



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS ARARANGUÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENERGIA E SUSTENTABILIDADE

Maria Luísa Tonetto

**REMOÇÃO DE CORANTE TÊXTIL DE MEIOS AQUOSOS PELO PROCESSO DE  
ADSORÇÃO UTILIZANDO CELULOSE BACTERIANA ESFÉRICA**

ARARANGUÁ

2021

Maria Luísa Tonetto

**REMOÇÃO DE CORANTE TÊXTIL DE MEIOS AQUOSOS PELO PROCESSO DE  
ADSORÇÃO UTILIZANDO CELULOSE BACTERIANA ESFÉRICA**

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

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Ángeles Lobo Recio

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tatiana Gisset Pineda Vásquez

Araranguá

2021

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

Tonetto, Maria Luisa

Remoção de corante têxtil de meios aquosos pelo processo de adsorção utilizando Celulose Bacteriana esférica / Maria Luisa Tonetto ; orientador, Maria Ángeles Lobo Recio, coorientador, Tatiana Pineda Vásquez, 2021.  
102 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, , Programa de Pós-Graduação em Energia e Sustentabilidade, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Energia e Sustentabilidade. 2. Celulose Bacteriana. 3. Adsorção. 4. Índigo Carmim. 5. Planejamento Fatorial. I. Lobo Recio, Maria Ángeles . II. Pineda Vásquez, Tatiana. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Energia e Sustentabilidade. IV. Título.

Maria Luísa Tonetto

**Remoção de corante têxtil de meios aquosos pelo processo de adsorção utilizando  
Celulose Bacteriana esférica**

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

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Regina Vasconcellos Antônio  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Derce de Oliveira Souza Recouvreux  
Universidade Federal de Santa Catarina

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

---

Prof. Dr. Tiago Elias Allievi Frizon  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Ángeles Lobo Recio  
Orientadora

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Tatiana Gisset Pineda Vásquez  
Coorientadora

Araranguá, 2021.

Este trabalho é dedicado a Deus pois devo a Ele tudo o que sou e também aos meus queridos e amados pais.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, sua presença amorosa e suave me encoraja diariamente. Caminhar debaixo daquilo que o Senhor sonhou para mim me dá forças para conduzir todos os propósitos da minha vida.

A minha Orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Ángeles Lobo Recio, por toda confiança depositada, pela grande acessibilidade e conselhos. Foi um ano muito difícil. És exemplo de profissional a ser seguida, tenho uma enorme admiração pela senhora. Obrigada, Professora, por tudo. Serei sempre grata.

A minha Coorientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tatiana Pineda Vásquez, que foi uma das responsáveis por eu seguir na carreira acadêmica. Por me ajudar sempre que solicitei, incentivar e me aturar nos momentos difíceis. Grata por esses anos de amizade. Espero um dia poder te visitar.

Especialmente aos meus pais, Angelo e Adelaine, que sempre estiveram do meu lado, apoiando, aconselhando e me dando todo o suporte necessário. Passamos por dias difíceis com perdas tão importantes para nós neste ano, mas vocês se mantiveram sempre fortes e com palavras de apoio. Vocês são a minha grande fortaleza e refúgio. Todo meu amor a vocês!

Ao meu namorado Fernando Colonetti, meu amor e ombro amigo, tudo foi mais fácil e leve com você do meu lado, sempre me apoiando nas dificuldades e me incentivando a ser uma pessoa melhor.

Agradeço também à família do Fernando, que também se tornou um pouco minha nesses quase 6 anos. As motivações e amparo mesmo que, mais de longe, nestes últimos anos foram essenciais.

Ao Programa de Pós-Graduação em Energia e Sustentabilidade (PPGES-UFSC) por toda estrutura e suporte necessário para realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

A professora Dr<sup>a</sup> Regina Vasconcellos Antônio, pelos dias no laboratório, com nossas conversas motivadores e risadas, por compartilhar comigo uma visão de mundo semelhante. Foram anos de muito aprendizado, minha admiração pela senhora é gigante.

Aos colegas que conheci no mestrado e agora os tenho como amigos, pelos momentos de descontração, incentivo e trocas de informações, que foram essenciais durante esta jornada.

Agradeço à banca, professora Dr<sup>a</sup>. Derce de Oliveira Souza Recouvreux e professora Dr<sup>a</sup> Regina Vasconcellos Antônio por aceitarem o convite, pela leitura atenta desta dissertação e suas contribuições.

A todos os meus amigos, pelo companheirismo e por de alguma forma contribuírem para manter minha sanidade mental, principalmente durante este período de pandemia.

A toda a equipe do Laboratório PROBIOTEC (Laboratório de Processos Biotecnológicos Inovadores na Produção de Energia) e do (LabEFLUTOX) Laboratório de Efluentes e Toxicologia.

Quero agradecer, enfim, a todos os que, de alguma forma fizeram parte deste ciclo tão importante para mim.

## RESUMO

As indústrias têxteis ocupam um papel de destaque na economia brasileira. Contudo, seu crescente desenvolvimento resulta na geração ainda maior de resíduos. Essas indústrias geram efluentes com forte coloração, devido ao fato de que parte do corante não se fixa completamente à fibra. O efluente têxtil possui elevada carga de corantes e, quando liberado sem tratamento em águas naturais, impede que a luz solar penetre, impossibilitando a fotossíntese, comprometendo taxas de oxigênio dissolvido e causando danos na fauna e flora. A adsorção é uma tecnologia de tratamento para efluente têxtil que se destaca devido a sua alta eficiência e versatilidade, desta forma, buscam-se adsorventes alternativos e viáveis para diminuir os custos do processo. Este trabalho teve como objetivo estudar a formação de celulose esférica a partir da bactéria *Komagataeibacter hansenii* e avaliar a capacidade de adsorção do corante Índigo Carmim (IC) pelas esferas obtidas. A síntese de Celulose Bacteriana (CB) foi efetuada sob diferentes condições de concentração de inóculo e da velocidade de agitação, seguindo um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), para identificar quais parâmetros têm influência no diâmetro e geometria das esferas. Os resultados mostraram que é possível ajustar os parâmetros para obter CB esférica com as dimensões desejadas. No estudo de adsorção de IC por CB foi avaliada, via DCCR, a influência da massa de CB esférica por volume de corante e da velocidade de agitação no processo. A adsorção foi mensurada via espectroscopia UV/visível para monitoramento da remoção de cor. Os resultados mostraram que ambos os fatores influenciam positivamente a adsorção do corante, dado que em maiores velocidades de agitação e massa de adsorvente a porcentagem de remoção foi maior. A melhor condição obtida nos ensaios foi de 43,64 % de remoção de corante quando se utilizou a velocidade de agitação de 128 rpm e 714 mg de massa de adsorvente em 10 mL de solução aquosa de IC na concentração de 25 mg.L<sup>-1</sup>. Assim, os resultados demonstraram que a CB é um agente de tratamento promissor para a remoção do corante IC em efluentes industriais.

**Palavras-chave:** Celulose Bacteriana. Adsorção. Índigo Carmim. Planejamento Fatorial.



## ABSTRACT

The textile industries stand out in the Brazilian economy and production, as well as being great powers in pollution and environmental contamination. These industries generate effluent with strong coloration, due to the fact that part of it does not completely attach to the fiber. Textile effluent has a high dye load and, when released without treatment into water bodies, prevents sunlight from penetrating, making photosynthesis impossible, compromising dissolved oxygen rates and causing damage to fauna and flora. Adsorption is a treatment technology for textile effluent that stands out due to its high efficiency and versatility, therefore, alternative and viable adsorbents are sought to reduce process costs. This study evaluated the synthesis of spherical cellulose from the bacteria *Komagataeibacter hansenii* and to study its adsorption capacity for the indigo carmine (IC) dye. The synthesis of bacterial cellulose (BC) was carried out under different conditions of inoculum concentration and agitation speed following a Central Composite Rotational Design (CCRD) to identify which of the parameters influence the diameter and geometry of the spheres obtained. The results showed that it is possible to select the values of the variables to obtain spherical BC in the desired diameter. In the study of IC adsorption by BC, the influence of spherical BC mass and agitation speed on IC adsorption was also evaluated via CCRD. Adsorption was measured via UV/visible spectroscopy to monitor color removal. The results showed that both factors positively influence the adsorption of the dye, in greater agitation and adsorbent mass the percentage of removal achieved was higher, with removal of 43.64%, resulting in the best condition studied. Thus, the results obtained demonstrated that BC is a promising treatment agent for the removal of IC dye in industrial effluents.

**Keywords:** Bacterial Cellulose. Adsorption. Indigo carmine. Factorial design.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma da cadeia produtiva têxtil. ....	19
Figura 2 – Estrutura molecular do corante índigo carmim. ....	23
Figura 3 – Representação esquemática para a formação de camadas de adsorvato na adsorção por quimissorção e/ou fisissorção. ....	26
Figura 4 – Ligações de hidrogênio em cadeias de celulose: a) Ligação de hidrogênio intramolecular em cadeias de celulose b) Ligação de hidrogênio intermolecular em cadeias de celulose. ....	32
Figura 5 – Microscopia Eletrônica de Varredura de diferentes fontes de celulose: a) fibra de coco, ampliação 230×; b) fibra de sisal, ampliação 250×; c) celulose extraída de plantas, ampliação 1000×; d) celulose bacteriana, ampliação 10000×. ....	33
Figura 6 – Fluxograma metodológico geral do estudo da adsorção do corante IC por esferas de CB. ....	40
Figure 7 – BC spheres before and after purification. ....	48
Figure 8 – BC spheres for adsorption. ....	49
Figure 9 – FTIR ....	51
Figure 10 – Photographs and histograms of the spherical BC samples produced under agitated culture in different inoculum and agitation speed conditions. ....	54
Figure 11 – a) Pareto diagram, b) Contour curve graph, and c) Response surface graph from ANOVA and CCRD studies on the optimization of processing parameters for the obtention of spherical bacterial cellulose. ....	58
Figura 12 – Espectros de FTIR: a) Esfera de CB antes da adsorção b) Esfera de CB após adsorção e c) Índigo carmim puro. ....	67
Figura 13 – Gráfico de Pareto obtido a partir do DCCR para o percentual de remoção do Corante IC por CB onde L- Termos Lineares; Q - Termos Quadráticos. ....	75
Figura 14 – Análise de correlação entre os valores previstos e observados para adsorção de IC por CB. ....	76
Figura 15 – (a) Superfície de resposta e (b) gráfico de contorno para a percentagem de remoção do Corante IC pelo processo de adsorção por esferas de CB. ....	77

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação dos corantes de acordo com sua estrutura química. ....	22
Quadro 2 – Diferenças entre adsorção física e química. ....	27
Quadro 3 – Adsorventes utilizados no processo de adsorção de corantes.....	29
Quadro 4 – Produção de CB esférica.....	35

## LISTA DE TABELAS

Table 1 – CCRD data matrix. ....	47
Table 2 – Data matrix histogram analysis. ....	56
Tabela 3 – Características do índigo carmim. ....	63
Tabela 4 – Planejamento fatorial para os ensaios de adsorção.....	64
Tabela 5 – Concentrações iniciais e finais das soluções de IC (10 mL) e % remoção de.....	69
Tabela 6 – Coeficiente de regressão e níveis de significância para o DCCR considerando a adsorção do corante IC por esferas de CB.....	74

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ABIT** Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção

**CB** Celulose Bacteriana

**CF** Constituição Federal

**CONAMA** Conselho Nacional do Meio Ambiente (órgão ambiental do Brasil)

**CP** Celulose Vegetal

**DBO** Demanda Biológica de Oxigênio

**DCCR** Delineamento composto central rotacional / *CCRD* (inglês)

**DQO** Demanda Química de Oxigênio

**FTIR** Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (*Fourier transform infrared spectroscopy*)

**IC** Índigo Carmim

**MEV** Microscopia Eletrônica de Varredura

**MMA** Ministério do Meio Ambiente

**OD** Oxigênio Dissolvido

**SS** Sólidos Suspensos

**T** Temperatura

**UFSC** Universidade Federal de Santa Catarina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO, MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
1.1	OBJETIVOS .....	17
<b>1.1.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>17</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
2.1	INDÚSTRIA TÊXTIL .....	18
<b>2.1.1</b>	<b>Processo de Produção Têxtil</b> .....	<b>18</b>
2.2	EFLUENTES TÊXTEIS E O MEIO AMBIENTE .....	19
<b>2.2.1</b>	<b>Corantes</b> .....	<b>21</b>
2.2.1.1	<i>Classificação dos corantes</i> .....	21
2.2.1.2	<i>Corantes indigoides</i> .....	23
2.2.1.3	<i>Índigo Carmim</i> .....	23
<b>2.2.2</b>	<b>Tratamento de efluentes têxteis</b> .....	<b>24</b>
2.3	ADSORÇÃO .....	25
2.4	ADSORVENTES .....	28
2.5	CELULOSE BACTERIANA .....	30
<b>2.5.1</b>	<b>Estrutura da Celulose Bacteriana</b> .....	<b>31</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Produção de CB</b> .....	<b>34</b>
2.6	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....	36
2.7	LEGISLAÇÃO PERTINENTE A EFLUENTES TÊXTEIS .....	37
<b>3</b>	<b>LAYOUT DA PESQUISA</b> .....	<b>39</b>
<b>4</b>	<b>ARTIGO 1 - OPTIMIZATION OF PROCESSING PARAMETERS FOR THE SYNTHESIS OF SPHERICAL BACTERIAL CELLULOSE</b> .....	<b>41</b>
4.1	INTRODUCTION .....	43
4.2	EXPERIMENTAL.....	46
<b>4.2.1</b>	<b>Microorganisms and Inoculum Preparation</b> .....	<b>46</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Culture Conditions and Central Composite Rotatable Design (CCRD)</b> .....	<b>46</b>

4.2.3	<b>Purification of produced BC spheres.....</b>	<b>48</b>
4.2.4	<b>Amount and diameter of the spherical particles.....</b>	<b>48</b>
4.2.5	<b>BC characterization.....</b>	<b>49</b>
4.2.6	<b>Factorial design and Statistical analysis.....</b>	<b>50</b>
4.3	RESULTS AND DISCUSSION.....	51
4.3.1	<b>Spherical BC Production and Size.....</b>	<b>51</b>
4.3.2	<b>Statistical analysis.....</b>	<b>56</b>
4.4	CONCLUSION.....	59
<b>5</b>	<b>ARTIGO 2 – REMOÇÃO DE ÍNDIGO CARMIM POR ADSORÇÃO</b>	
	<b>UTILIZANDO CELULOSE BACTERIANA ESFÉRICA.....</b>	<b>60</b>
5.1	INTRODUÇÃO.....	61
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	62
5.2.1	<b>Preparação das esferas celulose bacteriana.....</b>	<b>62</b>
5.2.2	<b>Preparação do adsorvato.....</b>	<b>63</b>
5.2.3	<b>Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR).....</b>	<b>64</b>
5.2.4	<b>Ensaio de adsorção.....</b>	<b>65</b>
5.2.5	<b>Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....</b>	<b>66</b>
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
5.3.1	<b>FTIR espectroscopia.....</b>	<b>66</b>
5.3.2	<b>Capacidade de adsorção da CB esférica.....</b>	<b>69</b>
5.3.3	<b>Efeito da massa de adsorvente e da velocidade de agitação.....</b>	<b>70</b>
5.3.4	<b>Análise de significância estatística das variáveis independentes.....</b>	<b>73</b>
5.4	CONCLUSÃO.....	78
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>79</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>81</b>
	<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>96</b>





## 1 INTRODUÇÃO, MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS

Devido à expansão da contaminação dos recursos hídricos, da qual o setor têxtil é responsável por uma significativa parcela, e à crescente preocupação da sociedade em conter estas degradações, se justifica a necessidade de tecnologias eficientes para tornar a água limpa a partir de um precursor poluído (BABU et al., 2019; HU et al., 2019a). Corantes são os principais componentes encontrados em efluentes de indústrias têxteis, principalmente corantes sintéticos que, em sua maioria, não são biodegradáveis e persistem no meio ambiente. Como consequência, os corantes têm um impacto significativo tanto na saúde humana como no ecossistema aquático, mesmo quando utilizados em baixas concentrações (GUARATINI; ZANONI, 2000). Diante disso, a remoção e tratamento de corantes têxteis presentes em águas residuárias constitui-se em uma grande preocupação da indústria têxtil, devido aos problemas que acarretam e à legislação vigente (MANJOT, TOOR; BO, 2012; PASCHOAL; TREMILIOSI-FILHO, 2005). Para Jegatheesan et al. (2016) a escolha de qual tratamento selecionar depende de algumas condições, tais como: processo de produção, quais produtos químicos são utilizados, características do efluente, padrão de descarte e opções de reutilização das águas residuais.

O Índigo Carmim (IC) é um dos corantes mais antigos e que ainda permanece envolvido em diferentes fins industriais, especialmente no tingimento de roupas (jeans azul) (OTHMAN; MOHAMED; IBRAHEM, 2007), pois é facilmente solúvel em água. Este corante pertence a classe dos indigoides, altamente tóxica, e seu toque leva a irritações da pele e dos olhos e em alguns casos até a lesão permanente da córnea (OLIVEIRA et al., 2020; SALGADO et al., 2009). Devido a estas características, o tratamento para remoção de IC do ambiente aquático é imprescindível (KATHERESAN; KANSEDO; LAU, 2018). Por consequência, inúmeros métodos para remoção de corante são testados e aplicados, por exemplo, coagulação/floculação (CHEN et al., 2020), separação por membrana (JANUÁRIO et al., 2020), eletrólise (WANG et al., 2013), ozonização (KOCH; YEDILER, 2002), fotocatalise (WAGHMODE et al., 2019). A adsorção é especialmente considerada a mais atraente e promissora dentre as técnicas para remover corantes de soluções aquosas, porque, apresenta algumas vantagens. Dentre estas, citam-se: facilidade de operação, baixo custo, eficácia em ampla faixa de pH, alto desempenho e possibilidade de reutilização do adsorvente (AHMAD et al., 2021; AHMED; BRICK; MOHAMED, 2017; KAMAL et al., 2015; KEKES; TZIA, 2020;

SZŐKE et al., 2019). Os adsorventes considerados eficientes devem ter características fundamentais, tais como, elevada área superficial e porosidade, garantindo melhor capacidade de adsorção e afinidade pelo adsorvato. Adicionalmente, o tempo necessário para que o sistema alcance o equilíbrio deve ser curto, propiciando a remoção do corante mais rapidamente. E, finalmente, o adsorvente deve ser eficaz em concentrações variáveis de corante, em uma ampla faixa de pH e temperatura (KATHERESAN; KANSEDO; LAU, 2018).

