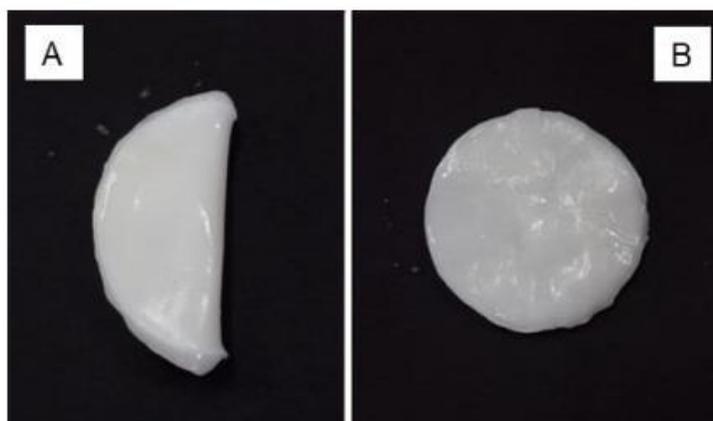


Fig. 3. The BC membrane after being folded much more than 100 times.

time and the thickness of the membrane also increased due to the greater mass of BC formed. According to Hassan et al. [4], the structure of BC tissue is unique in terms of porosity, compaction and water-tightness.

3.5. Mechanical assays

The results of the tensile strength (N), specific deformation (%) and modulus of elasticity (MPa) tests are shown in Fig. 5. Tensile strength was more than 100 % greater in the 10-day BC membrane compared to the 6-day membrane. However, no significant differences were found between membranes regarding the modulus of elasticity or specific deformation.

As shown in the SEM images, the 10-day membrane has a denser fiber structure, resulting in improved mechanical strength due to good interfacial adhesion and the formation of strong interactions among the fibers.

According to Almeida et al. [31], Gao et al. [32] and Costa et al. [12], the water and agroindustrial waste products in the culture medium serve as plasticizers, altering the mechanical performance of membranes. The water in hydrated BC diminishes the number of bonds between hydrogen molecules and reduces intermolecular forces. Thus, hydrated membranes exhibit greater stretching and less tensile strength

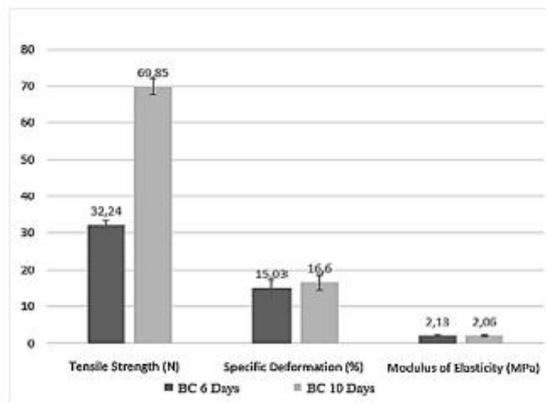


Fig. 5. Tensile strength (N), specific deformation (%) and modulus of elasticity (Mpa) of BC membranes.

than dry membranes.

Considerable plastic deformation of the BC membranes was

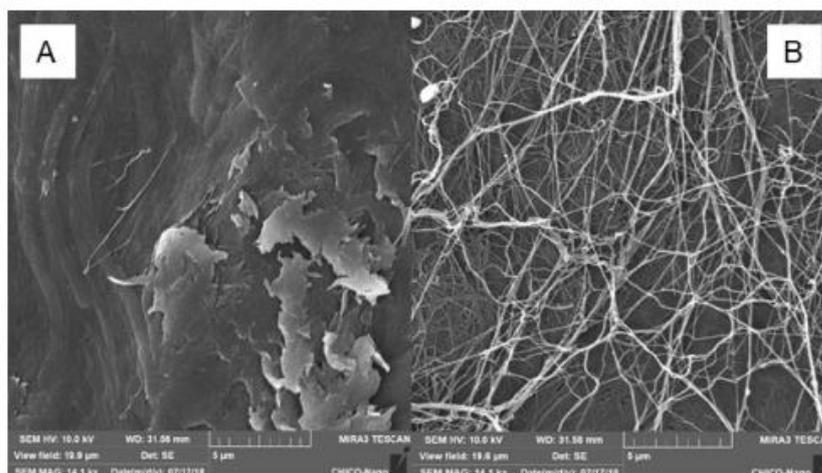


Fig. 4. Scanning electron micrographs of dried 6-day (A) and dried 10-day (B) membranes.

## ARTICLE IN PRESS

C.J.S. Galdino, et al.

Process Biochemistry xxx (xxxx) xxx–xxx

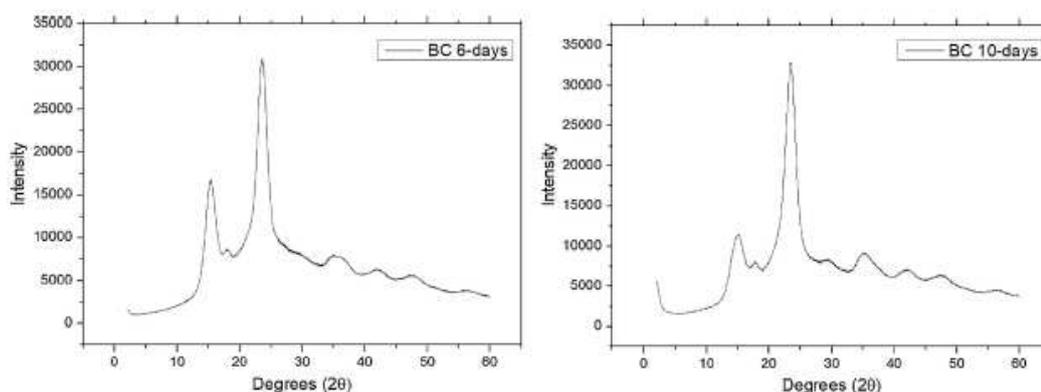


Fig. 6. X-ray diffractometry of BC membranes obtained after 6 and 10 days of cultivation.

observed prior to breakage in the form of an irreversible ductile fracture of the biopolymer. The propagation of cracks occurred slowly during the tensile tests. The hydrated membranes did not return to the natural (non-deformed state), demonstrating that the hydrogel does not have elasticity when submitted to considerable stress. The water retained among the BC fibers was a determinant factor in this, as water acts as a plasticizer and its absence makes the biomaterial brittle and hard.

### 3.6. X-ray diffractometry

The CI was calculated based on the intensity of the peaks. The CI was 74.4 % for the 6-day membranes and 78.8 % for the 10-day membranes (Fig. 6). These results show that the increase in cultivation time increased the crystallinity of the BC membrane.

Crystallinity has an inversely proportional relationship with the porosity of the cellulose surface, i.e., the larger the size of the crystals and the proximity between them, the smaller the number of pores and the lower the hydrophilicity of the polymer. The fact that the pores increase in size allows a greater amount of water molecules to penetrate and be absorbed by the membrane, demonstrating an increase in the degree of hydrophilicity [12]. In the case of the BC membranes, the increase in crystallinity indicated a reduction in porosity, as calculated and, consequently, less penetration of water, as also demonstrated by the filtration results. Therefore, the 6-day membrane is more favorable as a filter, since the greater porosity increases the permeability of the material in comparison to the 10-day membrane.

### 3.7. Thermogravimetric analysis

The thermal stability of the BC membrane was investigated through thermogravimetric analysis (TGA) of the samples obtained after 6 and 10 days. The outcomes are displayed in Fig. 7 and Table 2.

The results show the occurrence of two steps of the loss of mass in both samples. The first refers to the evaporation of the water remaining in the membrane and the second regards the pyrolysis of the polymer.

During the analysis, the membranes produced in the alternative medium exhibited an initial loss of mass up to a temperature of 80 °C due to the loss of water. A second significant loss occurred around 300 °C, which may be attributed to the decomposition of the membranes. This loss of biopolymer mass may be associated with the degradation of cellulose, involving the depolymerization, dehydration and decomposition of glucose units. Above 550 °C, mass loss rates were low, and the burnt ashes corresponded to approximately 20 % of the mass of the BC membranes. According to Costa et al. [12], agroindustrial waste products used in the production of BC membranes confer greater thermal stability to the biopolymer compared to membranes produced in standard HS medium. Thus, the use of a byproduct in the production

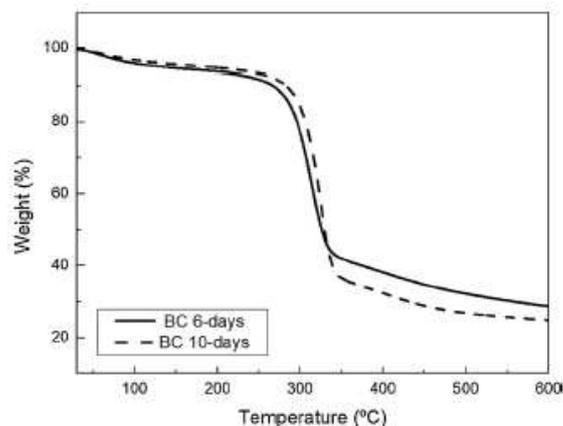


Fig. 7. TGA of BC (bacterial cellulose) membrane.