A celulose é o polímero natural mais abundante da Terra. A celulose bacteriana (CB) é secretada extracelularmente por bactérias como as do gênero *Komagataeibacter* (anteriormente *Gluconacetobacter*, *Acetobacter*) (ESA; TASIRIN; RAHMAN, 2014; MOHITE; PATIL, 2014b). A bactéria *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769 é uma bactéria Gram-negativa, não patogênica e estritamente aeróbica. CB possui estrutura molecular idêntica à celulose vegetal (CP), no entanto é obtida pura quimicamente (livre de lignina, hemicelulose e pectina) (JACEK et al., 2019; BARUD, 2010). A CB é composta por unidades de D-glicose conectadas por ligações  $\beta$ -1,4 glicosídicas e apresenta características marcantes, como, a alta cristalinidade, propriedades mecânicas, superfície altamente hidrofílica, biocompatibilidade e propriedades não-tóxicas, além de ser altamente porosa, o que qualifica este material para fins de adsorção (GALDINO et al., 2020; LIU; CATCHMARK, 2019; MOHITE; PATIL, 2014a).

Para obtenção da CB, existem duas formas de cultivo da cultura. O cultivo estático, onde a CB é sintetizada na forma de membrana na interface entre o meio de cultura e o ar, e o cultivo por agitação, no qual, a celulose é sintetizada na forma de fibras esféricas em suspensão e massas irregulares, pode ser controlada através das condições de cultura e da velocidade de agitação (BI et al., 2014; ZHU et al., 2011). Desse modo, estudos mais elaborados para síntese da CB produzida por *K. hansenii* na forma esférica e seus parâmetros como: meio de cultura, velocidade de agitação, volume do frasco, volume do meio inoculado e bactéria utilizada ainda não foram suficientemente compreendidos (MOHITE; PATIL, 2014a).

Portanto, o objetivo principal deste trabalho foi a produção de CB esférica, como adsorvente, para adsorção de corante IC. Para isso, primeiramente foi elaborado um planejamento fatorial completo, para produzir e caracterizar esferas de celulose bacteriana, sintetizadas pela bactéria *K. hansenii* ATCC 23769, em meio agitado, sob diferentes condições operacionais, investigando a influência das variáveis: concentração de inóculo e velocidade de agitação, na síntese das esferas de CB por *K. hansenii*. Seguidamente, as esferas selecionadas foram utilizadas para remover o corante IC em diferentes condições experimentais.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo geral estudar a formação de CB esférica em diferentes condições de cultivo e avaliar a capacidade deste material em adsorver corante índigo carmim de soluções aquosas. Desta forma, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Investigar os parâmetros para produção de CB em cultura agitada, concentração de inóculo e velocidade de agitação, a partir de um planejamento fatorial completo, especificamente um delineamento composto central rotacional (DCCR);
- Caracterizar as propriedades físicas e químicas da CB esférica, visando selecionar a mais adequada para sua utilização como adsorvente do corante IC;
- Avaliar as melhores condições do processo de adsorção para a remoção de IC, quanto a massa do adsorvente CB por volume de corante e velocidade de agitação, utilizando um planejamento fatorial completo DCCR.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

O objetivo deste tópico foi apresentar conceitos fundamentais para o entendimento da temática desta pesquisa.

### **2.1 INDÚSTRIA TÊXTIL**

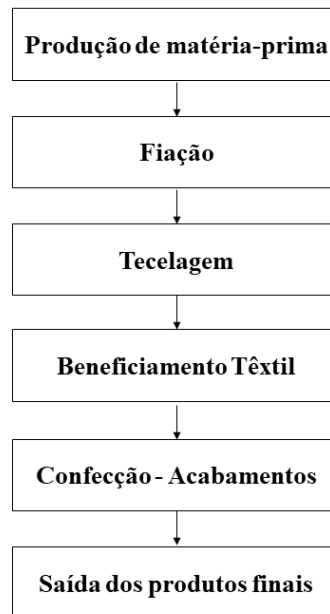
O setor têxtil representa um dos setores mais produtivos da economia brasileira. Segundo os dados da Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (2021), a maior cadeia têxtil do ocidente está no Brasil e no ano de 2019 empregou 1,5 milhões de pessoas diretamente e 8 milhões indiretamente, e, entre agosto de 2020 e agosto de 2021 registrou 102.658 empregos gerados. Atualmente, a China é o país que mais se destaca nesta indústria, de maneira que o continente asiático corresponde a 50% da produção de todo o mundo. No entanto, o setor têxtil brasileiro é altamente competitivo e assume a quinta posição de maior indústria têxtil mundial e a quarta de confecção (MACHADO; CANDEIA; FARIAS, 2019; ABIT 2021).

A indústria têxtil movimentava boa parte do cenário econômico no Brasil, porém, consome significativa parcela da água doce e insumos no ramo industrial. Como consequência, há geração e liberação de grandes volumes de resíduos sólidos e efluentes que são caracterizados por carregarem elementos das mais diversas composições, que vão desde fibras naturais facilmente degradáveis até efluentes altamente tóxicos causadores de impactos ambientais severos, principalmente devido a sua baixa degradabilidade e persistência no meio ambiente (AL-DEGS et al., 2000; GHALY et al., 2014).

#### **2.1.1 Processo de Produção Têxtil**

A cadeia de produção têxtil abrange diversas etapas conforme mostrado na Figura 1.

Figura 1 – Fluxograma da cadeia produtiva têxtil.



Fonte: Adaptado de Freitas (2002).

Na fase do beneficiamento, uma das etapas finais de produção, ocorre o tingimento do produto. O processo de tingimento é uma etapa importante na fabricação de têxteis. Nesta fase, corantes ou pigmentos são adicionados às fibras têxteis e outros produtos químicos podem ser usados para melhorar o processo de absorção entre a cor e as fibras. Todavia, todos os processos de tintura inclui como último processo lavagens em banhos correntes para retirada do excesso de corante original e acabamento final na cor do produto, contudo, é nesta fase de produção que ocorre o descarte excessivo de corantes (GUARATINI; ZANONI, 2000; YASEEN; SCHOLZ, 2019).

## 2.2 EFLUENTES TÊXTEIS E O MEIO AMBIENTE

Os itens de consumo básicos amplamente utilizados pela indústria têxtil são água, energia, vapor e produtos químicos/corantes. Enquanto nos processos úmidos há grande uso de água, os processos secos exigem grande consumo de energia. Devido ao uso excessivo destas fontes, nas águas residuais da indústria têxtil, há a descarga de contaminantes orgânicos, como os corantes e pigmentos (ADEL; AHMED; MOHAMED, 2021; OZTURK et al., 2015). Nas

fases de beneficiamento têxtil, em que se descolora e/ou se tingem o tecido, além de ser utilizada uma elevada quantidade de água se faz necessária uma significativa quantidade de produtos químicos, tais como corantes, metais pesados, ácidos, soda cáustica e carbonato de sódio (SOBREIRA, 2019; TOUNSADI et al., 2020).

A contaminação da água, de fato, é um fenômeno que chama a atenção de cientistas e pesquisadores; a água é afetada por diferentes atividades antrópicas e industriais. De acordo com a Resolução do CONAMA Nº 237, de 19 de dezembro de 1997, as indústrias têxteis, de vestuário, tecidos e calçados são enquadradas como potenciais poluidoras. Este fato acontece, pois, os efluentes descartados por esta classe industrial são de difícil degradação ao meio ambiente, consequência ligada diretamente ao uso de corantes. Além dos corantes, os principais poluentes incluem sólidos suspensos elevados (SS), demanda bioquímica e química de oxigênio (DBO e DQO), temperatura, cor, acidez, basicidade e outros contaminantes inorgânicos (ALDEGS et al., 2000; BABU et al., 2019).

Estima-se que de 5 até 20% do corante utilizado nos processos sejam perdidos no efluente, devido a sua fixação incompleta. As águas residuais, contendo corantes, produzem vários efeitos indesejáveis, pois mesmo em pequenas concentrações provocam poluição visual e alterações nos ciclos biológicos do meio aquático, principalmente nos processos de fotossíntese (FERNANDES et al., 2010; GUARATINI; ZANONI, 2000; KUNZ et al., 2002; OZTURK et al., 2015; PASCHOAL; TREMILIOSI-FILHO, 2005, PERUZZO, 2003).

De acordo com Ghaly e colaboradores (2014), aproximadamente 200 litros de água são aplicados para produzir 1 kg de matéria têxtil, quantidade necessária quando produtos químicos são aplicados nos tecidos e durante os processos em água corrente. Além disso, a remoção dos corantes presentes em sistemas aquáticos é de extrema importância, já que muitos destes corantes podem ser tóxicos, mutagênicos ou cancerígenos, acarretando em grande ameaça à saúde e ao meio ambiente (GHALY et al., 2014; SILVA et al., 2019; TOUNSADI et al., 2020). Para Freitas (2002) os efluentes gerados na cadeia de produção têxtil apresentam diferentes teores de contaminantes e variam de acordo com tipo de preparação, dificultando assim seu reuso. Durante anos a indústria têxtil se enquadrava como principal fonte de poluição das águas. Porém, com a vigência de legislações mais rigorosas e o aumento da preocupação popular com o meio ambiente, este cenário mudou, levando a um maior e melhor controle sobre contaminantes e montantes liberados pelas indústrias (BROADBENT, 2001). Diante do

exposto, se justifica a preocupação relacionada à descarga de efluentes têxteis no meio ambiente.

### 2.2.1 Corantes

Ao longo dos séculos, a arte, a expressão corporal e a tintura de tecidos ocorreram através do uso de corantes naturais de origem vegetal e animal. Porém, com o avanço das tecnologias e estudos sua utilização mudou em meados do século XIX, devido à descoberta e introdução de corantes sintéticos (KEIJZER et al., 2012).

Os corantes e pigmentos podem ser utilizados para diferentes fins, são substâncias químicas naturais ou sintéticas de origem orgânica ou inorgânica. Pigmentos são insolúveis no meio em que são aplicados e os corantes são solúveis. O que também difere corantes de pigmentos é o modo de aplicação no substrato, pois para os pigmentos se faz necessária a incorporação deste ao substrato a partir da adição de um composto como, por exemplo, um polímero em tintas ou plásticos. Para a aplicação de corantes em substratos, como tecidos, não há a necessidade de adição de nenhum composto, apenas seu uso direto incorporado ao meio líquido. Ressalta-se a fácil solubilidade dos corantes. Por consequência, embora os corantes sejam utilizados para diversos fins em outros setores industriais, é no setor têxtil que ocorre o uso em maior quantidade (ZANONI; YAMANAKA, 2016).

A escala e o crescimento da indústria de tingimento estão amplamente ligados à indústria têxtil. Por volta de 7,5 milhões de toneladas de corantes são produzidos todos os anos no mundo e cerca de 280.000 toneladas de tintas têxteis são descarregadas em corpos d'água a partir de efluentes têxteis (ASGHAR; RAMAN; DAUD, 2015).

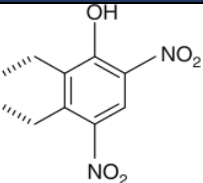
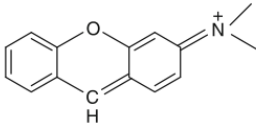
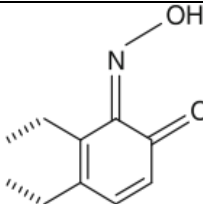
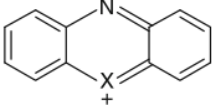
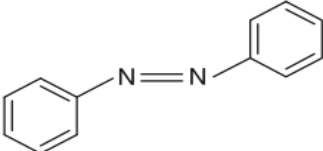
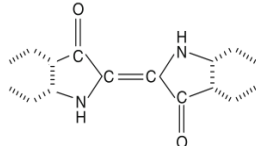
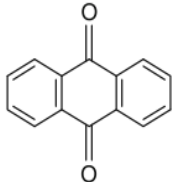
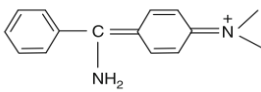
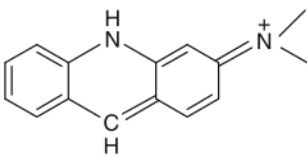
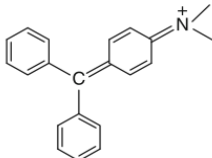
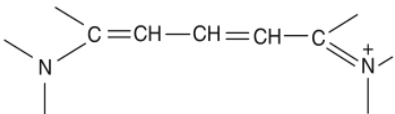
#### 2.2.1.1 Classificação dos corantes

Segundo Cardoso (2012), a classificação dos corantes têxteis pode ser dividida em dois grandes grupos. Corantes naturais: que podem ser obtidos de diversas fontes vegetais (porém apenas algumas produzem corantes comercialmente viáveis), e corantes sintéticos criados a partir de produtos químicos em laboratório, que demonstram várias vantagens em relação aos corantes naturais para fins de uso na indústria alimentícia, de papel e têxtil (ARVAND et al., 2017). Guaratini e Zanoni (2000) destacam a classificação dos corantes pelo modo ao qual eles

se fixam à fibra, sendo dividida em corantes ácidos, básicos, diretos, dispersivos, pré-metalizados, sulfúricos, à cuba, azoicos e reativos. A forma ao qual se fixa a molécula do corante a essas fibras geralmente acontece em soluções aquosas e pode envolver basicamente quatro tipos de interações: ligações iônicas, de hidrogênio, de Van der Waals e covalentes.

Para Zanoni e Yamanaka (2016) a forma mais adequada de classificar os corantes é pela sua estrutura química ou grupo cromógrafo. O grupo cromógrafo é um grupo funcional que possui absorção na região visível do espectro e, portanto, é responsável pela cor que é observada. No Quadro 1 pode ser observada a classificação de acordo com a estrutura química do corante.

Quadro 1 – Classificação dos corantes de acordo com sua estrutura química.

Grupo cromógrafo	Estrutura	Grupo cromógrafo	Estrutura
Nitro		Xantenos	
Nitroso		Quinoneíminas	
Azo		Indigoides	
Antraquinonas		Difenilmetanos	
Acridinas		Trifenilmetanos	
Cianinas			

Fonte: Adaptado de Erkurt (2010).



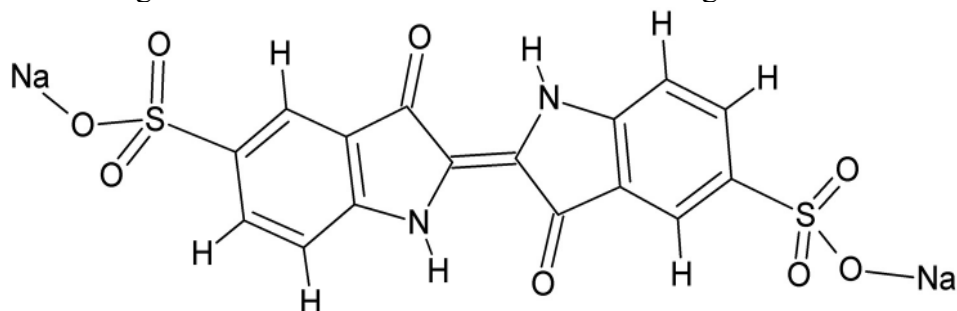
### 2.2.1.2 Corantes indigoides

Os corantes indigoides são os de maior uso na indústria têxtil, com aplicações também na indústria de papel e celulose e indústria alimentícia. Estes possuem uma estrutura molecular complexa, o que os torna mais estáveis quimicamente e mais resistente aos processos de biodegradação e de remoção mais comumente utilizados para tratamento de efluentes. Corantes indigoides são também conhecidos como corantes Vat, pela forma como se dá o processo de tingimento, pois para sua fixação se faz necessária uma reação de redução, o tornando solúvel, incorporando ditionito de sódio, de maneira que, após essa reação, a solução apresenta cor amarela. Após o tingimento e exposição ao ar a forma leuco é então oxidada, retornando a estrutura Vat com cor azul inicial fixada à fibra. Por consequência, são estruturas mais resistentes aos processos de biodegradação e de remoção mais comumente utilizados para tratamento de efluentes (CHAVES et al., 2008; ZANONI; YAMANAKA, 2016).

### 2.2.1.3 Índigo Carmim

O (IC) é um corante sulfonado derivado do índigo, utilizado para inúmeros fins nas indústrias alimentícia, farmacêutica (MITTAL; MITTAL; KURUP, 2007) e principalmente de têxteis para jeans (ARENAS et al., 2017). IC é também conhecido como ácido azul 74 e sal Carmim sódico do ácido 5,5'- indigodissulfônico. A molécula compreende dois grupos sulfonato negativamente carregados associados a dois anéis de benzeno (HUY et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2020). Sua estrutura molecular é mostrada na Figura 2.

Figura 2 – Estrutura molecular do corante índigo carmim.



Fonte: Adaptado Keijzer et al. (2012).

IC é um corante sintético recalcitrante clássico com fórmula molecular  $C_{16}H_8O_8N_2S_2Na_2$  e solubilidade de  $10 \text{ g.L}^{-1}$ . Amplamente empregado para coloração/tingimento na indústria têxtil e em outras indústrias, devido às suas características, principalmente pela boa fixação. Este corante apresenta baixa biodegradabilidade e a sua remoção dos efluentes exige tratamentos complexos. Torna-se um poluente grave em ambientes aquáticos, pois impede a fotossíntese de plantas e algas aquáticas (KEIJZER et al., 2012; WAGH; SHRIVASTAVA, 2015). O corante IC pode causar aos seres humanos irritação nos olhos, coceira ou até mesmo danos permanentes à córnea. Devido a sua natureza cancerígena, em contato direto, pode levar ao surgimento de tumores. Quando administrado por via intravenosa, para determinar a potência do sistema coletor urinário, também foi relatado que causa hipertensão leve a grave, efeitos cardiovasculares e respiratórios em pacientes. Na literatura também há relatos de pessoas que demonstram sensibilidade ou alergia a alimentos que contêm corantes da classe azo (em tartrazina e amaranço) e classe indigóide (IC) (AHMAD et al., 2021).

Por consequências dos seus danos à saúde humana e aos ecossistemas, muitos estudos foram realizados para remover IC de águas residuais. Diante disto, se faz necessária a remoção desse corante efetivamente, sendo o tratamento fundamental para manter a saúde humana e o meio ambiente adequados (ABDELRAHMAN; HEGAZEY; EL-AZABAWY, 2019; BABU et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020; SILVA et al., 2019).

### **2.2.2 Tratamento de efluentes têxteis**

A seleção do processo de tratamento de efluentes é uma tarefa complexa que envolve a consideração de muitos fatores tais como: espaço disponível para a construção de instalações de tratamento, confiabilidade dos equipamentos do processo, restrições de disposição de resíduos, qualidade desejada da água acabada e custos de capital e operacionais. O tratamento de águas para torná-las adequadas para uso posterior requer processos físicos, químicos e biológicos (BHATNAGAR; SILLANPÄÄ, 2010). Para Freire et al. (2000) na maior parte dos tratamentos, inicialmente, é utilizado um processo físico-químico (adsorção, coagulação e/ou precipitação) e posteriormente um tratamento biológico com lodo ativado. Muitas técnicas para tratamento de águas residuais são relatadas na literatura, sendo elas: adsorção (MA et al., 2019), filtração (YIN et al., 2020b), coagulação química (ARAGAW, 2020), sistema bioeletroquímico

(CUI et al., 2020), etc. Estes processos são custosos e empregam muitas vezes reagentes não biodegradáveis, o que dificulta ainda mais o tratamento (HU et al., 2019a; LU et al., 2014; ZHANG et al., 2019).