Table 2

Thermal decomposition data of BC samples obtained from TGA curves.

Sample	Stage 1 (°C)			Stage 2 (°C)		
	$T_{onset}$	$T_{offset}$	$T_{max}$	$T_{onset}$	$T_{offset}$	$T_{max}$
BC 6-days	79	101	90	271	328	309
BC 10-days	80	105	93	272	341	319

of BC membranes could help reduce the production cost, confer beneficial characteristics to the membrane and minimize the environmental impact, thereby aggregating economic value to the membrane.

The maximum deposition temperature of a product is a criterion of thermal stability. Thermal degradation is affected by variable structural factors, such as molecular mass, crystallinity and the arrangement of the fibers [33]. As the maximum decomposition of the membranes occurred at 328 and 344 °C, the BC exhibits good thermal stability. This property can be considered positive in terms of the industrial applications of the biopolymer, which will remain intact under operational conditions at high temperatures (250 °C).

### 3.8. Attenuated total reflectance and Fourier-transform infrared (ATR/FTIR) spectroscopy

Fig. 8 shows relevant regions of the FTIR spectra for 6- and 10-days BC membranes. The main bands of the pure BC can be attributed to the

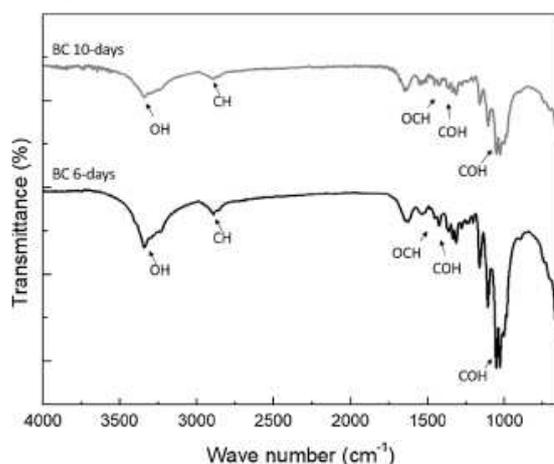


Fig. 8. BC spectra.

stretching of the OH group ( $3286\text{ cm}^{-1}$ ), CH stretching of alkanes and asymmetric  $\text{CH}_2$  stretching ( $2921\text{ cm}^{-1}$ ), C–OH and CH deformation ( $1399\text{ cm}^{-1}$ ). These are the main attributes that characterize a pure bacterial cellulose, proving that the membranes produced in the alternative medium in the present study are composed of pure BC.

### 3.9. Oil removal efficiency of filtration systems with BC membranes

Table 3 shows the oil removal efficiency of the filtration systems with the BC membranes obtained after 6 and ten days of cultivation. The table displays the volumes filtered by the systems for 4 min at 1 atm and the quantity of oil remaining in the filtered water.

Maximum efficiency (100 %) was achieved with the different filtration systems, as all oil was removed from the emulsions through a mechanical separation mechanism, since the membrane has nanometric dimensions. Moreover, the BC membranes produced after 6 days had a higher filtration flow rate, reaching nearly twice the volume of filtered emulsion with the same removal efficiency as the membranes obtained after 10 days of cultivation. This is explained by the crystallinity index (74.4 % for the 6-day membranes and 78.8 % for the 10-day membranes). According to Hassan et al. [4] and Costa et al. [12], crystallinity is inversely proportional to the porosity of the cellulose surface. Larger pores enable the greater penetration of water molecules. Thus, the increase in the crystallinity of the biopolymer indicates a reduction in pore size and consequently a lower flow rate. These findings favor

the use of the 6-day BC as a filtering membrane under the conditions studied herein. A plausible explanation for a slower filtration rate for the 10-day membrane would be the presence of more layers without proper alignment arrangement.

The mechanical assays (Fig. 5) show that the tensile strength of the 10-day membrane was 100 % greater than that of the 6-day membrane. This indicates that, despite the lower flow rate, the 10-day membrane is more indicated when higher pressures are used, as it supports twice the amount of force as the 6-day membrane.

The oil removal rate in these experiments was higher than results described by Silva et al. [34] and Chaprão et al. [35], who used a classic separation method (dissolved air flotation) and respectively achieved 90 % and 92 % oil removal rates from oily waters. Hassan et al. [4] used BC and crosslinked cellulose nanofiber membranes and found removal rates of 98.3 % and 92.9 % of castor oil from a stabilized emulsion, respectively.

Recently, other types of membranes have also been successfully tested in the treatment of oil-water emulsions. Microfiltration carbon membranes (MFCMs) have been used for the treatment of emulsified oily wastewater. However, MFCMs shows the restriction from the deficiency of inferior oil removal about 70 % in the absence of any means of reinforcement. To improve oil removal by these membranes, polyacrylonitrile (PAN)-based microspheres have been incorporated. Results demonstrate that with the addition of microspheres the oil removal can reach 93.6 % [36]. High performance diatomite hybrid microfiltration carbon membranes (MFCMs) were also developed for oil removal from oily wastewater. The maximum oil rejection achieved was 98.2 % for 200 mg/L oily wastewater [37]. A hydrophobic polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane was also modified through a facile co-deposition strategy to improve its hydrophilicity and resistance to oil-fouling by reaction and co-deposition of tannin acid (TA) on the surface of membranes. The optimized membrane was endowed with superhydrophilicity and underwater superoleophobicity. It showed reusability and sustainability in separating various oil-in-water emulsions with 96 % efficiency [38].

Another important aspect is that the BC membranes in the filtration systems in the present study were cleaned and reused 20 times. During this process, the membranes shape, thickness and porosity maintained unaltered, thus demonstrating the considerable strength and durability of the biomaterial, which continued to retain 100 % of the oil under the conditions tested in this research. New tests performed over 30 min (Table 4 and Fig. 9) to understand the filtration behavior over a longer separation time showed that even with a longer period the flow rate through the membrane remained constant and filtration maintained 100 % of its efficiency for oil removal, with the 6-days and 10-days membranes showing volume values of  $1016.32 \pm 4.23\text{ mL}$  and  $64.3 \pm 1.17\text{ mL}$ , respectively. As can be seen in Fig. 9, the membrane

Table 3

Removal of oil from emulsion with oil concentrations of 10, 150 and 230 ppm through filtration systems 25, 50 and 100 mm in diameter with BC membranes (6 and 10 days of cultivation) for four minutes at 1 atm (data expressed as mean and standard deviation).

BC membranes	Concentration of oil in emulsion (ppm)	Filter diameter (mm)								
		25			50			100		
		Filtered volume (mL/4 min)	Conc. of oil in filtered water (ppm)	Oil removal efficiency (%)	Filtered volume (mL/4 min)	Conc. of oil in filtered water (ppm)	Oil removal efficiency (%)	Filtered volume (mL/4 min)	Conc. of oil in filtered water (ppm)	Oil removal efficiency (%)
Obtained after 6 days	10	$14.58 \pm 0.52$	0.0	100 %	$46.68 \pm 2.29$	0.0	100 %	$149.79 \pm 2.50$	0.0	100 %
	150	$13.49 \pm 0.88$	0.0	100 %	$37.38 \pm 0.72$	0.0	100 %	$145.00 \pm 1.47$	0.0	100 %
	230	$13.36 \pm 1.16$	0.0	100 %	$36.60 \pm 1.20$	0.0	100 %	$147.14 \pm 1.62$	0.0	100 %
Obtained after 10 days	10	$9.28 \pm 0.33$	0.0	100 %	$29.13 \pm 2.04$	0.0	100 %	$88.45 \pm 2.03$	0.0	100 %
	150	$9.12 \pm 0.14$	0.0	100 %	$33.46 \pm 2.09$	0.0	100 %	$89.58 \pm 1.31$	0.0	100 %
	230	$9.00 \pm 0.10$	0.0	100 %	$31.92 \pm 1.53$	0.0	100 %	$90.50 \pm 0.46$	0.0	100 %

## ARTICLE IN PRESS

C.J.S. Galdino, et al.

Process Biochemistry xxx (xxxx) xxx–xxxx

**Table 4**

Removal of oil from emulsion with oil concentrations of 10 and 230 ppm through filtration systems 25 and 100 mm in diameter with BC membranes (6 and 10 days of cultivation) for 30 min at 1 atm (data expressed as mean and standard deviation).

BC Membranes	Concentration of oil in emulsion (ppm)	Filter diameter (mm)	Filtered volume (mL / 30 min)	Conc. of oil in filtered water (ppm)	Oil removal efficiency (%)
6-days	10	100	1016.32 ± 4.23	0.0	100
10-days	230	25	64.3 ± 1.17	0.0	100

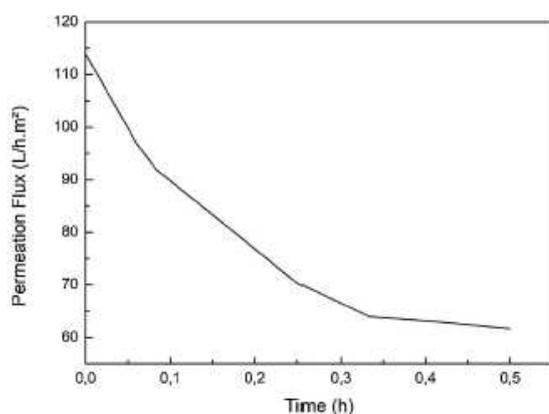


Fig. 9. Oil separation performance in water permeation flux versus runtime for the 100 mm BC's filter.

showed a water permeation flux stabilization during the final filtration intervals. Another important point concerns the biodegradability of the membrane, that is, there is no pollution mechanism by this membrane since BC is biodegradable. BC pellicles are degraded by microorganisms at room conditions, as described in the literature [39,40].

#### 4. Conclusions

Studies involving the use of BC membranes as filters for oily waters will continue identifying physical and chemical reference values for this type of effluent. However, the present experiments clearly show the potential of pure BC membranes obtained using an alternative medium as efficient filters for the separation of oily mixtures in industrial settings. The high wet strength of BC, its nanoporous structure and ability to remove micro-sized contaminants make it a good candidate for environmental-friendly filtration membranes. Future studies should focus on the difference between the filtration of a stabilized oily emulsion and a non-emulsified solution. The additional characterization of BC membranes will support the use of this biomaterial as an industrial biotechnological filter.

#### 5. Author contribution statement

All authors contributed in this work. Claudio José S. Galdino Jr., Alexandre D. Maia, Hugo M. Meira, Thais C. Souza, Julia D. P. Amorim and Fabiolla C. G. Almeida carried out the experiments. Andréa F. S. Costa conducted formal analysis. Leonie A. Sarubbo designed the project and analyzed the data. Andréa F. S. Costa and Leonie A. Sarubbo wrote the manuscript. Leonie A. Sarubbo performed manuscript editing and final improvement.

#### Declarations of Competing Interest

None.

#### Acknowledgments

This study received funding from the Brazilian fostering agencies *Fundação de Amparo à Ciência do Estado de Pernambuco* (FACEPE [State of Pernambuco Science Assistance Foundation]), *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES [Coordination for the Advancement of Higher Education Personnel] – Code 001), *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq [National Council for Scientific and Technological Development]) and the Research and Development Program of the *Agência Nacional de Energia Elétrica* (ANEEL [National Electrical Energy Agency]). The authors are grateful to the laboratories of *Universidade Católica de Pernambuco* [Catholic University of Pernambuco], *Universidade Federal de Pernambuco* [Federal University of Pernambuco] and *Instituto Avançado de Tecnologia e Inovação* [Advanced Institute of Technology and Innovation], Brazil.

#### References

- [1] Q. Wen, D.J. Jiang, I. Yu, J. Xu, Zeolite-coated mesh film for efficient oil-water separation, *Chem. Sci.* 4 (2013) 591–595, <https://doi.org/10.1039/C2SC21772D>.
- [2] S. Tao, Y. Wang, Synthesis of hierarchically porous silica film with controllable surface wettability, *Int. Nano Lett.* 4 (2014) 1–6, <https://doi.org/10.1007/s40089-014-0102-y>.
- [3] F.C.P. Rocha e Silva, N.M.P. Rocha e Silva, J.M. Luna, R.D. Rufino, V.A. Santos, L.A. Sarubbo, Dissolved air flotation combined to biosurfactants: a clean and efficient alternative to treat industrial oily water, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 17 (2018) 591–602, <https://doi.org/10.1007/s1157-018-9477-y>.
- [4] E. Hassan, M. Hassan, R. Abou-zeid, L. Berglund, K. Okman, Use of bacterial cellulose and crosslinked cellulose nanofibers membranes for removal of oil from oil-in-water emulsions, *Polymers* 9 (2017) 388, <https://doi.org/10.3390/polym9090388>.
- [5] H. Zhu, Z. Guo, Understanding the separation of oil/water mixtures from immiscible to emulsions on super-wettable surfaces, *J. Bionic Eng.* 13 (2016) 1–29, [https://doi.org/10.1016/S1672-6529\(14\)60156-6](https://doi.org/10.1016/S1672-6529(14)60156-6).
- [6] Brazil, Diário Oficial República Federativa Do Brasil, Resolução CONAMA 430, < <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646> > accessed 20.12.2018 (2011).
- [7] F.C.P. Rocha e Silva, N.M.P. Rocha e Silva, A.E. Moura, R.A. Galdino, J.M. Luna, R.D. Rufino, V.A. Santos, L.A. Sarubbo, Effect of biosurfactant addition in a pilot scale Dissolved Air Flotation system, *Sep. Sci. Technol.* 50 (2015) 618–625, <https://doi.org/10.1080/01496395.2014.957319>.
- [8] L. Yan, S. Hong, M.L. Li, Y.S. Li, Application of the Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PVDF nanocomposite tubular ultrafiltration (UF) membrane for oily wastewater treatment and its anti-fouling research, *Sep. Purif. Technol.* 66 (2009) 347–352.
- [9] Lee K.P., Amot T.C., D. Mistra, A review of reverse osmosis membrane materials for desalination-development to date and future potential, *J. Membr. Sci.* 370 (2011) 1–22, <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2010.12.036>.
- [10] Y. Okita, S. Fujisawa, T. Saito, A. Isogai, TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils dispersed in organic solvents, *Biomacromolecules* 12 (2) (2011) 518–522, <https://doi.org/10.1021/bm101255x>.
- [11] F.P. Gomes, N.H.C.S. Silva, E. Trovatti, I.S. Serafim, M.F. Duarte, A.J.D. Silvestre, C. Pascoal Neto, C.S.R. Freire, Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue, *Biomass Bioenergy* 55 (2013) 205–211, <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.02.004>.
- [12] A.F.S. Costa, F.C.G. Almeida, G.M. Vinhas, L.A. Sarubbo, Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* using corn steep liquor as nutrient sources, *Front. Microbiol.* 8 (2017) 1–12, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02027>.
- [13] D. Wu, X. Li, C. Shen, J. Lu, J. Chen, G. Xie, Decreased ethyl carbanilate generation during Chinese rice wine fermentation by disruption of CAR1 in an industrial yeast strain, *Int. J. Food Microbiol.* 180 (2014) 19–23, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.007>.
- [14] A.W. Carpenter, S.-F. Lamnoy, M.R. Wiesner, Cellulose nanomaterials in water treatment technologies, *Environ. Sci. Technol.* 49 (2015) 5277–5287, <https://doi.org/10.1021/es506351r>.
- [15] H. Sai, R. Fu, L. Xing, J. Xiang, Z. Li, F. Li, T. Zhang, Surface modification of bacterial cellulose aerogels' web-like skeleton for oil/water separation, *ACS Appl. Mater. Interf.* 7 (2015) 7373–7378.

## ARTICLE IN PRESS

C.J.S. Galdino, et al.