Atualmente, os adsorventes mais utilizados são aqueles à base de carvão ativado; porém, são relativamente caros. Assim, diversas pesquisas são voltadas para desenvolver novas formas sustentáveis e eficientes para o processo de adsorção (JIANG; HU, 2019; SALAMA; ALJOHANI; SHOUAIR, 2018; SILVA et al., 2019). Guaratini e Zanoni (2000) destacam que:

O investimento na procura por metodologias para tratamentos de efluentes cada vez mais eficazes na porta de saída da indústria, quando a caracterização e quantificação do poluente é facilitada, pode ser muito menor do que aquele gasto em tratamentos terciários para remoção destes produtos em baixo nível de concentração e na presença de inúmeros outros interferentes. Para tal é necessário que a relação custo/benefício seja revista e o desenvolvimento de novas técnicas de tratamento de efluentes capazes de efetiva remoção desses corantes seja intensificado e tornado viável economicamente (GUARATINI; ZANONI, 2000, p. 78).

Para Almeida, Dilarri e Corso (2016), dentre os diversos tratamentos utilizados para efluentes, ainda assim, nenhum se apresenta eficaz e de baixo custo, o que necessita a associação de várias técnicas, a qual se justificam maiores estudos para esta viabilização.

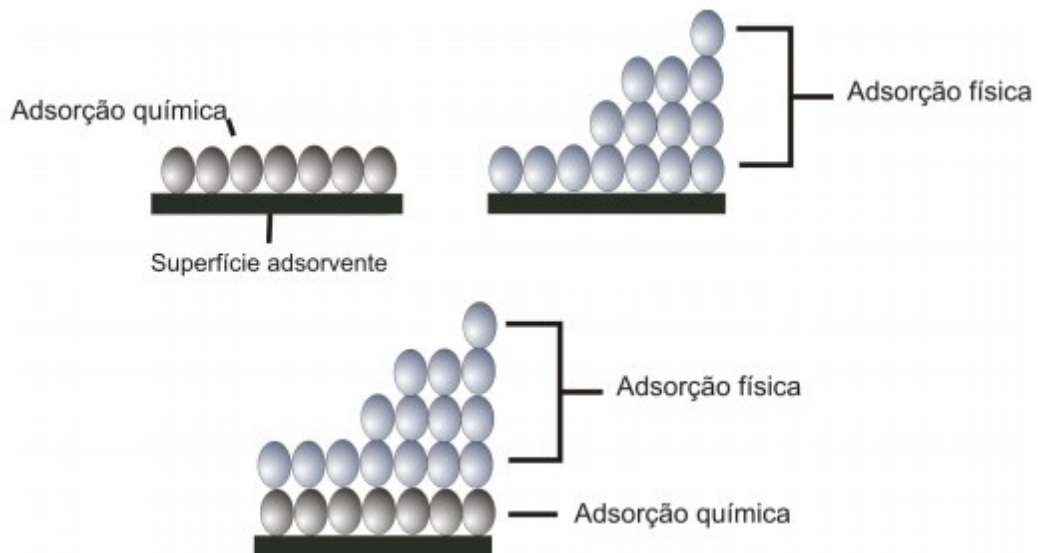
### 2.3 ADSORÇÃO

De acordo com Ruthven (1984), o processo de adsorção ocorre através da transferência de um componente de uma fase fluida para a superfície de um sólido adsorvente. Determinados sólidos têm a facilidade de concentrar na sua superfície algumas substâncias dissolvidas existentes em fluidos líquidos ou gasosos, possibilitando assim a separação. A transferência da espécie da fase fluida para a superfície do sólido depende diretamente do equilíbrio fluido-sólido e da taxa de massa transferida. Os elementos adsorvidos ficam concentrados na superfície do adsorvente. Desta forma, quanto maior for a superfície por unidade de massa sólida, mais promissor será o processo (McCABE et al., 1993).

Os átomos da superfície do adsorvente têm uma posição incomum em relação aos átomos do interior do sólido, devido ao número de coordenação ser inferior ao de átomos internos. Desse modo, átomos da superfície apresentam uma força resultante para dentro que

deve ser balanceada, ou seja, na direção normal à superfície, o campo dos elementos da rede não está balanceado, assim as moléculas adsorvidas sobre uma superfície são mantidas por forças que provêm desta superfície. A tendência a neutralizar este tipo de ação gera uma energia superficial, a qual é responsável pelos fenômenos de adsorção, que podem ocorrer em uma única camada de moléculas ou em diversas camadas (CIOLA, 1981). Quanto maior for esta superfície externa por unidade de massa sólida, chamada área superficial, mais favorável será o processo de adsorção. Por conta disso, os adsorventes mais utilizados são sólidos e apresentam alta porosidade (ADEGOKE; BELLO, 2015; GUPTA; GUPTA; KHATRI, 2019; TAN et al., 2015; ZHANG; LIU, 2013). O elemento que se acumula na interface do material é denominado de adsorvato; e a superfície sólida na qual o adsorvato se acumula, de adsorvente. O processo de adsorção pode ocorrer de duas formas, dependendo da interação entre as moléculas do meio fluido e as do sólido, sendo adsorção física (fisissorção) e adsorção química (quimissorção) conforme Figura 3 (RUTHVEN, 1984).

Figura 3 – Representação esquemática para a formação de camadas de adsorvato na adsorção por quimissorção e/ou fisissorção.



Fonte: Guimarães (2015).

Na adsorção física não há a formação de ligações químicas, os efeitos atrativos que ocorrem entre o substrato e o adsorvato são provenientes de interações do tipo Van der Waals. O elemento adsorvido não penetra dentro da estrutura da partícula do sólido e não se dissolve nele. Na adsorção química, a substância adsorvida reage com a superfície do adsorvente

ocorrendo a formação de ligações químicas entre o adsorvente e o adsorvato, que podem ser de natureza iônica e/ou covalente. Na adsorção física, assim como na adsorção química, o processo é exotérmico, sua entalpia pode ser medida por meio do monitoramento do aumento da temperatura de uma amostra de capacidade calorífica conhecida. Valores típicos para a entalpia na adsorção física estão na região de 20 kJ.mol<sup>-1</sup>. Essa pequena mudança na entalpia é insuficiente para levar à quebra de ligações químicas; conseqüentemente, a molécula adsorvida não perde sua identidade, e, na dessorção retorna à fase fluida na sua forma original. Portanto, na fisissorção o processo é reversível e o equilíbrio é atingido mais rapidamente do que na quimissorção, não possuindo energia de ativação (AIROLDI; FARIAS, 2000; FURLAN, 2008; GUIMARÃES, 2015).

De acordo com Ruthven (1984), as principais características da adsorção física e química são mostradas no Quadro 2.

Quadro 2 – Diferenças entre adsorção física e química.

Adsorção Física	Adsorção Química
Baixo calor de adsorção	Alto calor de adsorção
Formação de monocamada ou multicamada. Não há dissociação das espécies adsorvidas, somente significativa a baixas temperaturas.	Somente formação de monocamada. Pode envolver dissociação das espécies adsorvidas. Possível em uma larga escala de temperatura.
Rápida, não ativada, reversível. Não há transferência de elétrons embora possa haver polarização do adsorvato.	Ativada, pode ser lenta e irreversível. Ocorre a transferência ou o compartilhamento de elétrons, formando uma ligação entre o adsorvato e o adsorvente.

Fonte: Adaptado de Ruthven (1984).

A adsorção é um método simples, fácil e econômico para a remoção eficiente de elementos presentes em águas residuais. Uma outra grande vantagem da adsorção é que ela pode realizar a separação no nível microscópico, o que não é possível com outras técnicas

convencionais. A adsorção em superfície sólida está aumentando o interesse no tratamento de águas residuais e é considerada um método eficiente, considerando seu baixo custo de investimento, operação simples e a capacidade de atingir diferentes poluentes (ABDELRAHMAN; HEGAZEY; EL-AZABAWY, 2019; KAMAL et al., 2015; LIU et al., 2019; SIYAL et al., 2019).

Ahmaruzzaman (2008) salienta que o uso de biomassa para tratamento de águas residuais está em crescente desenvolvimento devido à sua disponibilidade a baixo preço. A biomassa microbiana é produzida em diferentes cultivos para sintetizar produtos valiosos, como antibióticos e enzimas. Nesses processos, é gerada uma grande quantidade de subprodutos, que podem ser utilizados na bioadsorção de poluentes. A biomassa tem um alto potencial como adsorvente devido às suas características físico-químicas.

## 2.4 ADSORVENTES

Adsorventes são elementos com capacidade de retenção de diferentes adsorvatos. O carvão ativado é o adsorvente atualmente mais empregado na indústria têxtil. Porém, seu uso apresenta uma grande desvantagem pois sua preparação permanece cara e sua regeneração é dificultosa, especialmente no caso do carvão ativado em pó (AICHOOR et al., 2019).

Diferentes adsorventes são utilizados para remoção de corantes. No Quadro 3 alguns podem ser destacados por apresentarem alta capacidade de adsorção, como nano cristais de celulose modificados com queratina (SONG et al., 2017), e compósitos de celulose bacteriana e Ca-montmorillonita (HU et al., 2019b).

Quadro 3 – Adsorventes utilizados no processo de adsorção de corantes.

Referência	Corante adsorvido	Adsorvente	Capacidade de adsorção (mg.g <sup>-1</sup> )
(HU et al., 2019b)	Águas residuais contendo corantes: azul de metileno (MB) e tetraciclina (TC).	Compósitos de celulose bacteriana e Ca-montmorillonita (Ca-MMT)	TC: 230,5 MB: 338,8
(DENIZ; KARAMAN, 2011)	Corante Amarelo ácido - 220	Folhas de pinheiro	40
(HUANG et al., 2018)	Laranja de metila (MO)	CB - Magnética nanoestruturada amino-funcionalizada (AMBCAC)	83,26
(SONG et al., 2017)	Corante reativo preto (5) e vermelho (80)	Nano cristais de celulose – modificados com queratina	Vermelho (80): 1.070 Corante reativo preto (5): 1.201
(HAMEED; DIN; AHMAD, 2007)	Azul de metileno	Carvão ativado à base de bambu	54,2

Fonte: Autora (2021).

A adsorção depende de diferentes fatores, destes, destacam-se: a natureza do adsorvente, o adsorvato e as condições operacionais. As características do adsorvente também devem ser analisadas, como a área superficial, porosidade, densidade, grupos funcionais presentes na superfície e a hidrofobicidade do material. Em contrapartida as propriedades do adsorvato dependem da polaridade, tamanho molecular, solubilidade e acidez ou alcalinidade. As condições de operação incluem principalmente temperatura, valor de pH e propriedades do adsorvente (CUNHA et al., 2009).

Hines e Maddox (1985) afirmam que os adsorventes que apresentam porosidades maiores quando comparados a outros são interessantes para aplicações industriais, pois, em apenas uma unidade de área superficial, uma grande quantidade de adsorvato pode ser retirada do meio fluido; logo, com grandes superfícies interfaciais mais facilmente o processo ocorrerá. Surge então como uma alternativa o uso de outros tipos de adsorventes, tais como os biopolímeros, entre eles a celulose, a qual pode ser de origem vegetal (CP) ou bacteriana (CB).

Vários adsorventes com alta capacidade de adsorção, como nanopartículas de alumina, materiais mesoporosos de sílica e adsorventes de celulose, têm sido investigados nos últimos anos. Os adsorventes a base de celulose têm atraído cada vez mais atenção porque são biodegradáveis, renováveis, baratos, biocompatíveis, ecologicamente corretos e altamente estáveis na presença da maioria dos solventes orgânicos (LIU et al., 2020). Tonetto (2018) ao utilizar CB para adsorção de IC observou boa afinidade por este corante, apesar da dose de CB utilizada ter sido de apenas  $0,00082 \text{ g.mL}^{-1}$  para concentrações iniciais de IC de  $25 \text{ mg.L}^{-1}$ , apresentou uma porcentagem de remoção de 27,4 % e capacidade de adsorção é  $7,71 \text{ mg.g}^{-1}$ . Estudos isotérmicos, cinéticos e termodinâmicos foram efetuados nesse trabalho.

Para Zhu e colaboradores (2011) há uma significativa vantagem em usar a CB em forma esférica pois sua área de superfície específica aumenta com a diminuição do diâmetro esférico, de modo que pode ser usada como um transportador para adsorver ou reticular vários tipos de substâncias.

## 2.5 CELULOSE BACTERIANA

Celulose  $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$  é um polissacarídeo linear, principal constituinte da parede celular das plantas e o material biodegradável mais abundante na natureza. A celulose pode ser sintetizada extracelularmente por vários organismos, tais como como algas (*Vallonia*) e bactérias (*Acetobacter*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Alcaligenes*, *Zoogloea*) (FINK; SELLBORN; KRETTEK, 2012; KLEMM et al., 2001 ; KLEMM et al., 2005) Brown (1886a) relatou a produção de celulose por bactérias durante a fermentação de vinagre, onde foi verificada a formação de uma superfície gelatinosa, sendo essa bactéria denominada *Acetobacter xylinum*.

Tem sido reportada a produção de CB pela bactéria *Komagataeibacter hansenii*, anteriormente denominada *Acetobacter xylinum* (GALDINO et al., 2020; JACEK et al., 2019; LIU; CATCHMARK, 2019). *K. hansenii* é uma bactéria gram-negativa, não patogênica, exclusivamente aeróbica, que secreta celulose em fitas compostas de microfibrilas organizadas formando membranas, podendo ser encontradas em frutas, vegetais, vinagre e em bebidas alcoólicas (KLEMM et al., 2005). Estas bactérias são capazes de formar uma membrana de



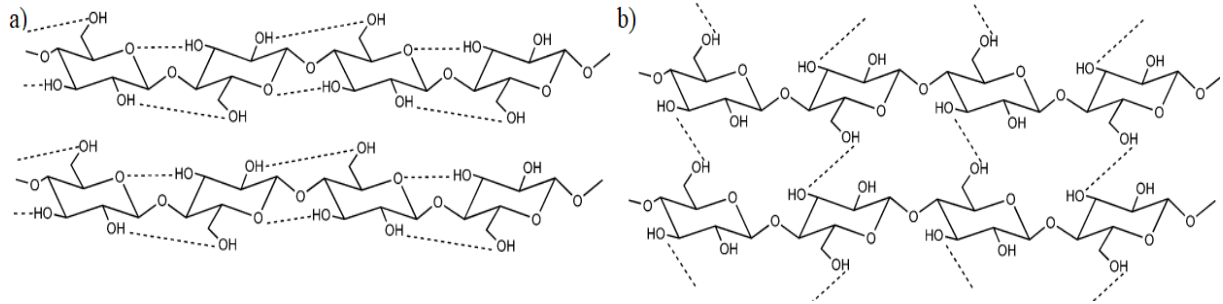
celulose na interface entre o ar e o líquido, quando o cultivo ocorre em meio estático, e de formar esferas, quando em meio agitado (MOHITE; PATIL, 2014b).

Embora a CB seja idêntica em composição química à celulose vegetal, quando comparadas a CB apresenta propriedades que a diferenciam, por exemplo, cristalinidade (60-80%), porosidade, capacidade de retenção de água, resistência à tração, biocompatibilidade e degradabilidade biológica, além de possuir maior pureza química, por estar livre de lignina e hemicelulose, propriedades as quais justificam o interesse para distintos processos (DAYAL; CATCHMARK, 2016). A CB mostra-se como uma alternativa viável para o tratamento de águas residuais devido as suas características: resistência a tração e alta capacidade de adsorção, já que apresenta baixa densidade e uma grande superfície reativa de grupos laterais -OH que facilitam a adsorção de espécies químicas, além de área superficial elevada, porosidade e biodegradabilidade (CASABURI et al., 2018; CHEN et al., 2019; SONG et al., 2017). CB pode ser produzida em cultura estática ou agitada, sendo que a cultura agitada proporciona uma melhor produção de CB por melhoria nas condições culturais. Muitos pesquisadores sugeriram a cultura agitada como a mais econômica para a produção de CB em massa, sendo por isso necessário estudar as propriedades das condições de agitação da CB (MENG et al., 2019; MOHITE; PATIL, 2014b).

### **2.5.1 Estrutura da Celulose Bacteriana**

A estrutura molecular da CB pode ser verificada na Figura 4, apresenta ligações de hidrogênio intramolecular e intermolecular com fórmula molecular  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , que consiste em moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1-4) com cerca de 98% de fibras celulósicas (AHMED; GULTEKINOGLU; EDIRISINGHE, 2020; ROY, 2009).

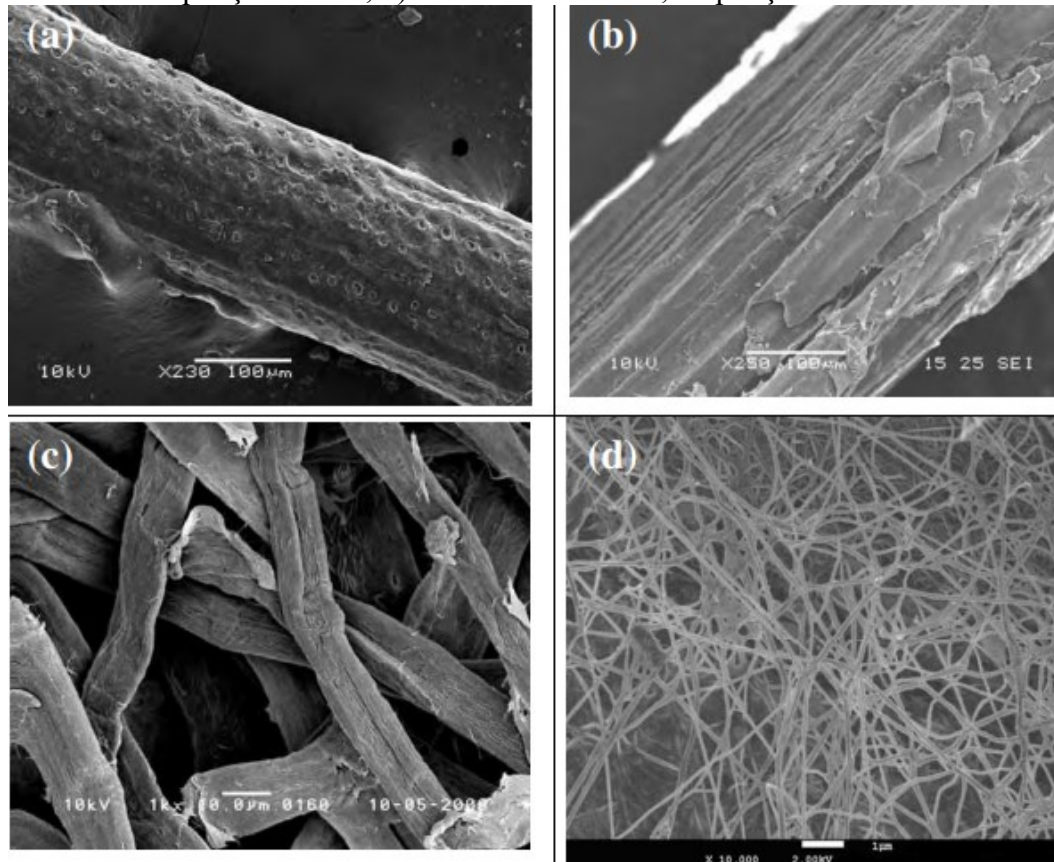
Figura 4 – Ligações de hidrogênio em cadeias de celulose: a) Ligação de hidrogênio intramolecular em cadeias de celulose b) Ligação de hidrogênio intermolecular em cadeias de celulose.



Fonte: Adaptado de Roy (2009).

A rede fibrosa da CB é composta por nanofibras tridimensionais bem-organizadas, resultando na formação de folha de hidrogel com alta área superficial e porosidade. No processo de síntese da CB, as primeiras cadeias se agregam para formar longas subfibrilas, e estas são posteriormente cristalizadas em microfibrilas e depois formam feixes de microfibrilas, as quais são ultrafinas (ESA; TASIRIN; RAHMAN, 2014). As funções biológicas e as numerosas aplicações da celulose estão baseadas na morfologia das fibras, estas são hierarquicamente formadas por fibrilas elementares, microfibrilas e feixes de microfibras ou microfibras. A estrutura lateral dessas unidades apresenta medidas entre 1,5 e 3,5 nm (fibras elementares), entre 10 e 30 nm (microfibrilas) e da ordem de 100 nm (fibras). A Figura 5 apresenta imagens obtidas por MEV das estruturas fibrilares de diferentes fontes de celulose. As imagens demonstram diferentes magnificações devido a diferença no tamanho e na espessura das fibras de celulose nas diversas fontes. A Figura 5 (d) mostra que o diâmetro das fibras da celulose bacteriana é cem vezes menor quando comparada à celulose de plantas (BARUD, 2010).

Figura 5 – Microscopia Eletrônica de Varredura de diferentes fontes de celulose: a) fibra de coco, ampliação 230×; b) fibra de sisal, ampliação 250×; c) celulose extraída de plantas, ampliação 1000×; d) celulose bacteriana, ampliação 10000×.



Fonte: Barud (2010).

A CB apresenta elevado grau de polimerização, geralmente em torno de 2000 a 6000. As ligações de hidrogênio inter e intramoleculares (Figura 4) mantêm as cadeias de CB unidas, conferindo a ela suas características únicas (ESA; TASIRIN; RAHMAN, 2014; ION; PÂRVULESCU, 2015; LIMA et al., 2015). Já em relação a sua morfologia, o diâmetro das fibras da celulose bacteriana é de 1/100 quando comparada à celulose vegetal. CB também apresenta resistência à tração e módulo de Young elevado (15-30 GPa) mais rígido que a celulose vegetal (5,5 – 12,6 GPa), possui maior capacidade de retenção de água, chegando até 100 vezes seu próprio peso. Bactérias produtoras de celulose convertem a glicose a celulose como parte do seu metabolismo. A glicose é tanto a fonte de energia para o metabolismo da bactéria, quanto a molécula precursora da síntese da CB (ANTÔNIO et al., 2012; CAZÓN; VELAZQUEZ; VÁZQUEZ, 2020; BARUD, 2006).

### **2.5.2 Produção de CB**

Atualmente, é possível produzir materiais de CB em vários formatos, moldando-os em recipientes tridimensionais durante as vitroculturas (SUN et al., 2020). A produção de CB pode ser realizada em condições estática e agitada. No cultivo estático, há baixa disponibilidade de oxigênio dissolvido (OD), sendo obtida uma película gelatinosa de CB flutuando no topo do meio de cultura, na interface ar-líquido, que possui uma superfície mais densa no lado exposto ao ar. A película CB densa e flutuante impede a transferência de oxigênio para o meio de cultura (TIAN et al., 2018). Conforme o Quadro 4 o tamanho das partículas CB esférica pode variar com distintos parâmetros de produção.

Quadro 4 – Produção de CB esférica.

Referência	Microrganismo	Fonte de carbono	Inóculo (%)	Velocidade (rpm)	Tempo	Tamanho partículas
(CZAJA; ROMANOVICZ; BROWN, 2004)	<i>A. xylinum</i>	.	0,1	90-250	7 dias	5 mm
(KAMAL et al., 2019)	<i>G. xylinum</i>	Glicose	.	.	.	.
(MENG et al., 2019)	<i>A. xylinum</i>	Frutose	.	125, 150, 200	5 dias	(2-10) mm
(BI et al., 2014)	<i>G. entanii.</i> <i>Komagataeibacter nataicola</i>	D-glicose	.	130	7 dias	(5–10) mm
(ZHU et al., 2011)	<i>G. xylinum</i>	.	5	0, 100, 130, 160, 190 e 220	3 dias	(3-5) mm
(PUTRA et al., 2008)	<i>A. xylinum</i>	Glicose	.	.	7 dias	< 8 mm
(MOHITE; PATIL, 2014a)	<i>G. hansenii</i>	Glicose	.	120	5 dias	(3-5) mm
(HU; CATCHMARK; VOGLER, 2013)	<i>G. xylinum</i>	Glicose	Inóculos (1 - 16)	125 e 150	2 dias	(5-22) mm
(SINGHSA; NARAIN; MANUSPIYA, 2018)	<i>K. xylinus</i>	Glicose Frutose	5	.	7 dias	(5–20) mm
(TONETTO, 2021)	<i>K. hansenii</i>	Manitol	2	115	5 dias	(3,87 – 4,15) mm

Fonte: Autora (2021).

Czaja, Romanovicz e Brown (2004) verificaram que a fita de celulose era produzida apenas na superfície de celuloses do tipo esfera, e o crescimento das esferas era determinado pela força de cisalhamento contínua durante o processo de agitação, no qual se entrelaçavam uma na outra. Singhsa, Narain e Manuspiya (2018) relataram que com a agitação a porosidade foi maior comparada a produção de forma estática. Putra et al. (2008) relataram uma técnica

simples para obter o gel de CB tubular. Estes autores, a partir de variação de parâmetros de cultivo, conseguiram a síntese com o comprimento, diâmetro e espessura desejados.

Pesquisadores sugerem que a força de cisalhamento durante a agitação é o principal fator para forçar as fitas de celulose a se entrelaçarem e formarem as esferas de celulose. Alguns estudos mostraram que certos parâmetros de cultura, como velocidade de agitação, tempo e volume do frasco durante a cultura agitada, têm uma influência considerável no formato das partículas de celulose bacteriana (MENG et al., 2019).

A composição, morfologia, produção e propriedades da CB são influenciadas pelo meio de cultura bacteriano, pelas condições operacionais de cultura (pH, temperatura, disponibilidade de oxigênio, tempo de incubação), pelo tratamento pós-síntese e pela espécie utilizada (WANG; TAVAKOLI; TANG, 2019). Para Brandes (2017), a CB produzida em meio agitado forma esferas com menor resistência mecânica do que a CB produzida em meio estático. Porém, algumas propriedades da CB pura são melhoradas. Ao longo da produção ou cultivo, ocorre a redução de pH, sendo este um resultado do metabolismo respiratório das bactérias do gênero *Komagataeibacter*. Embora o pH ótimo para a produção de CB dependa da cepa utilizada, maiores rendimentos são observados quando o pH varia entre 4,0 e 6,0, uma vez que valores abaixo desse intervalo dificultam o crescimento da bactéria e levam a uma redução na produtividade de CB (SILVA, 2019).

## 2.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Com os inúmeros avanços recentes da ciência e química analítica, o uso de ferramentas para auxiliar a obtenção de dados a partir de experimentos se tornou mais comum. Para Neto, Scarminio e Bruns (2001) a utilização do planejamento fatorial e a superfície de resposta exploram as condições experimentais do sistema para realizar o mínimo de experimentos possíveis, portanto, mostra as suas contribuições de forma mútua. Quando o planejamento de experimentos não é utilizado de forma apropriada, o seu resultado muitas vezes é uma montanha de números estéreis, da qual não seria possível tirar conclusões. Os experimentos são usados, basicamente, para melhorar as características de qualidade dos produtos ou do processo de fabricação, reduzindo o número de testes, quantidade de reagentes e otimizando o uso de recursos, tais como: materiais, tempo da equipe e disponibilidade de equipamentos (MONTGOMERY, 1991).

Neto, Scarminio e Bruns (2001) relatam que com o uso do planejamento experimental se faz possível alterar todos os parâmetros da reação e ao mesmo tempo obter uma resposta a partir de um gráfico, desta forma, é possível verificar a influência dos parâmetros, se funcionam sozinhos ou interferem entre si. Os gráficos também podem ser alterados e mostrar se um parâmetro em si afeta na variável de resposta.

Para Button (2001) o uso do planejamento de experimentos também abrange outros objetivos, tais como: identificar as variáveis (fatores de controle) do processo que mais influenciam na resposta; atribuir valores às variáveis influentes do processo para diminuir a variação da resposta a qual se deseja obter e, por fim, atribuir valores às variáveis influentes do processo de modo que o efeito das variáveis não controláveis seja reduzido.

Também para Button (2001), o uso do planejamento fatorial é indicado como primeiro passo para o procedimento experimental quando for necessário definir os fatores mais importantes e estudar a influência na resposta. O primeiro passo para o desenvolvimento do planejamento fatorial é escolher quais parâmetros serão analisados e depois quantas vezes cada parâmetro será variado. Um dos modelos mais comuns é o planejamento fatorial com dois níveis, ou seja, com dois parâmetros, representado por:  $2^k$ , onde  $k$  representa o número de vezes que os dois parâmetros serão variados (NETO; SCARMINIO e BRUNS, 2001). Vieira e Hoffmann (1989) recomendam a realização de um delineamento composto central (DCC) em triplicata no ponto central, a fim de que se produzam dados informativos em toda a região de interesse. Ademais, recomenda-se que os experimentos sejam aleatórios para evitar erros sistemáticos (VIEIRA e HOFFMANN, 1989).

Para planejar experimentos, na maioria dos casos, são codificados dois níveis, onde se utiliza o símbolo (+) para indicar o valor máximo da variável e o símbolo (-) para indicar o valor mínimo. Esta codificação de fator pode modelar o plano na forma de uma matriz. Em contraste, os símbolos (+) e (-) nessas tabelas são organizados e particularmente úteis quando se estuda dois fatores juntos (MOREIRA, 2009).

## 2.7 LEGISLAÇÃO PERTINENTE A EFLUENTES TÊXTEIS

A Lei 6.938, que dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 1981), conceitua a poluição como:

A degradação da qualidade ambiental resultante de atividades que direta ou indiretamente:

- a) Prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população;
- b) Criem condições adversas às atividades sociais e econômicas;
- c) Afetem desfavoravelmente a biota;
- d) Afetem as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente;
- e) Lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos.

Em janeiro de 1997, entrou em vigor a Lei nº 9.433/1997, regulamentada pelo decreto nº 50.877, da Constituição Federal (CF) juntamente com o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 357 de 25 de abril de 2005 também conhecida como Lei das Águas, a qual aborda que a água passa a ser considerada um bem de domínio público e um recurso natural limitado, dotado de um valor econômico. Segundo a mesma resolução do CONAMA, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água, há diretrizes para enquadramento e estabelece os padrões para lançamento de efluentes. O parâmetro cor não é estabelecido, porém a Resolução estabelece que não poderão ocorrer alterações visíveis no corpo da água. Os padrões de lançamento de efluentes podem ser verificados na Resolução do CONAMA nº 430 de 13/05/2011.

Desta forma, os efluentes têxteis só podem ser descartados nos corpos hídricos quando devidamente tratados conforme a lei 9.433/1997, regulamentada pelo Decreto nº 50.877, da constituição Federal Brasileira, e CONAMA nº 357, de 25 de abril de 2005 e CONAMA nº 430 de 13/05/2011.

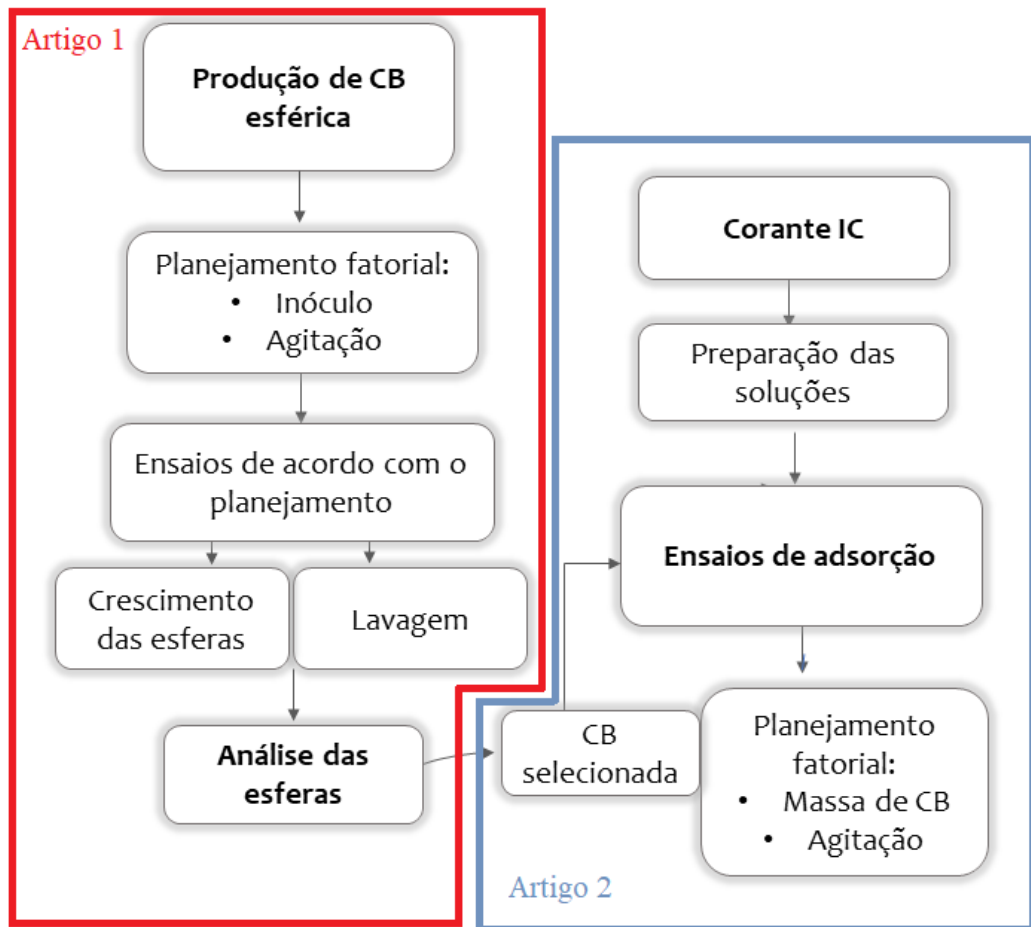


### 3 LAYOUT DA PESQUISA

Para cumprir os objetivos propostos, o presente trabalho foi conduzido nos Laboratórios: Processos Bioquímicos e Biotecnológicos Inovadores na Produção de Energia (PROBIOTEC) e Laboratório de Efluentes e Toxicologia (LABEFLUTOX), ambos pertencentes ao Centro de Tecnologia e Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) Campus Araranguá. A Figura 6 ilustra de forma esquemática as etapas desenvolvidas neste estudo e os artigos elaborados a partir da sua realização, que incluem a metodologia e a discussão dos resultados.

- ❖ **Artigo 1** - Optimization of processing parameters for the synthesis of spherical bacterial cellulose.
  
- ❖ **Artigo 2** - Remoção de índigo carmim por adsorção utilizando celulose bacteriana esférica.

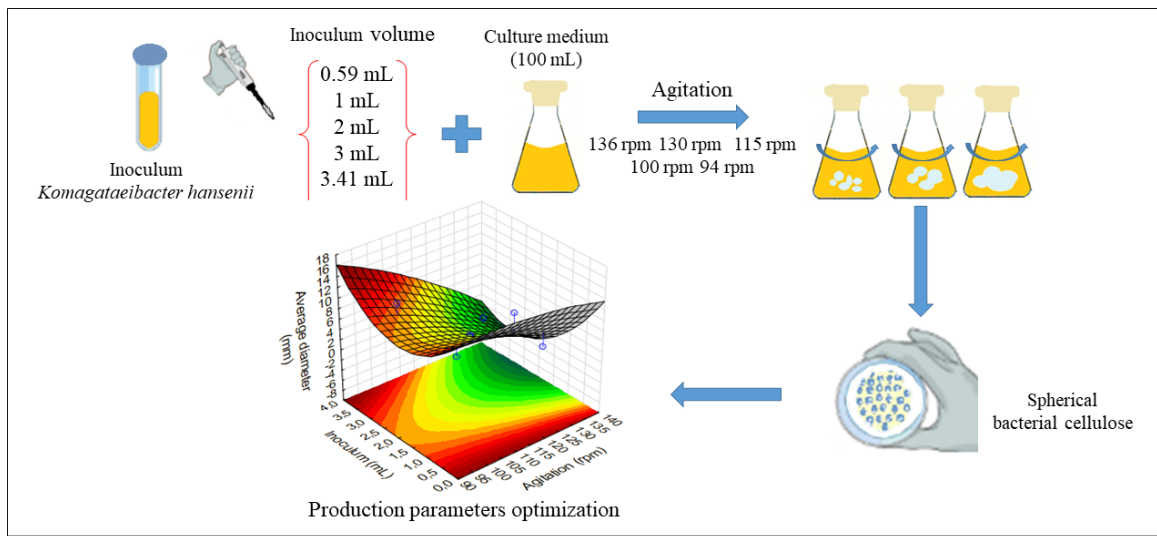
Figura 6 – Fluxograma metodológico geral do estudo da adsorção do corante IC por esferas de CB.



Fonte: Autora (2021).