Process Biochemistry xxx (xxxx) xxx–xxx

- [16] P. Wanichapichart, S. Kraewongprad, K. Buaking, W. Puthai, Characterization of cellulose membranes produced by *Acetobacter xylinum*, Songklanakarin J. Sci. Technol. 24 (2002) 855–862.
- [17] A. Mautner, K.Y. Lee, P. Lahtinen, M. Hakalahti, T. Tammelin, K. Li, A. Bismarck, Nanopapers for organic solvent nanofiltration, Chem. Commun. (Camb.) 50 (2014) 5778–5781, <https://doi.org/10.1039/C4CC00467A>.
- [18] M. Takai, F. Nonomura, T. Inukai, M. Fujiwara, J. Hayashi, Filtration and permeation characteristics of bacterial cellulose composite, Sen'i Gakkaishi 47 (1991) 119–129.
- [19] S. Hestrin, M. Schramm, Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose, Biochem. J. 58 (1954) 345–352, <https://doi.org/10.1042/bj0580345>.
- [20] B.S. Hungund, S.G. Gupta, Improved production of bacterial cellulose from *Glucoacetobacter persimmonis* GH-2, J. Mic. Biochem. Technol. 2 (2010) 127–133, <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000037>.
- [21] D.K.F. Santos, H.M. Meira, R.D. Rufino, J.M. Luna, L.A. Sarubbo, Biosurfactant production from *Ganddia lipolytica* in bioreactor and evaluation of its toxicity for application as a bioremediation agent, Process Biochem. 54 (2017) 20–27, <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.12.020>.
- [22] Z. Li, L. Wang, J. Hua, S. Jia, J. Zhang, H. Liu, Production of nano bacterial cellulose from waste water of candied jujube-processing industry using *Acetobacter xylinum*, Carbohydr. Polym. 120 (2015) 115–119, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.061>.
- [23] G. Hu, J. Chen, J. Gao, Preparation and characteristics of oxidized potato starch films, Carbohydr. Polym. 76 (2009) 291–298, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.090>.
- [24] G. Chen, B. Zhang, J. Zhao, H. Chen, Improved process for the production of cellulose sulfate using sulfuric acid/ethanol solution, Carbohydr. Polym. 95 (2013) 332–337, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.003>.
- [25] Z. Ding, X. Liu, Y. Liu, L. Zhang, Enhancing the compatibility, hydrophilicity and mechanical properties of polysulfone ultrafiltration membranes with lignocellulose nanofibrils, Polymers 8 (10) (2016) 349, <https://doi.org/10.3390/polym8100349>.
- [26] D.G. Rethwisch Jr., D.C. William, *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução 9 LTC*, Rio de Janeiro, Brazil, 2016.
- [27] S. Park, J.O. Baker, M.E. Himmel, P.A. Parilla, D.K. Johnson, Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance, Biotechnol. Biofuels 3 (2010) 10 [Online] Available: <http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/3/1/10>.
- [28] E.E. Kiziltaş, A. Kiziltaş, D.J. Gardner, Synthesis of bacterial cellulose using hot water extracted wood sugars, Carbohydr. Polym. 124 (2015) 131–138, <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.01.019>.
- [29] N. Linnpan, T. Prodpran, S. Benjakul, S. Prasanna, Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly(vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films, Food Hydrocoll. 29 (2012) 226–233, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.007>.
- [30] J.D.P. Amorim, C.J.S.J. Galdino, A.F.S. Costa, J.F.H. Melo, L.A. Sarubbo, Potential evaluation of bacterial cellulose for cosmetic application, Brazilian Journal of Development 5 (2019) 18457–18462, <https://doi.org/10.34117/bjdv5n10-098>.
- [31] L.R. Almeida, A.R. Martins, E.M. Fernandes, M.B. Oliveira, V.M. Cordeiro, I. Pashkuleva, et al., New biotextiles for tissue engineering: development, characterization and in vitro cellular viability, Acta Biomater. 9 (2013) 8167–8181, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.05.019>.
- [32] X. Gao, Z. Shi, P. Kuśmierczyk, C. Liu, G. Yang, I. Sevostianov, Time-dependent rheological behaviour of bacterial cellulose hydrogel, Mater. Sci. Eng. 58 (2016) 153–159, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.019>.
- [33] A. Vazquez, M.L. Foresti, P. Cerrutti, M. Galvagno, Bacterial cellulose from simple and low cost production media by *Glucoacetobacter xylinus*, J. Polym. Environ. 21 (2013) 545–554, <https://doi.org/10.1007/s10924-012-0541-3>.
- [34] F.C.P.R. Silva, N.P.P.R. Silva, L.A. Silva, P.P.F. Brasileiro, J.M. Luna, R.D. Rufino, V.A. Santos, L.A. Sarubbo, Oil removal efficiency forecast of a Dissolved Air Flotation (DAF) reduced scale prototype using the dimensionless number of Damköhler, J. Water Process Eng. 23 (2018) 45–49, <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.01.019>.
- [35] M.J. Chaprão, R.C.F. Soares da Silva, R.D. Rufino, J.M. Luna, V.A. Santos, L.A. Sarubbo, Formulation and application of a biosurfactant from *Bacillus methylotrophicus* as collector in the flotation of oily water in industrial environment, J. Biotechnol. 285 (2018) 15–22, <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.08.016>.
- [36] X. Hong, B. Zhang, X. Zhang, Y. Wu, T. Wang, J. Qiu, Tailoring the structure and property of microfiltration carbon membranes by polyacrylonitrile-based microspheres for oil-water emulsion separation, J. Water Process Eng. 32 (2019) 100973, <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100973>.
- [37] X. Zhang, B. Zhang, Y. Wu, T. Wang, J. Qiu, Preparation and characterization of a diatomite hybrid microfiltration carbon membrane for oily wastewater treatment, J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 89 (2018) 39–48, <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.04.035>.
- [38] Y. Sun, Y. Zong, N. Yang, N. Zhang, B. Jiang, L. Zhang, X. Xiao, Surface hydrophilic modification of PVDF membranes based on tannin and zwitterionic substance towards effective oil-in-water emulsion separation, Sep. Pur. Technol. 234 (2020) 116015, <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116015>.
- [39] M.W. Ullah, M. Ul-Islam, S. Khan, Y. Kim, J.K. Park, Innovative production of bio-cellulose using a cell-free system derived from a single cell line, Carbohydr. Polym. 132 (2015) 286–294, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.037>.
- [40] M.U. Idam, M.W. Ullah, S. Khan, J.K. Park, Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose, Int. J. Biol. Macromol. 102 (2017) 1166–1173, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.110>.

## Evaluation of the Potential of Bacterial Cellulose in the Treatment of Oily Waters

Claudio J. S. Galdino Jr.<sup>a,b</sup>, Hugo M. Meira<sup>a,b</sup>, Thais C. Souza<sup>a,b</sup>, Julia D. P. Amorim<sup>c</sup>, Fabiola C. G. Almeida<sup>b</sup>, Andréa F. S. Costa<sup>d</sup>, Leonie A. Sarubbo<sup>a,b\*</sup>

a Catholic University of Pernambuco, Príncipe Street, 526, Boa Vista, Zip Code: 50050-900, Recife, Pernambuco, Brazil

b Advanced Institute of Technology and Innovation (IATI), Joaquim de Brito Street, 216, Boa Vista, Recife - PE, Brazil

c Center of Exact Sciences and Nature, University Federal of Pernambuco (UFPE), Prof. Moraes Rego Av., 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Zip Code 50870-901

d Agreste Region Academic Centre, Federal University of Pernambuco, Campina Grande Avenue, s/n, Nova Caruaru, Zip Code: 50870-90, Caruaru, Pernambuco, Brazil

leonie@unicap.br

Cellulose is the most abundant biopolymer on the planet and has a wide range of applications in different industrial sectors. Environmental preservation policies, on the other hand, promote the development of research to replace vegetable cellulose (VC), due to the fact that its production causes several damages to the environment. In this way, bacterial cellulose (BC) appears as a promising alternative to VC, since it differs from its vegetal similar mainly because it presents fibers of a nanometric character against the micrometric of the vegetable, which gives it excellent mechanical properties like greater purity, higher index of crystallinity, higher water absorption power and higher tensile strength. Thus, the present study was carried out for the development of a filter base on the use of BC membrane for the treatment of oily waters. BC membranes were initially produced in an alternative medium based on corn steep liquor (industrial waste) due to the fact that the standard production medium (HS) represents a high cost for the production of BC on an industrial scale, since is formulated with synthetic compounds. Then, wet BC membrane samples were purified and tested as filters for the separation of oily waters with oil concentrations of 10 ppm, 150 ppm and 230 ppm. The experiments were performed in triplicate and showed 100% removal of the oil present in all samples. Variables such as flow rate, filter diameter (25 mm, 50 mm, 110 mm) and production time of the membranes (6 and 10 days) were evaluated in a filtration system constructed in PVC. By showing that the filtration rate increases proportionally to the filter diameter, it decreases from the 6-day membrane to the 10-day membrane. The mean water mass present in both 6 and 10-day BC membranes exceeded 98%. The wet BC membranes presented satisfactory results in the mechanical assays, however the 10-day membrane supported 100% more in strength (N) than the 6-day film. The results obtained in this study showed the potential of this new nontoxic and efficient biodegradable material in the separation of water/oil mixtures generated in industrial environments.