## 4 ARTIGO <sup>1</sup> - OPTIMIZATION OF PROCESSING PARAMETERS FOR THE SYNTHESIS OF SPHERICAL BACTERIAL CELLULOSE

### RESUMO GRÁFICO:



### ABSTRACT

**Background:** Due to its properties, such as high superficial area, high porosity, tensile strength and elevated adsorption capacity, the bacterial cellulose (BC) can be applied in different fields. The present study aims to evaluate the effects of parameters such as agitation speed and inoculum concentration in the production of spherical BC from *Komagataeibacter hansenii*.

**Methods:** The bacteria were cultivated in culture medium containing mannitol as a carbon source, at 30 °C of temperature and agitation conditions. The influence of the agitation speed and the inoculum concentration on the diameter of the cellulosic spheres were evaluated considering a central composite rotatable design (CCRD).

<sup>1</sup> Este artigo foi submetido a revista: Biotechnology & Bioengineering Journal.

Results: The only statistically significant factor ( $p < 0.05$ ) was found to be the agitation speed for a 95% confidence level, with a negative linear effect. CCRD study showed that the sphere diameter decreases when the agitation speed increases at any inoculum concentration. However, to a given agitation, the sphere size initially decreases and then increases with the increase of the inoculum concentration. Increases in the agitation speed also led to an increase in the sphere number at a constant inoculum concentration.

Significance and Impact of the Study: The results contribute to explain the controverted results about the influence of these two parameters found in the literature. From the optimization of the processing parameters via CCRD study, the selection of the most adequate parameter values to obtain spherical BC of the desired diameter can be achieved.

**Key words:** Spherical bacterial cellulose, *Komagataeibacter hansenii*, Agitated culture, Processing parameters optimization, Agitation speed, Inoculum concentration.

## RESUMO

Devido às suas propriedades, como alta área superficial, alta porosidade, resistência à tração e elevada capacidade de adsorção, a celulose bacteriana (CB) pode ser aplicada em diversos campos. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos de parâmetros como velocidade de agitação e concentração de inóculo na produção de celulose bacteriana esférica por *Komagataeibacter hansenii*.

Métodos: As bactérias foram cultivadas utilizando manitol como fonte de carbono, a 30 °C de temperatura. A influência da velocidade de agitação e da concentração de inóculo no diâmetro das esferas celulósicas foi avaliada considerando um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR).

Resultados: O único fator estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) encontrado foi a velocidade de agitação para nível de confiança de 95%, com efeito linear negativo. O estudo do DCCR mostrou que o diâmetro da esfera diminui quando a velocidade de agitação aumenta em qualquer concentração de inóculo. Porém, a uma dada agitação, o tamanho da esfera diminui inicialmente e depois aumenta com o aumento da concentração de inóculo. Aumentos na

velocidade de agitação também levaram a um aumento no número de esferas em volume constante de inóculo.

**Significância e Impacto do Estudo:** Os resultados contribuem para explicar os resultados controversos sobre a influência desses dois parâmetros encontrados na literatura. A partir da otimização dos parâmetros de processamento via estudo do CCRD, pode-se obter a seleção dos valores dos parâmetros mais adequados para se obter esferas do diâmetro desejado.

**Palavras-chave:** Celulose bacteriana esférica, *Komagataeibacter hansenii*, Cultura agitada, Otimização dos parâmetros de processamento, Velocidade de agitação, Concentração de inóculo.

### STATEMENT OF NOVELTY

The novelty of this study lies in the analysis through statistical methodology of the influence of the agitation speed and inoculum concentration on the size and particle number of spherical bacterial cellulose (BC) obtained from *Komagataeibacter hansenii* using mannitol as a carbon source. The use of the CCRD methodology allowed to define the optimal processing parameter values to obtain spherical BC of the most adequate diameter for the desired application.

Transcrição adaptada do artigo:

#### 4.1 INTRODUCTION

Cellulose is the most abundant natural polymer on Earth. The most commercially explored cellulose source is wood. Nonetheless, cellulose can be extracellularly synthesized by various organisms, such as algae (*Vallonia*) and bacteria (*Acetobacter*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Alcaligenes*, *Zoogloea*) (FINK; SELLBORN; KRETTEK, 2012; HUANG et al., 2014; KLEMM et al., 2001; KLEMM et al., 2011). The bacterial cellulose (BC) is extracellularly secreted by bacteria like the ones from the *Komagataeibacter* (ESA; TASIRIN; RAHMAN, 2014; MOHITE; PATIL, 2014b). The first report of cellulose production by bacteria occurred through vinegar fermentation

(BROWN, 1886a). BC is a biopolymer composed of  $\beta$ -1, 4-linked d-glucopyranose with around 98% of cellulosic fibers and that can be synthesized from a variety of carbon sources (BRANDES et al., 2018; BROWN, 1886b; KUO et al., 2019; SHI et al., 2014). The use of BC has the advantage, over plant cellulose, that it is not necessary to separate it from lignin.

All the bacteria that produce cellulose are able to convert glucose to cellulose, as part of their metabolism. In this case, glucose acts not only as energy source, but also as the precursor of the biopolymer biosynthesis. The BC production can be conducted by chemically defined culture media. The culture media and cultivation condition are the most important parameters during BC production to ensure plenty of abundance production of this material (CAZÓN; VELAZQUEZ; VÁZQUEZ, 2020; DAYAL; CATCHMARK, 2016; SPEROTTO et al., 2021; KLEMM et al., 2011). The cellulose produced by *K. hansenii* has exceptionally high purity and, due to its crystalline structure and microfibrillar average width, make it different from plant cellulose. Furthermore, it presents better mechanical properties (FU; ZHANG; YANG, 2013; ROSS; MAYER; BENZIMAN, 1991). These characteristics and properties made its application potential quite wide. Research has shown many applications of BC, for instance: in food industry (SHI et al., 2014), biomedicine (PICHETH et al., 2017), medicine (CZAJA et al., 2006), skin tissue repair (FU; ZHANG; YANG, 2013), adsorption (CHEN et al., 2009) and water decontamination (ALVES et al., 2020).

The BC has multiple hydroxyl groups (HUANG et al., 2014) which allow a great number of interactions such as the hydrogen bonds. This result in a semi-crystalline polymer containing highly structured crystalline regions, which form materials with great tensile strength, apart from presenting peculiar characteristics, like elevated porosity, purity, high degree of polymerization, and high-water content (90–99%) (ZHONG et al., 2013). BC is a very important material as it does not contain residual hemicellulose or lignin. In addition, the unique properties of BC include high elasticity, mechanical strength, specific surface area and porosity. Owing to the presence of many OH group in its surface, the BC can be chemically modified easily. In addition, BC has an organized ultrafine structure. These characteristics have become BC a great alternative for wastewater treatment via adsorption and removal of contaminants such as metal ions, dyes and others (ANDRIANI; APRIYANA; KARINA, 2020; DU et al., 2020; ISIK; SARDON; MECERREYES, 2014; KLEMM et al., 2001; MENG et al., 2019; NAGARAJ; SADASIVUNI; RAJAN, 2017; ALVES et al., 2020; TYAGI; THANGADURAI; SURESH, 2020).

The morphology of the BC and its characteristics are severely affected by the different cultivation methods. In the static condition, a film made of BC in a gelatinous form is produced in the interface between the culture medium and the air. In the agitated culture, on the other hand, the BC is synthesized in the form of suspended spheres and irregular masses, and various shapes and sizes (spherical, ellipsoidal, star-shaped or fibrous) are produced (BI et al., 2014; SINGHSA; NARAIN; MANUSPIYA, 2018).

BC production yield is also dependent on culture method. Czaja, Romanovicz and Brown (2004) have reported that after seven days of cultivation of an *Acetobacter xylinum* strain in the same culture medium, the static culture and the agitated culture produced almost the same amount of cellulose (2.5 to 3.0 g.L<sup>-1</sup> cellulose). However, after the sixteenth day, while there was no significant increase in the cellulose synthesis under agitated culture, under static cultivation the CB amount reached 10 g.L<sup>-1</sup> (CZAJA; ROMANOVICZ; BROWN, 2004). The agitated culture of *Komagataeibacter* strains causes many problems, such as disturbance in CB structure, which can be the result of motion forces that occur during the agitation. The biosynthesis originates cellulose crystallites with small dimensions and interferes both in the formation and the crystallization of the microfibrils (BRANDES et al., 2018). Researchers suggest that the shear force during the agitation is the main factor to force the cellulose strips to intertwine and form the cellulose spheres (MENG et al., 2019). The choice of the cultivation method for cellulose production depends on its final applications. Although static cultivation is the simplest and preferred for BC production, agitated culture is more suitable for a massive BC production since agitated cultivation is easily amplified to a large scale of production (ANDRIANI; APRIYANA; KARINA, 2020; CHEN et al., 2018) . In agitated culture, other condition and supplies can afford for BC yield, size and shape such as agitator configuration, oxygen supply, rotating speed, duration of culture time, continuous shear force and additive types in the culture medium (WANG; TAVAKOLI; TANG, 2019). The delivery of oxygen is directly associated with the production of BC (CZAJA; ROMANOVICZ; BROWN, 2004; MENG et al., 2019; MOHITE; PATIL, 2014b; WANG; TAVAKOLI; TANG, 2019). Previous works have also discussed the effect of the inoculum concentration and speed of agitation on the size and shape of the BC produced (HU; CATCHMARK, 2010; ZHU et al., 2011). However, there are different behaviors for different strains under static and agitated cultures. Therefore, this research aimed to evaluate the effects of the agitation speed and inoculum

concentration parameters on the size and particle number of spherical BC produced by *K. hansenii* through a CCRD.

## 4.2 EXPERIMENTAL

### 4.2.1 Microorganisms and Inoculum Preparation

The inoculum was prepared by statically culturing *K. hansenii* (strain ATCC 23769) in 30 mL of aqueous medium previously sterilized in autoclave at 121 °C for 20 min, with the following composition: yeast extract (5.0 g·L<sup>-1</sup>), bacteriological peptone (3.0 g·L<sup>-1</sup>), and mannitol (25 g·L<sup>-1</sup>) as a carbon source (BRANDES et al., 2018). For microorganism activation, the culture medium was inoculated with a stock bacterium suspension 5% (v/v) and, incubated at 30 °C for 3 days.

### 4.2.2 Culture Conditions and Central Composite Rotatable Design (CCRD)

To evaluate the effects of inoculum concentration and agitation speed, it was applied a factorial design using a CCRD. The levels of each variable, inoculum concentration and agitation speed, are presented in Table 1.



Table 1 – CCRD data matrix.

Variable	Levels				
	(-1.414)	(-1)	(0)	(+1)	(+1.414)
Inoculum concentration <sup>a</sup> (% v/v)	0.59	1.0	2.0	3.0	3.41
Agitation speed (rpm)	94	100	115	130	136

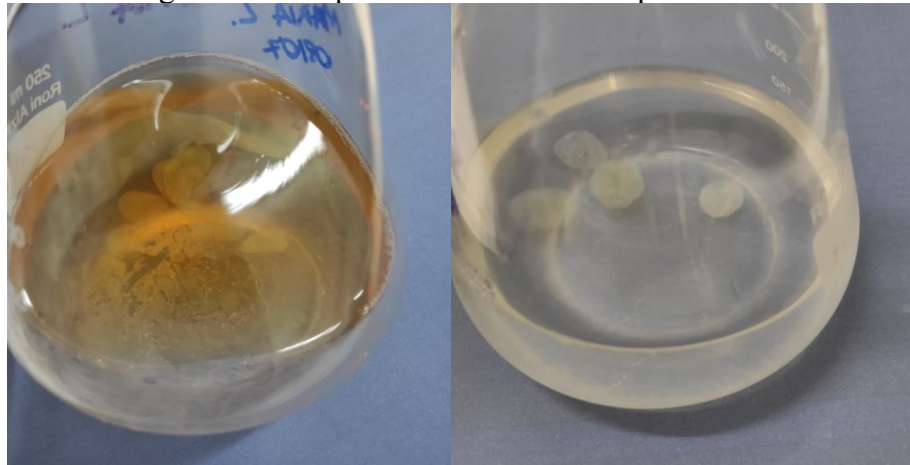
Factors		
Assay	Agitation speed (rpm)	Inoculum concentration (% v/v)
1	100	1.0
2	100	3.0
3	130	1.0
4	130	3.0
5	94	2.0
6	136	2.0
7	115	0.59
8	115	3.41
9	115	2.0
10	115	2.0

In all assays, 250 mL Erlenmeyer's flasks containing 100 mL of medium (as previously described) were used. The flasks were inoculated with a *K. hansenii* suspension to achieve the concentration defined in Table 1. Regarding the agitation speed, the flasks were incubated under different agitation speeds in an orbital shaking bath at 30 °C for 5 days according to defined CCDR.

### 4.2.3 Purification of produced BC spheres

After the incubation period, the synthesized BC spheres were collected, rinsed with distilled water to remove the residual medium, and purified in a 0.1 M NaOH solution, being heated to 90 °C for 30 min to remove non-cellulose materials such as protein and nucleic acids derived from bacterial cells and the culture broth from the pellicle BC. Subsequently, the samples were washed out with distilled water until reaching a neutral pH; then, the number of BC spheres formed in each sample was counted and each BC sample was separately stored in 20% ethanol under refrigeration for future analysis.

Figure 7 – BC spheres before and after purification.

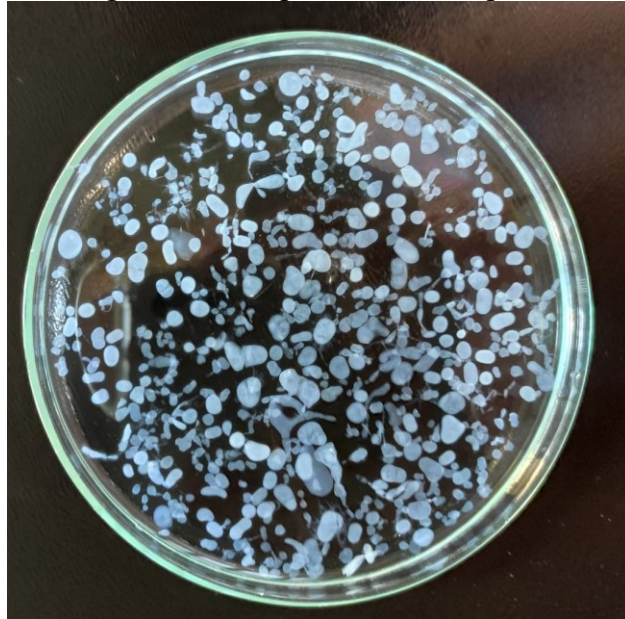


### 4.2.4 Amount and diameter of the spherical particles

The spherical BC contained in each assay was deposited in glass Petri dishes, trying to minimize their overlapping. A black background was placed to facilitate further analysis of the image. A graphic scale, such as a ruler, was used for further evaluation of the acquired image. The image of the spheres was obtained through a mobile device, iPhone 6, with a resolution equivalent to 8 megapixels. For an analysis of the grain size, the ImageJ software was used, which is one of the most used open source image packages for multidimensional image processing and work on multiple platforms (NIKOUSEFAT; HASHEMNIA; KARAMYAN, 2018).

After analyzing the images obtained from the factorial design, it was verified according to the bibliography (ZHU et al., 2011) that for adsorption processes diameters between 3 and 5 mm present better results. Thus, spheres with this diameter were considered, as shown in Figure 8, for the IC dye adsorption experiments.

Figure 8 – BC spheres for adsorption.



#### 4.2.5 BC characterization

Fourier transform infrared (FT-IR) spectra of the BC spheres were recorded on an IR Spectrometer (AGILENT TECHNOLOGIES model Cary 600) using the total attenuated reflection method in the range  $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ .

Spheres of BC were layered onto glass slides and dried in an oven at  $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$  for 24 h to assure flat and smooth films, in order to determine the percentages of BC and water contained in the spheres.

The porosity of spheres BC was measured by immersing the sample in ethanol for 24 hours. The dimensions of samples were measured from photographs with the help of ImageJ software. The samples were weighed and soaked in ethanol at room temperature. After

immersion for 24 h, the samples were wiped by a filter paper and weighed (YIN et al., 2020a). Finally, the porosity of the sample BC was determined using the following equation:

$$P (\%) = \frac{(W - W_0)}{\rho V} \times 100 \quad (1)$$

Where:  $W_0$  is the initial dry weight of each sample,  $W$  is the weight of each sample after immersion,  $\rho$  represents the density of ethanol ( $0.7893 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) and  $V$  is the volume of each sample.

#### 4.2.6 Factorial design and Statistical analysis

The influence of the amount of inoculum and stirring speed on the formation of spherical BC were studied. In order to optimize the number of laboratory assays, an experimental factorial design was used. Concentration of inoculum and agitation speed were used as independent variables; as the response variable, the mean of the diameters of the spheres produced in each assay was selected. The Statistics 7 statistical program was used to prepare the planning. The axial points were calculated using Equation (2), where  $\alpha$  is the axial distance from the central point and  $k$  is the number of factors evaluated ( $k = 2$ ).

$$\alpha = (2^k)^{1/4} \quad (2)$$

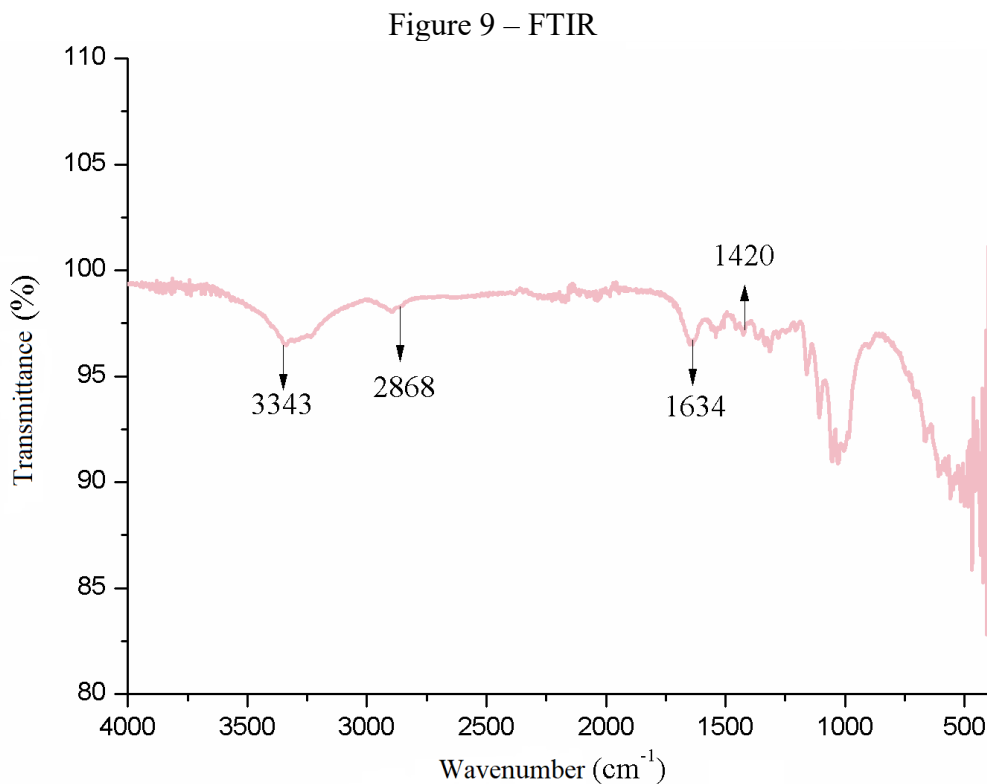
A CCRD with two factors and two levels (axial points and the central point essay in duplicate) was performed to determine the positive critical values of these parameters. Central (0), factorial (+1, -1) and axial (+1.414, -1.414) points were considered, totaling 10 assays according to Table 1. Factor values at the central point (2 mL inoculum/100 mL medium and 115 rpm) were determined on the basis of preliminary tests and bibliographic data (BRANDES

et al., 2018; CZAJA; ROMANOVICZ; BROWN, 2004; HUANG et al., 2014). The response variable (diameters of the produced BC spheres) was obtained using the ImageJ software from photographs. The experimental results were statistically analyzed by the *p-value* and Pareto diagram, with values of  $p \leq 0.05$  being statistically significant at the 95% confidence level. Contour curve and response surface graphic were made to visualize the results from the statistic study and assist to locating the adequate values of the factors for obtaining a given sphere diameter.