Keywords: Bacterial Cellulose, *Gluconacetobacter hansenii*; Industrial Waste; Filtrating Membranes; Filtration; Oily Water.

### 1. Introduction

To achieve the goals of sustainable development, it becomes essential to the rational utilization of natural resources management, which will require the use of new technologies. Among the technologies which have the potential to contribute to sustainable development, biotechnology has a lot to offer, especially in the fields of large-scale production of pharmaceuticals, food, energy and domestic waste water treatment plants. There is no doubt that biotechnology is the science that will revolutionize the production and supply of biomaterials (Rizwan et al., 2018). Among the possibility of delivering new biotechnological materials, is worth mentioning the cellulose production. Cellulose is a natural polymer produced by plants. It is widely used in biorefinery to produce second-generation biofuels (Giuliano et al., 2015). However, the increasing demand of VC, increased

Paper Received: 30 May 2018; Revised: 12 November 2018; Accepted: 27 March 2019

Please cite this article as: Galdino C., Meira H., Souza T., Amorim J., Almeida F., Costa A., Sarubbo L., 2019, Evaluation of the Potential of Bacterial Cellulose in the Treatment of Oily Waters, Chemical Engineering Transactions, 74, 313-318 DOI:10.3303/CET1974053

314

deforestation and global environmental issues. Although the plants are the largest sources of cellulose, several types of bacteria, that use carbon and nitrogen sources available in the culture medium, are capable of producing cellulose. Bacteria belonging to different genres, such as *Sarcina*, *Agrobacterium* and *Gluconacetobacter*, are capable of producing BC or biocellulose (Costa et al., 2018). It shows high purity, since it is not associated with other components such as hemicellulose and lignin as the VC, and due to your nanofibrillar 3D network, shows water absorption capacity (the initial membrane has approximately 99% water) and high tensile strength (Costa et al., 2017). These unique properties, in conjunction with other features, such as biocompatibility and biodegradability, resulting in a renewable character and in a wide range of applications in the biomedical area and several other technological areas (Vasconcellos et al, 2018). On the other hand, new perspectives of application appear due to nano-sized and hydrophilic properties of this biopolymer, as your possible use in separation of oily residues. Research to develop aerogels of BC obtained by addition of chemical additives for hydrophobization have been described in the literature for the separation of solvents and oils spilled on marine environment, although this technology still requires a high capital investment, which makes impracticable the process in industrial level (Carpenter et al., 2015). However, the use of the membrane as a filter of water and oil mixtures generated in industrial environments has not yet been described. In this sense, the objective of this work was to test the feasibility of application of BC films obtained in an alternative medium as an efficient filter for the separation of oily residues in water and oil mixtures generated in industrial environments.

## 2. Materials and Methods

### 2.1 Materials

Peptone, Glucose, citric acid monohydrate, yeast extract, sodium hydroxide and agar were purchased from Merck Ltd., United States. Com steep liquor (CSL), was obtained from local companies in the state of Pernambuco, Brazil

### 2.2 Microorganism and Culture Conditions

A strain of *Gluconacetobacter hansenii* UCP1619, obtained from the culture collection of Nucleus of Resource in Environmental Sciences from the Catholic University of Pernambuco, Brazil, was used for the BC production. The strain was maintained in the HS medium described by Hestrin and Schramm (1954) and modified by Hungund and Gupta (2010). The liquid medium contained 2.0% glucose (w/v), 0.5% yeast extract (w/v), 0.5% peptone, 0.27% Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (w/v), and 0.15% citric acid (v/v). BC was produced in the modified HS medium, which has the following composition: 1.5% glucose, 2.5% CST, 0.27% Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.15% citric acid, pH 5 (Costa et al., 2017).

### 2.3 Synthesis of Bacterial Cellulose

For the synthesis of BC was divided into four steps: activation, pre-inoculum, inoculum and cultivation in the modified medium. First, for the activation phase the strain was inoculated into HS-agar medium and incubated at 30°C for 48 h until growth. Then, the grown cells were transferred from the activation to the pre-inoculum in static conditions for at 30°C for 48 h in liquid HS medium, then, 3% of the pre-inoculum was transferred to the inoculum in the modified HS medium, under the same conditions, and further experiments were done after 6 and 10 days.

### 2.4 Percentage of Water Retention (PWR)

Three 6-day wet membranes, which was observed to be the minimum amount of days to obtain a uniform and filter-resistant membrane, and three 10-day wet membranes, which is the amount of days suggested by Hestrin and Schramm (1954), of BC were weighed and dried in the oven in order to completely remove the water to constant weight. Then the PWR was obtained using Eq. (1):

$$\text{PWR (\%)} = \left( \frac{\text{Mean of the wet weights} - \text{Mean of the dry weights}}{\text{Mean of the wet weights}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

### 2.5. Construction of Filtration Systems and Preparation of Oil and Water Emulsions

In the experiments, filters were made of PVC with internal diameters of 25 mm, 50 mm and 100 mm. The filters were constructed with a steel screen as support for the membranes, avoiding the deformation and tearing of the biomaterial. The BC membranes previously prepared with the same filter diameter were coupled to the filtration system, which was filled with each type of oily solution to be treated. During the filtration procedure, the system pressure was set at 1 atm (gauge pressure). Since 20 ppm is the maximum limit allowed for oil value in industrial effluents, according to the Brazilian legislation (Brazil, 2011), emulsions with

10 ppm, 150 ppm and 230 ppm of oil were used in the experiments to test the membrane. These emulsions were evaluated in the forms stabilized with non-ionic non-polar surfactant.

### 2.6. Analytical Determinations

For the study of oil concentrations before and after filtration by the BC membrane, a curve of turbidity (NTU) vs. oil concentration (ppm) was plotted with the aid of the ALFAKIT Turbidimeter and Excel 2016. With the curve and the equation, it was possible to obtain the oil contraction before and after the filtration from the turbidity reading.

### 2.7. Scanning Electron Microscopy (SEM)

For SEM, pure BC samples of 6 and 10 days previously dried the dried was mounted on a copper stub using double adhesive carbon conductive tape and coated with gold for 30 s (SANYU ELECTRON). The SEM photographs were obtained using a scanning electron microscope (JEOL, JSM-5600 operating at 27 KV.)

### 2.8. Tensile Strength Testing of BC

To characterize the mechanical properties of BC (6 and 10 days), tensile strength (N), tensile strength at peak load (MPa) and elongation at break (%) were determined based on Rethwisch and William (2016). Samples were cut into rectangular strips (2 x 7 cm). The tensile test was performed at room temperature at a speed of 5 m/min and a static load of 0.5 N using a universal testing machine (EMIC DL-500MF, Brazil) following ASTM Method D882.

### 2.9. Oil permeability and Membrane Flexibility

3 g of soybean oil were placed in a glass tube (internal diameter: 25 mm and outside diameter: 27 mm), and then a piece of BC (10 and 6 days) of 50x50 mm size was pressed firmly into the open end to seal the tube. The tube was inverted by placing a filter paper on the glass slide, and then observed whether the soybean oil permeated the membrane over time. Observations were made on at least five samples after 3 days of storage (Hu et al., 2009; Chen et al., 2013). For the membrane flexibility, the BC film was folded 100 times in the same stroke to test its flexibility. The film is evaluated as good if there is no visually observed slit. Folding times were recorded until ruptures appeared in the film. The flexibility of the film was correlated as poor (times <20), mean (20 ≤ times <50), good (50 ≤ times <100) and excellent (times ≥ 100) (Chen et al., 2013).

### 2.10. X-ray Diffraction (XRD) Analyses

X-ray diffraction patterns of the BC were measured with a Phillips X'pert MPD diffractometer using Cu K $\alpha$  radiation. The crystallinity index (CI) was measured as  $x (\%) = (I_{max} - I_{min}) / I_{max} \times 100\%$ , where  $I_{max}$  is the height of the peak at  $2\theta = 22.5$  and  $I_{min}$  the minimum between the peak at  $\theta = 22.5$  and or peak at  $2\theta = 16.3$  (Gomes et al., 2013).

## 3. Results and discussion

### 3.1. Production of BC Membranes

The average yield of BC hydrated membranes produced during 10 and 6 days was 475 and 194 g/L of medium, respectively, whereas in terms of dry membranes, yields of 6.82 and 2.69 g/L were obtained after 10 and 6 days, respectively. The NaOH purification step favored color uniformity, removal of the metabolites and possible residues from the culture medium that were adhered to the surface of the membranes.

### 3.2. Percentage of Water Retention (PWR)

The wet BC membranes were weighed and dried in the oven in order to completely remove the water to constant weight, the mass values were obtained and then the PWR was calculated as described in Table 1.

Table 1 – Wet, dry weights and water retention percentage of BC membranes obtained after 6 and 10 days

	BC obtained after 6 days		BC obtained after 10 days	
	Wet weight (g)	Dry weight (g)	Wet weight (g)	Dry weight (g)
Mean	19.406	0.269	47.509	0.682
PWR (%)	98.61 (%)		98.56 (%)	

The results confirm that the BC membranes present a high-water activity, as described by Costa et al. (2017), reaching over 98%, being this property one of the fundamental characteristics for its efficiency in the separation of oily emulsions, giving it a hydrophilic and oleophobic characteristic.

316

### 3.3. Oil Permeability and Flexibility

BC membranes have been tested for oil permeability, otherwise the oil will exude through the membranes over time when they are used for filtration of oily mixtures, thus affecting filtration efficiency. The tubes containing soybean oil were covered with the films and placed inversely on the filter paper at room temperature and humidity. The results showed that the soybean oil showed no trace of permeation through the films. In fact, BC membranes have many hydrophilic hydroxyl groups and carboxyl groups, which prevent the adsorption of oil molecules on the surface of the membrane. Similar results were observed by Hu et al. (2009) and by Chen et al., (2013) for glycerol-oxidized potato starch-based films as plasticizer and cellulose sulphate (NaCS) plasticized with glycerol incorporated with starch, respectively. BC membranes also exhibited excellent flexibility as they remained intact for folding for much more than 100 times.

### 3.4. Characterization of BC Membranes by SEM

Figure 1 shows images of the pure dry BC membranes. Figure 1a shows a BC membrane screen of 6 days, in which a network of nanofibres of cellulose arranged in a random way is observed. The visualization of the fiber network increased 14,000 and 17,000 times and exhibited the images of the surface of BC of 6 days (Figure 1a) and 10 days (Figure 1b), showing fiber dispersion and interfacial adhesion. Both films exhibited a cross-linked structure consisting of ultrafine nanofibrils and a difference in structure is observed, the 10-day membrane (Figure 1B) having a more linked and closed structure as shown in SEM images below.

It was found that the width of the BC nanofibers changed as the harvest time increased, and the film thickness obtained also increased due to the larger mass of BC being formed. According to Hassan et al. (2017), the fabric structure of BC is unique in terms of porosity, compaction, watertightness and wet strength. It is important to note that due to these characteristics, the filtration of the oily solutions was possible, and it is also possible to understand the difference of the flow rates obtained between the membranes obtained after 6 days (higher flow) from the one obtained after 10 days.

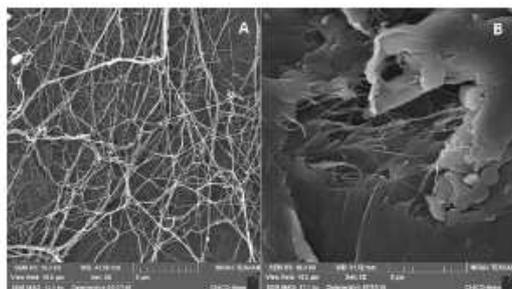


Figure 1. Dry film scanning electron micrograph of BC obtained after (A) 6 days and (B) 10 days.

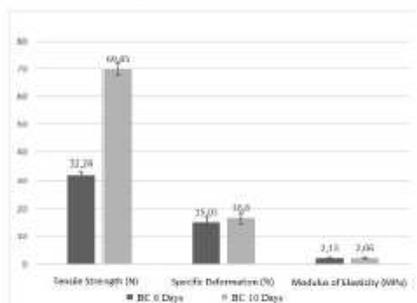


Figure 2. Tensile Strength (N), Specific Deformation (%) and Modulus of Elasticity (MPa) of samples of BC obtained after 6 and 10 days.

### 3.5. Tensile Strength Testing of BC

The results of the maximum tensile strength, specific deformation and modulus of elasticity of BC membranes are shown in Figure 2. The maximum tensile strength (N) of the 10-day BC membrane was increased by

100% in relation to the 6-days membrane. However, the values of modulus of elasticity (MPa) and specific deformation (%) did not differ much, as can be seen in Figure 2. As can be evidenced by SEM images, shown earlier (Figure 1), the 10-day BC membrane has a denser fiber structure, resulting in improved mechanical strength due to good interfacial adhesion and the formation of strong interactions between its fibers, which justifies the tensile strength result observed in the graph to be twice the value presented for the 6-days membrane.

### 3.6. X-ray Diffraction (XRD) Analyses

The crystallinity index (CI) was calculated based on the peak intensity, as shown in Figure 3. The CI obtained for the 6-days BC was 71% and while that of 10-days BC was 84.4%. It shows that the increase in the days of culture increased the CI of the BC membrane. CI has a ratio inversely proportional to the porosity of the cellulose surface. The presence of larger pores allows a greater penetration of the water molecules, which are absorbed by the membrane, thus increasing the degree of hydrophilicity (citing cellulose work as a filter). In the case of BC membranes, the increase in CI indicates the reduction of pores, and consequently a lower water flow, thus favoring the use of the 6-days BC as a filter membrane, because greater porosity increases the permeability of the material, that is, we have a membrane that presents greater number of pores in relation to the 10-days BC.

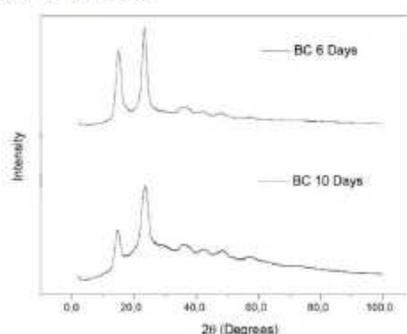


Figure 3. XRD of samples of BC obtained after 6 and 10 days.

## 4. Filtration System

Table 2 shows the mean volumes filtered in milliliters (mL) and the amount of oil present in the filtrate (ppm). For each filtration the time of 4 minutes was set and the system pressure was 1 atm.

Table 2 – Mean of the filtered volume (mL), mean of the amount of oil present filtered (ppm) and standard deviation of the mean filtered volume of the 6-day and 10-day BC filtrations

		Mean (mL)/ Filtered Std.		Mean (mL)/ Filtered Std.		Mean (mL)/ Filtered Std.	
		Mean (ppm)	Deviation	Mean (ppm)	Deviation	Mean (ppm)	Deviation
		25 mm		50 mm		100 mm	
6-day BC	10 ppm	14.58 / 0.0	0.52	46.68 / 0.0	2.29	149.79 / 0.0	2.50
	150 ppm	13.49 / 0.0	0.88	37.38 / 0.0	0.72	145.00 / 0.0	1.47
	230 ppm	13.36 / 0.0	1.16	36.60 / 0.0	1.20	147.147 / 0.0	1.62
10-days BC	10 ppm	9,28 / 0,0	0,33	29,13 / 0,0	2,04	88,45 / 0,0	2,03
	150 ppm	9,12 / 0,0	0,14	33,46 / 0,0	2,09	89,58 / 0,0	1,31
	230 ppm	9,00 / 0,0	0,10	31,92 / 0,0	1,53	90,50 / 0,0	0,46

With the results of the filtration it is observed that the 6-days BC membrane of present a greater filtration flow, being 1.7 times higher, with the same efficiency of the 10-days BC membrane, allowing a total removal of the oil present and proving to be efficient in oil removal.

## 5. Conclusions

The experiments performed showed that the removal of the oil present in all samples was of 100%. It is also possible to note that the filtration rate increases proportionally to the filter diameter and it decreases from the 6-day membrane to the 10-day membrane, because the CI obtained for the 6-days BC was 71% and while

318

that of 10-days BC was 84.4%, these results show that CI has a ratio inversely proportional to the porosity of the cellulose surface, and the presence of larger pores allows a greater penetration of the water molecules, favoring the use of the 6-days BC as a filter membrane. The percentage of water retention present in both BC membranes exceeded 98%, showing the enormous presence of water in their compositions, making it difficult to pass the oil and facilitating its use as a filter. Thus, the BC membrane is an efficient hydrophilic barrier to prevent the passage of nonpolar components like oils and fats.

The studies on the application and efficiency of the BC membrane as a filter for oily waters will continue to identify physical chemical parameters as reference for this type of effluent. For a future research the study will focus on the difference between a filtration of a stabilized emulsified oily solution against a non-emulsified. Further characterization of the BC membranes will support the use of the biomaterial as a biotechnological filter. However, with the execution of these experiments the potential in the application of BC membrane obtained in alternative medium as an efficient filter for separation of water and oil mixtures was demonstrated.