### 4.3 RESULTS AND DISCUSSION

#### 4.3.1 Spherical BC Production and Size

BC spheres drying showed a 98.76% water and 1.24% of BC contents, in accordance with the data reported by Zhong et al. (2013).



FTIR analyses showed the BC characteristic bands: the band at  $3350\text{ cm}^{-1}$  was assigned to the BC characteristic O-H stretching vibration of the hydroxyl groups (SANTOS et al., 2015); the broad band at  $3650\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$  corresponded to the O-H stretching vibrations of the hydroxyl groups associated to hydrogen bonding in the cellulose network (CIELECKA et al., 2021; OH et al., 2005). The band at  $2868\text{ cm}^{-1}$  was attributed to the C-H stretching vibration of cellulose (SANTOS et al., 2015); and the  $1068\text{ cm}^{-1}$  band corresponded to the C-O-H stretching vibrations of the sugar ring (GÜZEL; AKPINAR, 2019). Bands referring to protein structures or possible contaminants were not found, being indicative of purity in the sample.

Based on the calculation of the porosity percentage the result 73.13% evidenced the high porosity of bacterial cellulose. This result is in agreement with that reported Pasaribu et al. (2020) which reported a percentage of BC sample porosity of  $75.5 \pm 0.06\%$ . Illa, Sharma and Khandelwal (2019) studied the porosity of the BC from *K. hansenii* obtained results of 9.8% and 85.4 %. According to Zhijiang, Chengwei and Guang (2012) the observed porosity of the pure BC scaffold was about 85%. These results show that BC have a large number of pores resulted in higher porosity for the BC spheres.

Spherical BC with different shapes and sizes were accumulated in the flasks. They were white and semitransparent after purification with NaOH solution. For each assay with the concentration inoculum and the corresponding agitation speed defined by the factorial planning (Table 1), a histogram of sphere number frequency was plotted over the diameters verified by the particle analysis using the ImageJ software. Optical images show BC bodies in spherical, starry, and fibrous ellipsoid forms with sizes depending on the amount of inoculum and speed of rotation. The results can be seen in Figure 10 and the data matrix from histogram analysis is shown in Table 2. The BC spheres formed had very varied diameters ranging from 0.07 to 27.96 mm (Table 2).

When assays with the same inoculum concentration are compared (assays 1 and 3, Figs. 10a and 10c; assays 2 and 4, Figs. 10b and 10d; and assays 5, 6, 9 and 10, Figs. 10e, 10f, 10i and 10j), a decrease in the sphere average diameter and an increase in the sphere number are observed in all cases with the increase of the agitation speed.

These results are in agreement with those reported by Meng et al. (2019) and Hu et al. (2010), who observed that the BC spheres presented more varied shapes and smaller diameters with the increase of the agitation. It can also be verified that at 100 rpm there was agglomeration of particles without a characteristic shape. This result is similar to that reported by Zhu et al.

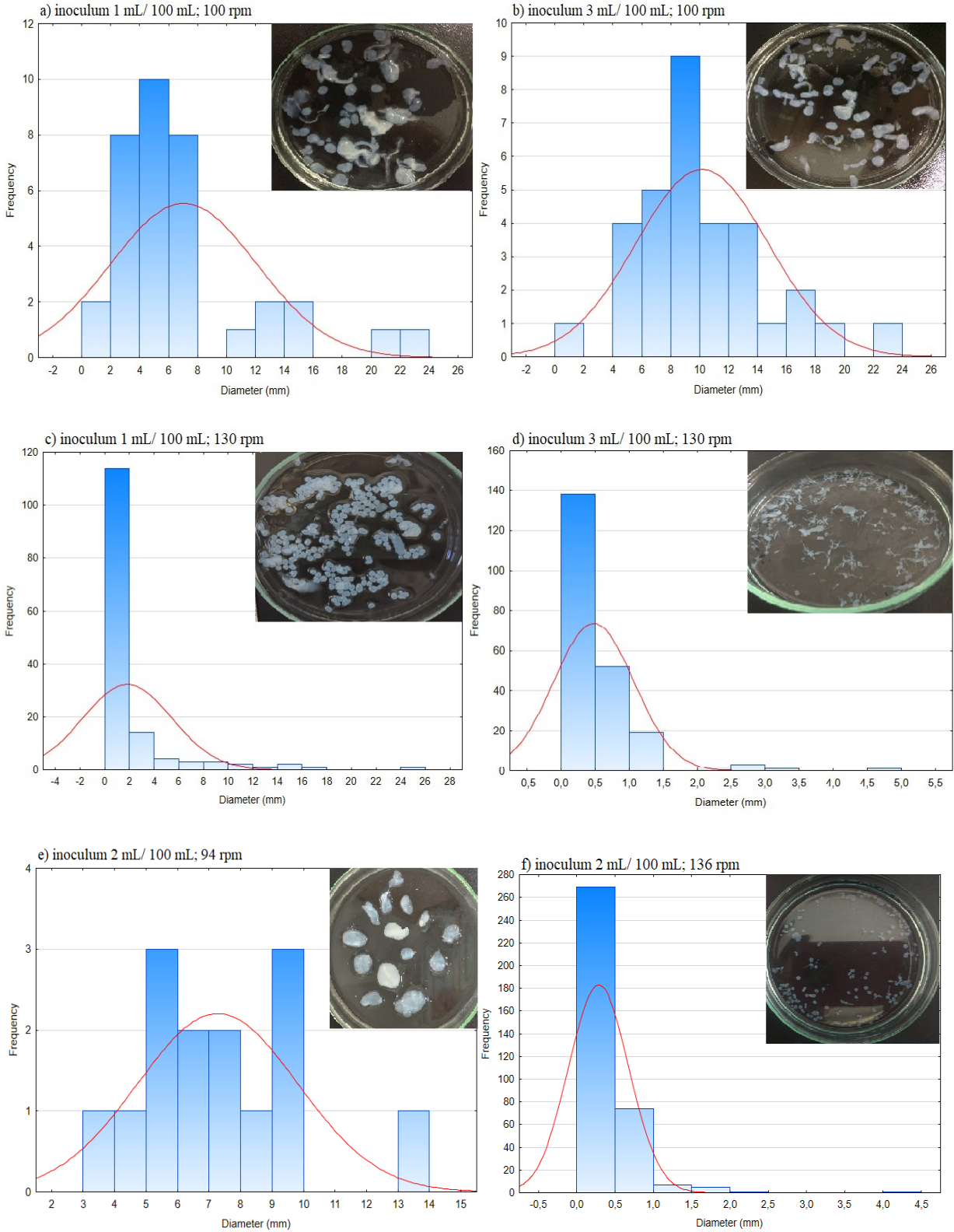
(2011). According to Czaja, Romanovicz and Brown (2004), the increase in agitation speed increases the oxygen concentration in the medium, favoring gas exchange and the BC production. However, according to Yang et al. (1998), agitations higher than 200 rpm are also associated with the appearance of mutant cells that do not produce cellulose, which results in a lower yield of this polymer. In this study, the maximum agitation was 136 rpm. In the present paper, it was also possible to verify that at higher agitation speeds of the medium, the quantity of spheres produced was greater.

In contrast, in the assays with the same agitation speed, the tendencies with the increase of the inoculum concentration are not so clear. With the lowest agitation speed (100 rpm, assays 1 and 2, Figs. 10a and 10b) the average diameter increases, and the sphere number decreases slightly with the increase of the inoculum concentration, in accordance with the results obtained by Hu, Catchmark and Vogler (2013). However, with higher agitations (115 and 130 rpm), in general, the sphere number increases, and their average size decreases when the inoculum concentration is increased (130 rpm, assays 2 and 3, Figs. 10c and 10d; 115 rpm, assays 7 - 10, Figs. 10g, 10h, 10i and 10j). The initial inoculum concentration of *K. hansenii* could impact the initial formation of the spherical cellulose structure, influencing the growth dynamics metabolically or through a change in the viscosity of the culture that can alter the shear forces that act on the surface of the BC in formation (WANG; TAVAKOLI; TANG, 2019). This behavior is well observed in the assays 7-10, all of them at 115 rpm, but this is not a constant, it also depends on the agitation speed.

The assays 4 and 6, with the higher agitations (130 and 136 rpm, respectively) and inoculum concentration  $\geq 2\%$  were those with a more homogeneous diameter of the spheres formed, as showed by the lesser standard deviation (Table 2), leading to the lesser sizes and greater sphere number. These results contrast with those from Brandes et al. (2018), which under 125 rpm agitation and a smaller inoculum concentration observed greater homogeneity in the formation of BC spheres.

These facts suggest a bigger influence of the agitation speed than of the inoculum concentration on the formation of the BC spheres. In general, the bigger average sizes of the BC spheres are obtained with the lower agitation speeds (Tables 1 and 2, assays 1, 2, 5 and 7). In order to obtain spheres with smaller diameters, outlined spherical characteristics and best performance, cultures with an agitation speed of 115 rpm along with an inoculum amount of 2 mL/100 mL of medium must be considered (Fig. 10j).

Figure 10 – Photographs and histograms of the spherical BC samples produced under agitated culture in different inoculum and agitation speed conditions.





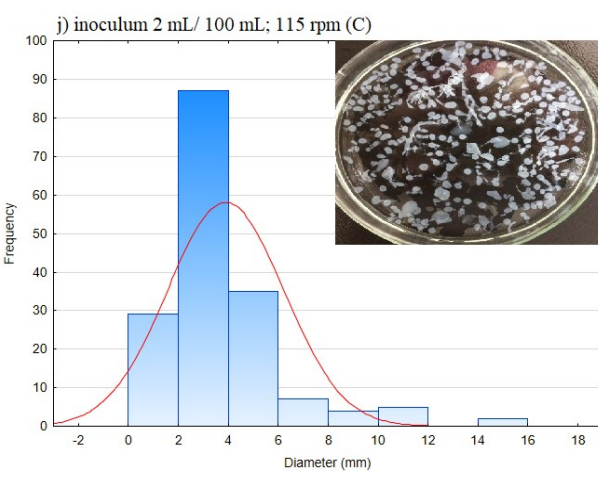
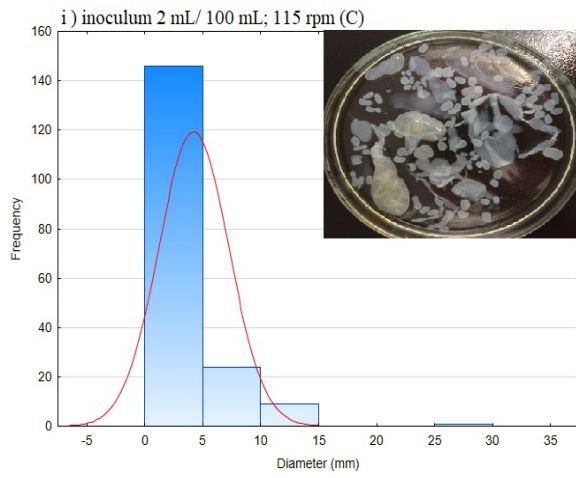
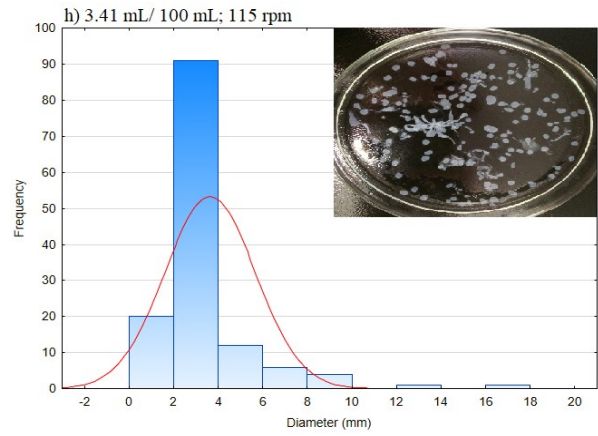
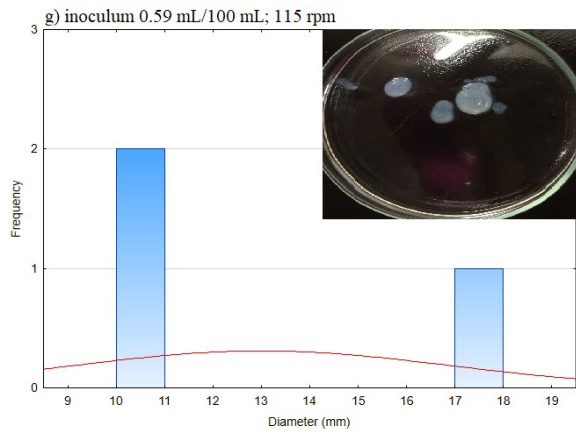


Table 2 – Data matrix histogram analysis.

Assay	Agitation speed (rpm)	Inoculum concentration (% v/v)	Number of spheres	Maximum diameter (mm)	Minimum diameter (mm)	Standard deviation (mm)	Average diameter (mm)
1	100	1.0	35	22.10	1.67	±5.03	6.98
2	100	3.0	32	23.06	1.71	±4.55	10.09
3	130	1.0	145	24.19	0.14	±3.58	1.79
4	130	3.0	216	4.65	0.07	±0.58	0.47
5	94	2.0	14	13.1	3.8	±2.52	7.24
6	136	2.0	357	4.06	0.07	±0.39	0.28
7	115	0.59	3	17.43	10.54	±3.85	12.98
8	115	3.41	135	17.44	1.12	±2.02	3.60
9	115	2.0	180	27.96	1.12	±3.01	4.15
10	115	2.0	169	14.66	1.01	±2.32	3.87

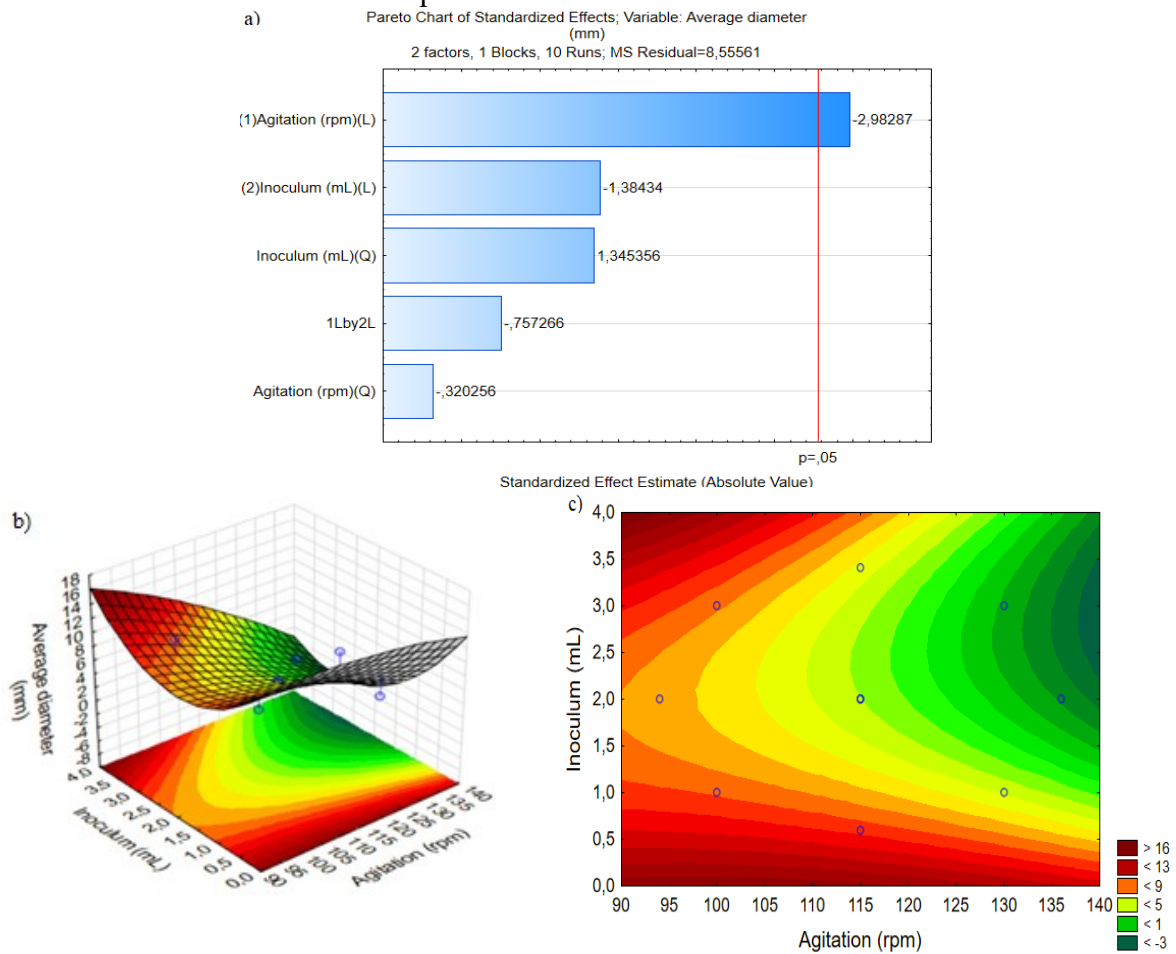
#### 4.3.2 Statistical analysis

Due to the existent controversies in the literature above mentioned about the influence of agitation speed and inoculum concentration on the size of the BC spheres, the authors carried out a statistical study which is adequate to determine the influence of these two factors, also aiming to provide a guide for obtaining BC spheres of the desired size using the adequate values of these factors. Factorial design is a technique widely used to determine the best parameters values, even by extrapolation, when the process has two or more factors, because this allows the examination of a combination of all variables at all levels, with the smallest number of runs

possible. The results were analyzed using Statistical Software 7 (Statsoft, Inc.) to conduct an analysis of variance (ANOVA), Pareto diagram and response surface (3D and 2D) CCRD graphs.