#### Acknowledgments

This study was funded by the Research and Development Program from National Agency of Electrical Energy (ANEEL), the Foundation for the Support of Science and Technology of the State of Pernambuco (FACEPE), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), the Coordination for the Improvement of Higher Level Education Personnel (CAPES) and the Advanced Institute of Technology and Innovation (IATI).

#### References

- Brazil, 2011, Diário Oficial República Federativa do Brasil, Resolução CONAMA 430, <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>> accessed 20.12.2018.
- Carpenter, A.W., Lannoy S-F., Wiesner, M.R., 2015, Cellulose nanomaterials in water treatment technologies. *Environmental Science & Technology*, 49, 5277-87. doi: 10.1021/es506351r
- Costa, A. F. S., Nascimento, V. R., Amorim, J. D. P., Gomes, E. A. S., Araujo, L. M., Sarubbo, L. A., 2018, Residue from the production of sugar cane: an alternative nutrient used in biocellulose production by *Gluconacetobacter hansenii*. *Chemical engineering transactions*, 64, 7-12. doi: 10.3303/CET1864002
- Costa, A. F. S., Rocha, M. A. V., Sarubbo, L. A., 2017, Bacterial cellulose: an ecofriendly biotextile. *International Journal of Textile and Fashion Technology*, 7, 11-26. doi: 10.3389/fmicb.2017.02027
- Chen, G., Zhang, B., Zhao, J., Chen, H., 2013, Improved process for the production of cellulose sulfate using sulfuric acid/ethanol solution. *Carbohydrate Polymers*, 95, 332-337. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.03.003
- Gomes, F. P., Silva, N. H. C. S., Trovatti, E., Serafim, L. S., Duarte, M. F., Silvestre, A. J. D., Pascoal Neto, C., Freire, C. S. R., 2013, Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue. *Biomass and Bioenergy*, 55, 205 - 211. doi: 10.1016/j.biombioe.2013.02.004
- Giuliano A., Poletto M., Bartetta D., 2015, Process design of a multi-product lignocellulosic biorefinery. *Computer Aided Chemical Engineering*, 37, 1313-1318. doi: 10.1016/B978-0-444-63577-8.50064-4
- Hestrin, S., Schramm, M., 1954, Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemistry Journal*, 58, 345-352. doi: 10.1042/bj0580345
- Hu, G., Chen, J., Gao, J., 2009, Preparation and characteristics of oxidized potato starch films. *Carbohydrate Polymers*, 76, 291-298. doi:10.1016/j.foodchem.2011.10.090
- Hungund, B. S., Gupta, S. G., 2010, Improved production of bacterial cellulose from *Gluconacetobacter persimmonis* GH-2. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 2, 127-133. doi: 10.4172/1948-5948.1000037
- Wu, J.M., Liu, R.H., 2012, Thin stillage supplementation greatly enhances bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. *Carbohydrate Polymers*, 90, 116-121. doi:10.1016/j.carbpol.2012.05.003
- Hassan, E., Hassan, M., Abou-zeid, R., Berglund, L., Oksman, K., 2017, Use of Bacterial Cellulose and Crosslinked Cellulose Nanofibers Membranes for Removal of Oil from Oil-in-Water Emulsions. *Polymers*, 9, 388-351. doi:10.3390/polym9090388
- Rethwisch, D. G. Jr., and William, D. C., 2016. *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*, Vol 9, LTC, Rio de Janeiro, Brazil.
- Rizwan, M., Mujtaba, G., Memon, S. A., Lee, K., Rashid, N., 2018, Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 394-404. doi:10.1016/j.rser.2018.04.034
- Vasconcellos V.M., Farinas C. S., 2018, The effect of the drying process on the properties of bacterial cellulose films from *Gluconacetobacter hansenii*. *Chemical Engineering Transactions*, 64, 145-150. doi: 10.3303/CET1864025



## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA CELULOSE BACTERIANA NO TRATAMENTO DE ÁGUAS OLEOSAS

GALDINO, C. J. S. J.<sup>1,3</sup>, MEIRA, H. M.<sup>1,3</sup>, AMORIM, J. D. P.<sup>1,3</sup>, SOUZA, T. C.<sup>1,3</sup>, COSTA, A. F. S.<sup>2</sup> e SARUBBO, L. A.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Católica de Pernambuco, Centro de Ciências e Tecnologia, Recife-PE, Brasil

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Campus Agreste, Caruaru-PE, Brasil

<sup>3</sup> Instituto Avançado de Tecnologia e Inovação (IATI), Recife-PE, Brasil

E-mail para contato: [claudiocjg@gmail.com](mailto:claudiocjg@gmail.com)

**RESUMO** – A celulose é o biopolímero mais abundante no planeta e possui uma vasta gama de aplicações em diferentes setores da indústria. As políticas de preservação ambiental impulsionam o desenvolvimento de pesquisas no sentido de substituir a celulose vegetal (CV) por uma alternativa a este polímero que atenda ao critério de sustentabilidade. Nesse sentido, a celulose produzida por microrganismos surge como alternativa promissora à CV. A celulose bacteriana (CB) se diferencia de sua semelhante vegetal principalmente por apresentar fibras de caráter nanométrico contra o micrométrico do vegetal, o que lhe confere excelentes propriedades mecânicas, maior cristalinidade, maior poder de absorção de água e maior resistência à tração. A utilização da celulose microbiana em diferentes setores economicamente importantes como o de produção de papel, de tecido, na indústria alimentícia, indústria farmacêutica e na biomedicina demonstram sua versatilidade no mercado mundial. Membranas de CB também têm sido testadas na síntese de compósitos com aplicação na área ambiental para a filtração de metais pesados e materiais particulados. Assim, nesse trabalho foi desenvolvido um filtro à base de CB e aplicado ao tratamento de águas oleosas. As membranas de CB foram inicialmente produzidas em meio alternativo à base de resíduos industriais, purificadas e neutralizadas. Em seguida foram testadas como filtros de águas oleosas, caracterizadas pelas suas concentrações de óleo antes e após a filtração. Ao final do trabalho ficou claro que esse novo material biodegradável e atóxico é eficiente para a separação de misturas água/óleo geradas em ambientes industriais, uma vez que foi possível reduzir uma concentração inicial de óleo de 300 ppm para 0 ppm.

*Palavras-chave:* Celulose bacteriana; *Gluconacetobacter hansenii*; resíduos industriais; membranas filtrantes; filtração; águas oleosas.

### 1. INTRODUÇÃO

Para atingir as metas de desenvolvimento sustentável, é indispensável o manejo racional dos recursos naturais, o que exigirá o emprego de novas tecnologias. Dentre as tecnologias que apresentam potencial para contribuir para o desenvolvimento sustentável, a biotecnologia tem muito a oferecer, especialmente nos campos da geração de energia e prevenção da poluição ambiental. Não há dúvidas de que a biotecnologia é a ciência que revolucionará a produção e a oferta de biomateriais para os mercados (SCHENBERG, 2010).

Dentre a possibilidade de fornecimento de novos materiais biotecnológicos, destaca-se a



XXI CONGRESSO  
BRASILEIRO DE  
ENGENHARIA QUÍMICA  
23 a 26 de Setembro de 2018  
Hotel Marriot Plaza  
São Paulo - SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO  
SOBRE O ENSINO DE  
ENGENHARIA QUÍMICA  
27 a 29 de Setembro de 2018  
USP  
São Paulo - SP

obtenção de celulose. A celulose é um polímero natural produzido por plantas. Entretanto, o aumento da demanda de derivados de CV, aumentou o consumo de madeira como matéria-prima, causando desmatamento e questões ambientais globais. Embora as plantas sejam as maiores fontes de celulose, vários tipos de bactérias são capazes de produzir celulose como fonte alternativa. As bactérias pertencentes a diferentes gêneros, como *Gluconacetobacter*, *Sarcina* e *Agrobacterium* são capazes de produzir celulose bacteriana ou biocelulose (GOMES et al., 2013).