The analysis of variance (ANOVA) is an interesting statistical tool because it indicates which variables are significant for the studied process. The estimated effects of the two considered factors on the BC spheres average diameter were based on the p-value from ANOVA. The only statistically significant factor ( $p = 0.040623 < 0.05$ ) was found to be the agitation speed for a 95% confidence level, with a negative linear effect (-2.98287), as can be seen in the Pareto diagram (Fig. 11a). A negative effect indicates that an increase in the factor level causes a decrease in the response value, i.e., an increase in the agitation speed causes a decrease in the diameter of the BC spheres. The inoculum concentration and the interrelations between the two factors have not a statistically significant effect on the spheres size. Hu and Catchmark (2010) obtained similar results from the univariate method. For the agitation speed factor,  $F_{\text{calculated}} = 8.897507$  from ANOVA was higher than  $F_{\text{tabulated}} = 6.16$  for a 95% confidence level to Box et al. (1978) indicating that the model is significant resulting in a good reproduction of the experimental data without necessity of adjustments.

Figure 11 – a) Pareto diagram, b) Contour curve graph, and c) Response surface graph from ANOVA and CCRD studies on the optimization of processing parameters for the obtention of spherical bacterial cellulose.



The resultant CCRD graphs are shown in Figures 11b (contour curve) and 11c (response surface). These graphs help to understand the dependence on the investigated process of the responses as function of the factor value tendencies. The color scale represents the BC sphere diameters with a separation range of 1 mm. From the graphs, it is clearly observed that, at any inoculum concentration, the sphere diameter decreases when the agitation speed increases. However, to a given agitation, the sphere size initially decreases and then increases with the increase of the inoculum concentration. It is also possible to obtain the same diameter with the same agitation and several different inoculum concentrations. These results agree with the p-values and Pareto diagram above discussed, confirming the agitation speed as the only statistically significant factor influencing the average diameter of the spherical BC, and explain the controverted results about the influence of these two parameters found in the

literature (WANG; TAVAKOLI; TANG, 2019). Following the colored curves, it is possible to select the factor values which will lead to the obtention of BC spheres with the desired diameter and with higher frequency. For example, following the orange curve, to obtain predominantly spheres of 8 mm diameter, the more adequate conditions could be 90 - 100 rpm and 1.7 - 2.0 % inoculum concentration.

#### 4.4 CONCLUSION

The present study aimed to determine through statistical methodology the influence of the agitation speed and inoculum concentration on the size and particle number of spherical BC from *K. hansenii*. The central composite rotatable design CCRD and Pareto diagram showed that the agitation speed is the only significant factor influencing the spherical BC diameter, being that the sphere diameter decreases when the agitation speed increases at any inoculum concentration. Increases in the agitation speed also led to an increase in the sphere number at constant inoculum concentration. In contrast, to a given agitation, when the inoculum concentration is increased, the sphere size initially decreases and then increases again, being possible to obtain spheres with the same diameter at different inoculum concentrations. This different dependence of the two studied factors can contribute to understand the sometime contradictory results known in the literature. From the optimization of the processing parameters via CCRD study, the selection of the most adequate parameter values to obtain spherical BC of the desired diameter can be achieved, making possible to optimize its production in any of the many processes in which can be used.

## 5 ARTIGO 2 – REMOÇÃO DE ÍNDIGO CARMIM POR ADSORÇÃO UTILIZANDO CELULOSE BACTERIANA ESFÉRICA

### RESUMO

A busca por adsorventes alternativos para o tratamento de efluentes industriais visa minimizar os problemas ambientais gerados por contaminantes têxteis em águas naturais. A adsorção é uma técnica para remoção destes contaminantes comumente utilizada. Uma nova abordagem para a remoção do corante índigo carmim (IC), muito utilizado na fabricação de jeans, foi realizada a partir da produção de celulose bacteriana (CB) em cultura agitada produzida por *Komagataeibacter hansenii*. A influência dos parâmetros da remoção que afetam a adsorção do corante, incluindo dosagem de adsorvente e agitação, foi investigada a partir da elaboração de um delineamento composto central rotacional (DCCR) a fim de otimizar os valores dos parâmetros em estudo. Os ensaios de adsorção foram conduzidos em temperatura de 30 °C por 30 min, empregando 10 mL da solução de corante na concentração de 25 mg.L<sup>-1</sup> e verificando a influência da quantidade de massa do adsorvente e velocidade de agitação do processo a partir do DCCR. A variável de resposta monitorada foi a porcentagem de remoção do corante IC pela CB. Os resultados obtidos mostraram que houve influência significativa ( $p < 0,05$ ) nas faixas de valores testados da massa de CB e agitação, com remoção de 43,64 % para uma massa de adsorvente de 714 mg por 10 mL da solução de IC, e uma velocidade de agitação de 128 rpm. O estudo dos gráficos de contorno e de superfície de resposta revelou o potencial da aplicação da CB com menos adsorvente utilizando velocidades de agitação  $\geq 130$  rpm, o que permitiria otimizar o processo de tratamento diminuindo a quantidade de adsorvente necessária. Esses resultados sugerem que as esferas de CB produzidas a partir de *K. hansenii* podem ser consideradas um novo adsorvente potencial para a remediação de águas residuais contendo o corante IC.

**Palavras-chave:** Adsorção, Índigo Carmim, Celulose Bacteriana esférica, DCCR.

## 5.1 INTRODUÇÃO

O acesso a água potável é um direito da humanidade e a poluição ambiental causada por águas contendo corantes é cada vez mais comum. Inúmeros corantes orgânicos sintéticos são utilizados por indústrias, principalmente as têxteis, dos quais aproximadamente 15% são perdidos durante as operações industriais. O Índigo Carmim (IC) é um corante amplamente utilizado na indústria têxtil (HUY et al., 2020; KEKES; TZIA, 2020). O IC é também conhecido como ácido azul 74 e sal de sódio do ácido 5,5'-indigodissulfônico, composto por dois grupos sulfonato carregados negativamente ligados aos anéis de benzeno de dois heterociclos indol substituídos (Tabela 3). Este é um corante orgânico recalcitrante clássico, com alta solubilidade ( $10 \text{ g.L}^{-1}$ ) e, por apresentar alta solubilidade, é largamente utilizado nas indústrias (BABU et al., 2019). A aplicação de IC de forma extensiva leva à contaminação ambiental, em particular, poluição da água, além de poder causar danos à saúde humana pois é considerado um indigóide altamente tóxico, dado que o seu toque causa irritações na pele e nos olhos, podendo levar a lesões permanentes na córnea (OTHMAN; MOHAMED; IBRAHEM, 2007; LEKSHMI; YESODHARAN; YESODHARAN, 2017).

Com base nisso, a remoção de IC dos efluentes antes de serem lançados em corpos d'água naturais é indispensável. Inúmeras técnicas promissoras são relatadas para a remediação de efluentes contendo corantes (KATHERESAN; KANSEDO; LAU, 2018). Destas se destacam os métodos físicos (HOLKAR et al., 2016), químicos (YAGUB et al., 2014) e biológicos (ADEGOKE; BELLO, 2015), entre os quais a tecnologia de adsorção vem atraindo cada vez mais atenção nos últimos anos (XU et al., 2012).

Processos adsorptivos são apontados como uma alternativa viável para o tratamento de efluentes têxteis, devido a sua eficiência, simplicidade de projeto, baixo custo e viabilidade em concentrações baixas (ALARDHI; ALBAYATI; ALRUBAYE, 2020; ROCHA et al., 2012; TAN et al., 2015). O processo de adsorção consiste na transferência de matéria entre duas fases, normalmente de uma fase líquida ou gasosa a uma fase sólida. A substância dissolvida na fase líquida que será transferida para a superfície do sólido é chamada de adsorvato. O sólido que fixará o adsorvato é chamado adsorvente (KUNZ et al., 2002). Vários materiais adsorventes estão sendo utilizados para a remoção de contaminantes de efluentes, principalmente materiais sustentáveis e naturalmente produzidos por organismos vivos (MOHITE; PATIL, 2014a), tais como a Celulose Bacteriana (CB). A CB pode ser sintetizada por diferentes bactérias, um

destaque para as bactérias que pertencem aos gêneros *Komagataeibacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* e *Sarcina* (ANDRIANI; APRIYANA; KARINA, 2020; RANI; APPAIAH, 2011). Desta forma, novas perspectivas para aplicação da CB surgem a partir de seus aspectos únicos, devido a suas ligações de hidrogênio intra e intermoleculares que mantêm as cadeias de celulose unidas. Sua nanoestrutura é caracterizada por elevada pureza, uma vez que não está associada a lignina e hemicelulose, componentes da celulose vegetal. CB também apresenta cristalinidade entre 60 a 90%, alta porosidade e possui uma estrutura reticular com pequenos poros, o que a qualifica para fins de filtração e capacidade de absorver e reter água (mais de 90% de sua massa), apresentando elevada resistência mecânica e estrutura em rede tridimensional (3D) (CZAJA et al., 2006; GALDINO et al., 2020; KLEMM et al., 2001)

Existem duas formas de sintetizar a CB: em meio estático e agitado. Em meio agitado ocorre a formação de esferas, as quais apresentam vantagens como: morfologia esférica bem controlada, maior área de superfície e maior porosidade que a CB em forma de filme cultivada em meio estático. Para Meng et al. (2019) a CB em esferas é um novo biomaterial com potencial para ser usado em tratamento de águas residuárias. Para Zhu e colaboradores (2011) a CB na forma esférica pode adsorver diferentes tipos de substâncias e sua capacidade de adsorção aumenta com a diminuição do seu diâmetro esférico, pois há maior área superficial para o processo. Portanto, este trabalho teve como objetivo empregar um material alternativo e atraente em comparação aos adsorventes convencionais para adsorver corantes como o IC.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1 Preparação das esferas celulose bacteriana

A bactéria *Komagataeibacter hansenii* (ATCC 23769) utilizada foi obtida da cultura estoque do laboratório PROBIOTEC – UFSC Araranguá. O inóculo para síntese de CB foi preparado com 5% (v/v) de inóculo obtido em meio estático de cultura contendo 3 g·L<sup>-1</sup> de peptona, 5 g·L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 25 g·L<sup>-1</sup> de manitol. As esferas de CB foram produzidas em Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultura, autoclavado a 121 °C por 20 min, com a composição a seguir: 3 g·L<sup>-1</sup> de peptona, 5 g·L<sup>-1</sup> de extrato de levedura e 25 g·L<sup>-1</sup> de manitol. Para crescimento das esferas de CB foi determinada uma concentração de inóculo de 2% em 100 mL de meio de cultura, para obtenção de esferas com diâmetros entre 3

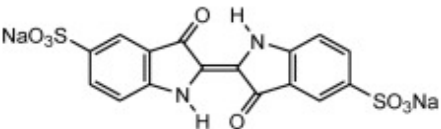


e 5 mm, adequadas para processos de adsorção. Os Erlenmeyers foram mantidos sob agitação de 115 rpm durante 5 dias à temperatura de 30 °C. Após o período de crescimento, as esferas foram retiradas do meio de cultivo e imersas em solução de NaOH (0,1 M), aquecidas a 90 °C durante 30 minutos, para eliminação de resíduos celulares e contaminantes do meio de cultura, e lavadas com água destilada até se atingir pH neutro.

### 5.2.2 Preparação do adsorvato

O corante Índigo Carmim (C.I – 73015) foi obtido comercialmente da empresa NEON Comercial. Trata-se de um corante muito utilizado na indústria têxtil que produz uma solução azul quando dissolvido em água. Na Tabela 3 são salientadas algumas características deste corante.

Tabela 3 – Características do índigo carmim.

Fórmula	$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$
Massa molar	466,35 g.mol <sup>-1</sup>
Estrutura	
Solubilidade em água: (25 °C)	10 g.L <sup>-1</sup>
$\lambda_{max}$	610 nm

Fonte: Adaptado de Khadhri et al. (2019).

Uma solução do corante IC na concentração 25,0 mg.L<sup>-1</sup> foi preparada para os ensaios de adsorção. As concentrações das soluções nos experimentos foram aferidas por meio de espectrometria de UV-Vis ( $\lambda$  610 nm), utilizando um espectrofotômetro modelo GTA-96 da marca Global Trade Technology.

### 5.2.3 Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR)

Para realização dos ensaios de adsorção, um planejamento experimental foi elaborado para avaliar a influência das variáveis: massa do adsorvente: (476; 714 e 952 mg) em 10 mL de uma solução de IC ( $25 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e velocidade de agitação: 80, 100 e 120 rpm.

Sobre o processo de adsorção, a fim de determinar as melhores condições de trabalho, foi adotado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) completo do tipo  $2^2$  com ponto central em duplicata, dois níveis (-1 e +1) e pontos axiais (+1,414, -1,414) gerando um total de dez experimentos, conforme Tabela 4.

Tabela 4 – Planejamento fatorial para os ensaios de adsorção.

Variável	Níveis				
	(-1.414)	(-1)	(0)	(+1)	(+1.414)
Massa de CB (mg)	353,23	476	714	952	1050,53
Agitação (rpm)	72	80	100	120	128

Ensaio	Fatores			Resposta
	Massa de CB hidratada (g)	Massa de CB seca (mg)	Agitação (rpm)	Remoção de cor (%)
1	10	476	80	11,23
2	10	476	120	30,81
3	20	952	80	27,80
4	20	952	120	35,16
5	7,93	353,23	100	19,01
6	22,07	1050,53	100	36,31
7	15	714	72	16,07
8	15	714	128	43,64
9	15	714	100	28,10
10	15	714	100	27,52

Fonte: Autora (2021).

Os ensaios foram realizados em ordem aleatória. Para determinação da massa de esferas da CB seca em mg, foram realizados ensaios para secagem conforme a metodologia utilizada por Pasaribu et al. (2020) na qual foram obtidas esferas secas com teor de água de 95,24 %.

A resposta utilizada para determinar a eficiência dos ensaios foi o percentual de adsorção de corante pelas esferas de CB. Este percentual foi calculado a partir dos valores das absorbâncias nas soluções iniciais e finais, obtidos experimentalmente e utilizando-se a lei de Lambert-Beer e a Equação (3). Os resultados foram analisados pelo uso do software STATISTICA 7.0 (Stat Soft Inc®, USA) com nível de significância de 95%.

#### 5.2.4 Ensaio de adsorção

Os ensaios de adsorção foram conduzidos em tubos de ensaio de 50 mL contendo 10 mL da solução de IC na concentração de 25 mg.L<sup>-1</sup> e nas condições estabelecidas na Tabela 4..

Os frascos foram mantidos em uma incubadora com agitação por 30 min a 30 °C. Após este período, a suspensão foi separada por uma peneira com filtragem dupla. O filtrado foi analisado quanto à concentração residual de índigo carmim por um espectrofotômetro UV-vis ( $\lambda$  610 nm). A partir dos dados de concentração obtidos, o percentual de remoção do corante foi calculado de acordo com a Equação 3 e a capacidade de adsorção de acordo com a Equação 4:

$$R = \frac{(C_0 - C_f)}{C_0} \times 100\% \quad (3)$$

$$Q = \frac{(C_0 - C_f)V}{m} \quad (4)$$

onde  $C_0$  e  $C_f$  são as concentrações iniciais e finais do corante (mg.L<sup>-1</sup>),  $m$  é a massa do adsorvente (g) e  $V$  é o volume da solução do corante (L).

### **5.2.5 Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

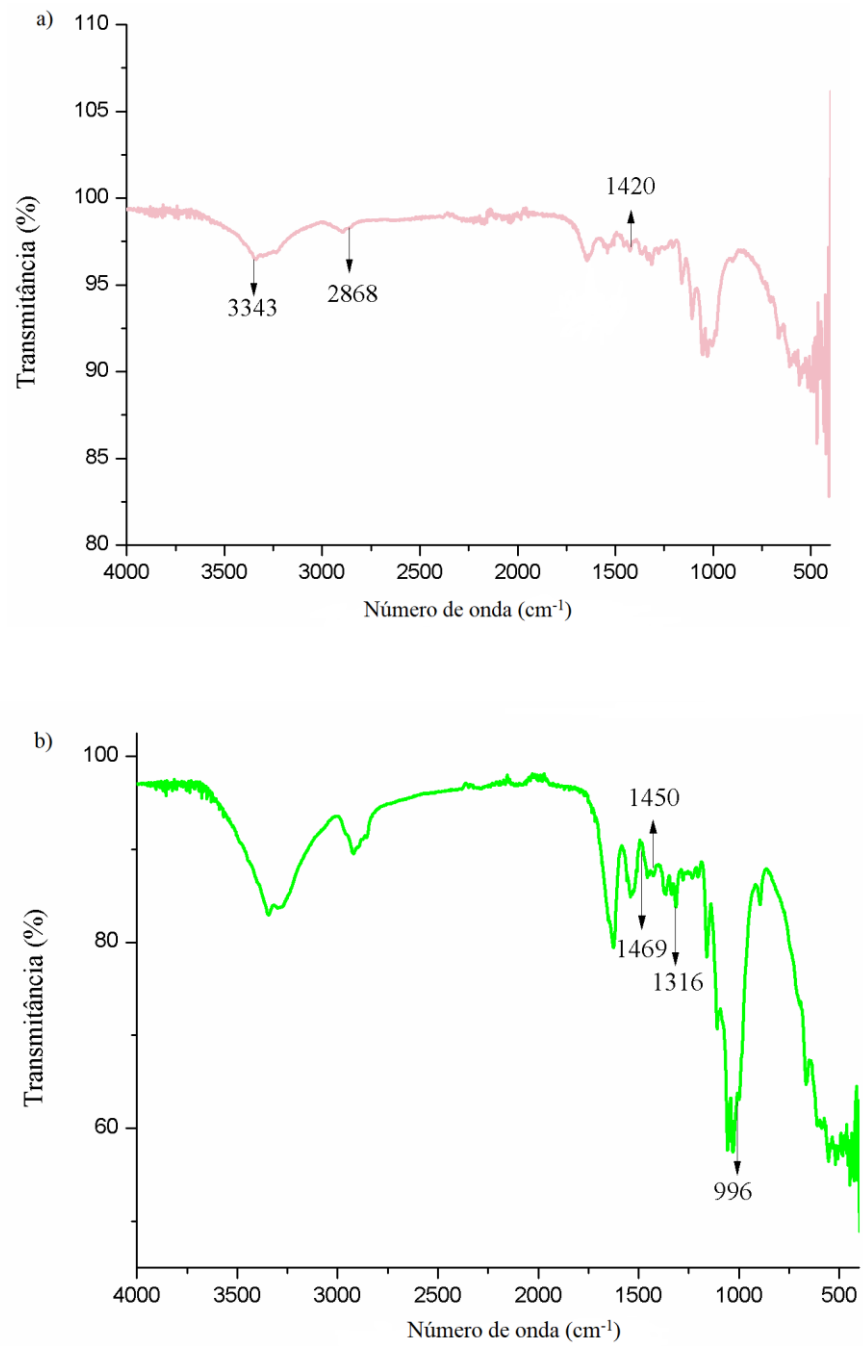
Os ensaios de FTIR foram realizados antes e após a adsorção de IC por CB. Para isto, foi utilizado um equipamento da marca Shimadzu, modelo IR spirit, situado no Laboratório de Materiais Avançados (LMA) da UFSC campus Araranguá. As amostras foram analisadas utilizando um módulo ATR, fazendo 32 varreduras de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  apresentando resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , para a identificação de grupos funcionais dominantes nas superfícies do adsorvente.