A CB apresenta elevada pureza, uma vez que não está associada com outros componentes da CV, tais como a lignina e a hemicelulose e devido à sua rede nanofibrillar em 3D, mostra capacidade de absorção de água (a membrana inicial possui aproximadamente 99% de água) e alta resistência à tração (COSTA et al., 2017). Essas propriedades singulares, em conjunto com outras características, como biocompatibilidade e biodegradabilidade, resultam no caráter renovável e em uma ampla gama de aplicações na área biomédica e em vários outros domínios tecnológicos, tais como membranas para dispositivos de áudio, papel eletrônico e como material de reforço em nanocompósitos transparentes/translúcidos (WU; LIU, 2012). Por outro lado, novas perspectivas de aplicação surgem em função das propriedades nanométricas e hidrofílicas desse biopolímero, como sua possível utilização na separação de resíduos oleosos industriais. Pesquisas para desenvolver aerogéis de CB obtidos por hidrofobização e adição de aditivos químicos têm sido descritas na literatura para a separação de solventes e óleos derramados em ambiente marinho, embora essa tecnologia ainda necessite de um alto investimento de capital, o que inviabiliza o processo a nível industrial (CARPENTER et al., 2015). Entretanto, a utilização da membrana como um filtro de misturas água e óleo geradas em ambientes industriais ainda não foi descrita.

Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi testar a viabilidade de aplicação de películas de CB obtidas em meio alternativo como filtro eficiente para separação de resíduos oleosos em misturas água e óleo geradas em ambientes industriais.

## 2. METODOLOGIA

**Microorganismo:** A bactéria *Gluconacetobacter hansenii* UCP1619, depositada no Banco de Culturas da Universidade Católica de Pernambuco, foi utilizada como produtora da celulose bacteriana.

**Meios de crescimento, de manutenção e de produção da CB:** O meio Hestrin e Schramm (HS) (1954), utilizado para o crescimento da bactéria é composto por 20,0 g/L de glicose, 5,0 g/L de peptona, 5,0 g/L de extrato de levedura, 2,7 g/L de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e 1,15 g/L de ácido cítrico em pH 5,0. A celulose bacteriana foi produzida no meio HS modificado. O meio modificado tem a seguinte composição: 1,5% de glicose, 2,5% de milhocina, 0,27% de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,15% de ácido cítrico, pH 5.

**Condições de cultivo, lavagem, purificação e pesagem da película de CB:** O pré-inóculo foi preparado a partir do crescimento do micro-organismo a 30 °C durante 48 h, em condições estáticas, em meio líquido HS. O inóculo foi preparado através da transferência de 3% do pré-inóculo em meio HS em frascos Scotht de 500 mL contendo 100 mL do meio de produção e, em seguida, incubado estaticamente a 30 °C durante 10 dias. Após o cultivo, o caldo da fermentação e as películas de CB foram recolhidos e limpos por imersão em solução de NaOH a 4% durante 2h para eliminar as células retidas (LI et al., 2015).



**Filtração dos efluentes oleosos em sistema de filtração de CB:** Um filtro construído em PVC com diâmetro interno de 50 mm, foi utilizado nos experimentos. Dentro do filtro foi colocada a uma solução oleosa conhecida (300 ppm) e foi realizada a filtração à 2 atm (Pressão Absoluta) obtida por um compressor.

**Determinações analíticas:** Para o estudo das concentrações de óleo antes e depois da filtração pela membrana de CB, foi plotada uma curva de turbidez (NTU) versus concentração de óleo (ppm) com um auxílio do Turbidímetro ALFAKIT e do Excel 2016. Todos os pontos foram feitos em triplicata. Com a curva plotada e obtida a equação da reta, foi possível obter a contração de óleo antes e depois da filtração a partir da leitura da turbidez.

### 3. RESULTADOS

Nesse estudo a CB produzida a partir de um meio de cultivo alternativo em condições estáticas reduziu o custo de produção em 78% em relação ao meio padrão HS (COSTA et al, 2017) e apresentou uma viabilidade para ser utilizada como membrana filtrante para soluções água-óleo. O processo de fermentação da CB apresentou um rendimento de 38,6% e as membranas de CB hidratadas pesaram aproximadamente 37 g contendo cerca de 98% de água. Após retiradas do meio de cultura a etapa de purificação com NaOH favoreceu a uniformização da cor, remoção dos metabolitos e possíveis resíduos do meio de cultura que estavam aderidos na superfície das membranas. Para ser utilizada como membranas filtrante, sucessivas lavagens em água corrente foram feitas, até a neutralização (pH 7,0).

Uma curva de concentração do óleo foi obtida para auxiliar a quantificação do óleo removido no processo de filtração. A Figura 1 ilustra a curva obtida da turbidez (NTU) em função da concentração de óleo (ppm). Terminada a construção do gráfico e obtida a equação da reta, uma mistura composta de 200 mL de água destilada e 300 ppm de óleo foi colocada no filtro onde a membrana CB (hidratada) foi utilizada como filtro. A filtração ocorreu por 30 minutos sob a pressão de 2 atm (P. Absoluta), até a obtenção de  $\pm 100$  mL de líquido filtrado.

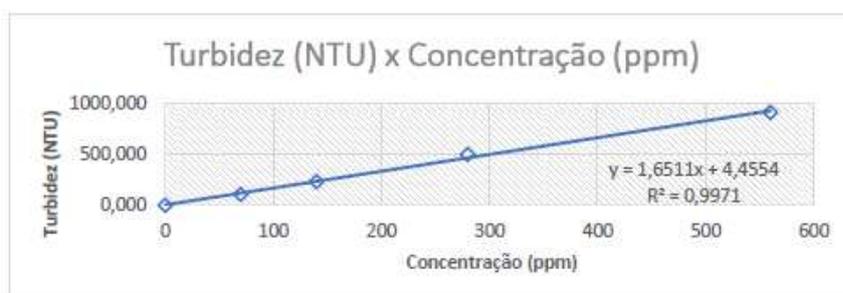


Figura 1: Gráfico com equação da reta: Turbidez (NTU) x Concentração de óleo (ppm).

A Tabela 1 apresenta a eficiência das membranas de CB para o parâmetro turbidez, que, confirma a concentração de 455,91 ppm óleo retido nas membranas de CB hidratadas. A Figura 2 confirma a remoção completa da turbidez entre as amostras da solução água-óleo e do material filtrado.



Tabela 1: Turbidez da solução oleosa filtrada e do volume restante no filtro (concentrado)

Amostras	Turbidez (NTU)	
	Filtrado	Concentrado
1	0	756,64
2	0	758,00
3	0	757,00
Média	0	757,21



Figura 2: Comparação final entre o material filtrado (0 ppm) e solução água-óleo inicial concentrada de óleo (300 ppm).

#### 4. CONCLUSÃO

Os estudos na aplicação e eficiência da membrana de CB como um filtro para águas oleosas continuarão identificando parâmetros físicos e químicos como referência para esse tipo de efluente. A caracterização das membranas CB fundamentará a utilização do biomaterial como filtro biotecnológico. Contudo, com a execução desses experimentos foi identificado o potencial na aplicação da membrana de CB obtidas em meio alternativo como um filtro eficiente para separação de misturas água e óleo, pois, em uma única filtração separou 100% da mistura óleo-água. Esse resultado se deve ao fato da membrana de CB ser uma barreira hidrofílica eficiente para impedir a passagem dos componentes apolares como os óleos.

#### 5. REFERÊNCIAS

- CARPENTER, A.W.; LANNOY S-F., WIESNER, M.R. Cellulose nanomaterials in water treatment technologies. *Environmental Science & Technology*, v. 49, p. 5277-87 2015.
- COSTA, A. F. S.; ROCHA, M. A. V.; SARUBBO, L. A. Bacterial cellulose: an ecofriendly biotextile. *International Journal of Textile and Fashion Technology*, v. 7, p. 11-26, 2017.
- GOMES, F. P.; SILVA, N. H. C. S.; TROVATTI, E.; SERAFIM, L. S.; DUARTE, M. F.; SILVESTRE, A. J. D.; PASCOAL NETO, C.; FREIRE, C. S. R. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue. *Biomass and Bioenergy*, v. 55, p.205 - 211, 2013.
- HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemistry Journal*, v. 58, n. 2, p. 345-352, 1954.
- LI, Z.; WANG, L.; HUA, J.; JIA, S.; ZHANG, J.; LIU, H. Production of nano bacterial cellulose from waste water of candied jujube-processing industry using *Acetobacter xylinum*. *Carbohydrate Polymers*, v. 120, p. 115-119, 2015.



XXII CONGRESSO  
BRASILEIRO DE  
ENGENHARIA QUÍMICA  
23 a 26 de Setembro de 2018  
Hotel Meliá Plaza  
São Paulo - SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO  
SOBRE O ENSINO DE  
ENGENHARIA QUÍMICA  
27 a 28 de Setembro de 2018  
LSP  
São Paulo - SP

SCHENBERG, A. C. G. **Biotecnologia e desenvolvimento sustentável. Estudos Avançados.** v. 24, n. 70, p. 7 - 17, 2010.

WU, J.M.; LIU, R.H. Thin stillage supplementation greatly enhances bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 116-121, 2012.