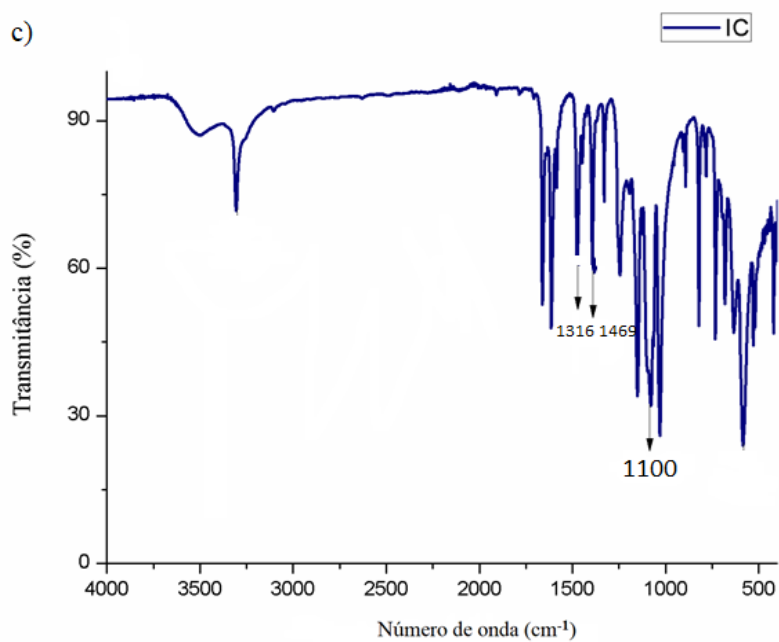
## **5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.3.1 FTIR espectroscopia**

A fim de identificar os grupos funcionais característicos responsáveis do processo de adsorção e o adsorvato retido no adsorvente, a análise por FTIR foi realizada antes e após o processo de adsorção do IC por CB. A Figura 12 mostra os espectros de FTIR obtidos do ensaio.

Figura 12 – Espectros de FTIR: a) Esfera de CB antes da adsorção b) Esfera de CB após adsorção e c) Índigo carmim puro.





Fonte: Autora (2021).

O espectro de CB antes da adsorção Figura 12 (a) mostra picos característicos da estrutura da CB pura, em  $3343\text{ cm}^{-1}$  (banda larga) correspondendo ao alongamento O-H. Segundo Fatombi et al. (2019) a banda em torno de  $1420\text{ cm}^{-1}$  é a vibração de flexão de  $\text{CH}_2$  sendo associada à estrutura cristalina da celulose. Também pode ser observada nos espectros de FTIR as bandas típicas de CB referentes a vibração de flexão ( $-\text{CH}$ ) em  $1370\text{ cm}^{-1}$  e grupos metileno ( $-\text{CH}_2-$ ) em  $2800-2900\text{ cm}^{-1}$  (GÜZEL; AKPINAR, 2019). As bandas do espectro do IC Figura 12 (c) coincidem com as referenciadas na literatura, é possível observar uma ligação aromática ( $\text{C}=\text{C}$ ) em  $1469\text{ cm}^{-1}$  (KEKES; TZIA, 2020).

Observa-se na Figura 12 (a) e Figura 12 (b) que em ambos os espectros, antes e após adsorção, foi possível verificar uma grande banda acima de  $3300\text{ cm}^{-1}$  característica da CB, associada a vibrações O-H (OLIVEIRA et al., 2020). Os picos próximos de  $1450\text{ cm}^{-1}$  no espectro de pós-adsorção refere-se às vibrações de flexão C-H de grupos  $\text{CH}_3$  e vibrações de alongamento  $\text{S}=\text{O}$  de sulfonatos, respectivamente (BABU et al., 2019). Os picos que apareceram entre  $1316\text{ cm}^{-1}$  e  $996\text{ cm}^{-1}$  são atribuídos a ligações de alongamento  $\text{S}-\text{O}$ , confirmando a presença dos grupos sulfonato (FATOMBI et al., 2019; BABU et al., 2019).

O espectro pós-adsorção apresenta, por tanto, as bandas características de CB e do IC. Porém, não são observados deslocamentos significativos destas bandas com respeito às dos

espectros FTIR da CB e do IC isolados. Este fato pode ser indicativo da não formação de novas ligações covalentes adsorvente/adsorvato durante o processo de adsorção, o que sugere um mecanismo de fisiossorção, em concordância com os resultados do estudo de isothermas de adsorção efetuado em trabalho anterior, no qual os dados experimentais ajustaram-se ao modelo de Freundlich (TONETTO, 2018).

### 5.3.2 Capacidade de adsorção da CB esférica

As concentrações iniciais e finais, bem como as percentagens de remoção de cor e capacidade de adsorção de cada ensaio são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Concentrações iniciais e finais das soluções de IC (10 mL) e % remoção de cor e capacidade de adsorção dos ensaios DCCR efetuados.

Ensaio	Massa CB hidratada (g)	Massa CB seca (mg)	Velocidade de agitação (rpm)	Co (mg.L <sup>-1</sup> )	Cf (mg.L <sup>-1</sup> )	Capacidade de adsorção (mg.g <sup>-1</sup> )
1	10	476	80	25	23,25	0,06
2	10	476	120	25	18,12	0,169
3	20	952	80	25	18,91	0,07
4	20	952	120	25	16,98	0,096
5	7,93	353,23	100	25	21,21	0,14
6	22,07	1050,53	100	25	16,68	0,09
7	15	714	72	25	21,98	0,058
8	15	714	128	25	14,76	0,16
9	15	714	100	25	18,83	0,103
10	15	714	100	25	18,98	0,10

Fonte: Autora (2021).

A capacidade de adsorção foi calculada para cada experimento, sendo que, nestes ensaios a saturação não foi atingida. Obteve-se valor máximo para capacidade de adsorção de  $0,169 \text{ mg.g}^{-1}$  no ensaio 2, desta forma, o não alcance da saturação pode explicar os valores baixos. Desta forma, para alcançar níveis mais altos de capacidade de adsorção da CB, alguns parâmetros, tais como, estudo do pH e velocidade de agitação mais elevadas podem ser analisados. Alguns estudos demonstram a capacidade de adsorção da CB funcionalizada, com modificação química ou funcionalização da superfície da CB com outros componentes e materiais (YANG et al., 2018). CB foi funcionalizada com estruturas de imidazolato zeolítico (ZIFs) para adsorver o corante IC e a capacidade máxima de adsorção dos filmes compostos ZCMBC para IC atingiu  $264,6 \text{ mg.g}^{-1}$  (MAI et al., 2021).

Yi e colaboradores (2021) estudaram a capacidade de adsorção de nanoesferas de CB funcionalizadas com fibras de aramida para remover o corante azul de metileno (MB) no qual a eficiência de remoção do corante (MB) via nanocompósitos ANFs/BC foi de 98,8%, e capacidade de adsorção de  $54,27 \text{ mg.g}^{-1}$ , já com a CB pura atingiu valor de remoção de 27,9%, valor inferior ao alcançado neste trabalho de 43,64 %.

### 5.3.3 Efeito da massa de adsorvente e da velocidade de agitação

A quantidade de adsorvente utilizada é um parâmetro importante para determinar a capacidade de remoção. Geralmente, a porcentagem de remoção do corante aumenta com o aumento da massa de adsorvente. O efeito da massa do adsorvente dá uma ideia da capacidade de adsorção de um corante ser adsorvido com a menor quantidade de adsorvente, de modo, a avaliar a capacidade de adsorvente, principalmente os alternativos, do ponto de vista econômico (YAGUB et al., 2014). McCabe et al. (1993) relatam que ao utilizar adsorventes com menores diâmetros de partícula conferem maior área superficial para o material, o que ocasiona melhores taxas de remoção do corante, e ao aumentar a massa de adsorvente este valor também aumenta.

O efeito da massa do adsorvente foi investigado variando a quantidade de massa de CB (353,23 - 1050,53 mg) conforme mostrado Tabela 4. Foi observado que, mantendo a agitação constante, a remoção do corante IC aumentou em todos os casos com o aumento da massa de adsorvente. Porém, ao analisar a mesma massa de CB e agitações diferentes (ensaios 1 - 2 e 3 - 4) pode-se inferir que com o aumento da velocidade de agitação a remoção de IC também aumentou.



Nos ensaios 4 e 8, ao analisar velocidades próximas de 120 e 128 rpm, porém em massa de CB diferentes (952 - 714 mg), pode se observar que o efeito do incremento da velocidade de agitação foi mais significativo que o aumento da massa das esferas de CB. Desta forma, nestes ensaios, com o aumento da massa do adsorvente, não há melhora da adsorção de IC. Este fato pode estar relacionado à saturação ou sobreposição dos locais ativos para ocorrer o processo. Parece, por tanto, que a velocidade de agitação tem uma influência maior que a massa de adsorvente na remoção de IC.

Esse resultado também está de acordo com o obtido por Babu et al. (2019) que ao aumentarem a quantidade de adsorvente de lama vermelha ativada atribuiu superfície adicional disponível para os componentes do corante IC, resultando assim em eficiências de remoção melhoradas, porém, a partir de certas dosagens maiores não projetaram qualquer melhoria adicional na adsorção do corante IC, o que pode ser devido à sobreposição ou agregação de locais de adsorção ativos.

O efeito da massa de CB foi avaliado para celulose bacteriana-polianilina para tratar água residual, e foi observado que aumentando a dosagem de (1,25 - 7,50 mg/mL) também houve acréscimo na remoção, fato que, pode ser explicado em termos de área de superfície aumentada e locais reativos para adsorver as moléculas com a maior quantidade de adsorvente. Porém, a dosagem ótima foi de 2,5 mg/mL, pois a partir desse valor não houve incremento na remoção (JAHAN et al., 2020).

Bhowmik, Chakraborty e Das (2021) estudaram a adsorção de IC por carvão ativado e verificaram que ao adicionar mais adsorvente, deveria aumentar também o número de sítios ativos e poros para ocorrer o processo. No entanto, observaram que o excesso de adsorvente leva a mais interações interpartículas como aglomeração levando a uma eventual redução da superfície disponível para adsorção e, portanto, levando à saturação dos locais de adsorção disponíveis.

Fatombi et al. (2019), que analisaram a capacidade de polissacarídeos extraídos de sementes de mamão de adsorver o corante IC, observaram também que o aumento na dosagem do adsorvente ocasionou uma diminuição significativa na capacidade de adsorção, fato que, pode ser relacionado a uma divisão do gradiente de concentração entre as moléculas do corante e a superfície do adsorvente ocorrido com o aumento da quantidade de adsorvente.

Ensaio com adsorvato/adsorvente ao serem induzidos a agitação, tendem a facilitar o processo, pois, com a movimentação do conjunto adsorvente/adsorvato ocorre uma redução da

resistência da camada periférica ao redor da partícula do adsorvente (MCKAY; OYRWSURN, 1980). Para Shams et al. (2016) a velocidade de agitação é um fator com influência diretamente no processo de adsorção, em razão de que a agitação aumenta o grau de mistura adsorvente/adsorvato, aumentando também a transferência de massa. Muitos trabalhos não verificam a influência deste parâmetro e o fixam no estudo, porém sua análise é indispensável.

Neste estudo, a velocidade de agitação foi variada de 72 a 128 rpm para estudar seu efeito na capacidade de adsorção do corante no adsorvente. Os ensaios com melhores remoções foram encontrados a velocidades mais altas, quando comparadas a mesma massa de adsorvente conforme mostrado na Tabela 4.

Nos ensaios 1 e 2 ao utilizar a mesma massa de adsorvente (476 mg), aumentando a velocidade de 80 rpm para 120 rpm, a porcentagem de remoção passou de 11,23 para 30,81 (%). Nos ensaios 7 e 8 utilizando 714 mg de esferas e aumentando a velocidade de 72 rpm para 128 rpm foi obtido remoções de 16,07 e 43,64 %, sendo este último o melhor resultado de porcentagem de remoção.

Os ensaios mostram que a adsorção foi altamente influenciada pela velocidade de agitação. Este resultado também foi obtido por Kusmierek e Swiatkowski (2015) que estudaram a influência de diferentes técnicas de agitação na adsorção do 4-clorofenol em carvão ativado, material altamente poroso assim como a CB, e verificaram que a taxa de adsorção aumenta significativamente com a velocidade de agitação. Conforme a agitação aumentou, de 100 para 500 rpm, a taxa de difusão das moléculas do adsorvente, para a camada limite de líquido, em torno do adsorvente também aumentou por causa da maior turbulência e diminuição da espessura do líquido camada limite.

Ao remover IC de solução aquosa também por carvão ativado mas funcionalizado com casca do amendoim, Zhang, Zhou e Ou (2016) obtiveram melhores porcentagens de remoções com a velocidade de 110 rpm. Resultado semelhante ao obtido por Khadhri et al. (2019) que utilizaram 40 mg de carvão ativado derivado do pecíolo da tamareira como adsorvente para remover IC da solução (10 mL) e obteve seu melhor resultado ao submeter o ensaio na velocidade de 120 rpm. Diante o exposto, é possível inferir que a velocidade é uma variável que exerce influência relevante sobre a capacidade de adsorção do corante IC.

### 5.3.4 Análise de significância estatística das variáveis independentes

O planejamento fatorial é empregado para reduzir o número total de experimentos e para alcançar a melhor otimização geral do sistema. As superfícies de respostas e as curvas de contorno permitem visualizar de maneira mais geral a influência das variáveis do processo na porcentagem de remoção. Os resultados obtidos nos experimentos de adsorção de acordo com a matriz do modelo CCRD foram utilizados para análise, conforme Tabela 4. Os valores obtidos para o coeficiente regressão  $R^2$  (0,9629) e  $R^2$  ajustado (0,9165) foram bem próximos de 1,0, o que indica que houve alta correlação e um ajuste aceitável entre as respostas observadas e as previstas pelo modelo. Desta forma, pode-se dizer que o modelo utilizado foi confiável para obter a variável de resposta. O alto valor de  $R^2$  ajustado também confirma a significância do modelo. O resultado do ANOVA para o modelo experimental está apresentado no Apêndice A.

O valor de F tabelado para os ensaios foi de 7,71. Os valores de F para massa de CB na forma linear e também agitação foram de 31,72 e 66,94 respectivamente. Desta forma, ao obter  $F_{\text{calculado}} \geq F_{\text{tabelado}}$  o teste é significativo ao nível de significância  $\alpha = 5\%$  considerado.

Foi realizada a regressão múltipla obtendo uma estimativa dos efeitos de cada variável avaliada no processo de adsorção do IC e suas interações. No DCCR realizado, adotou-se um nível de significância de 95% ( $\text{valor-p} < 0,05$ ). Na Tabela 6 estão apresentados os coeficientes de regressão e o valor-p para as variáveis consideradas significativas.

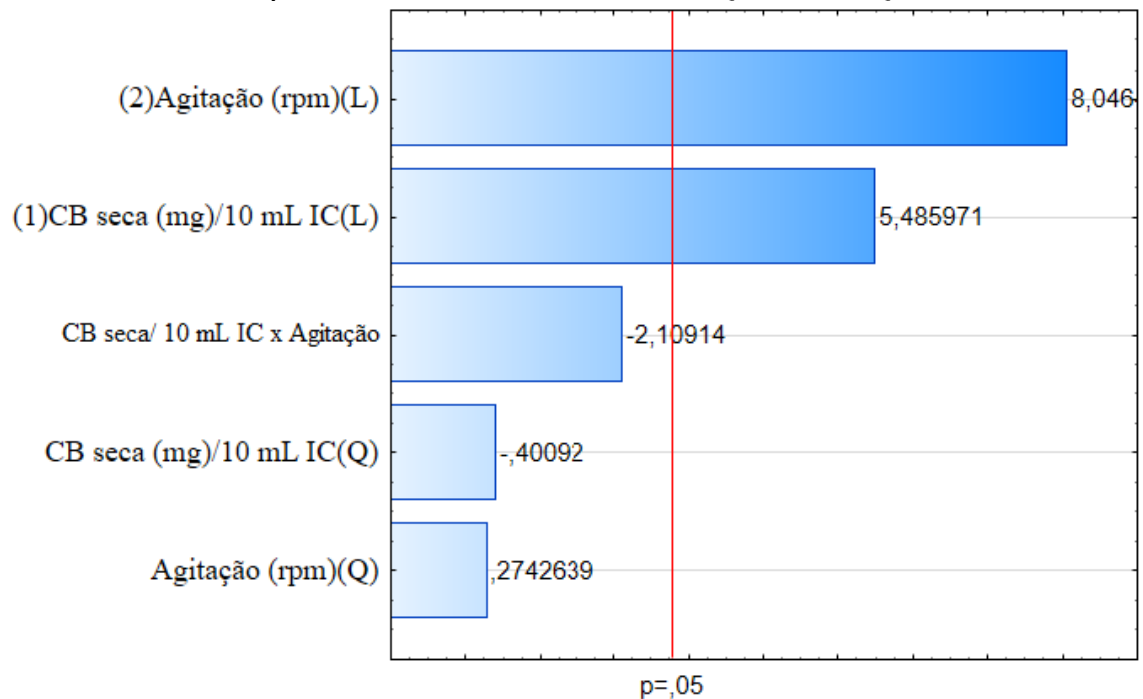
Tabela 6 – Coeficiente de regressão e níveis de significância para o DCCR considerando a adsorção do corante IC por esferas de CB.

Variáveis	Coeficiente de Regressão	Nível de Significância (p-valor)
Termo independente	-71,157	0,000171
CB seca (mg) (L)	0,1004	0,005377
CB seca (mg) (Q)	-0,00001	0,7089
Agitação (rpm) (L)	0,6832	0,00129
Agitação (rpm) (Q)	0,0009	0,7974
CB seca (mg) x Agitação (rpm)	-0,0006	0,1025
$R^2 = 0,96292$		

Fonte: Autora (2021).

Após obter a regressão múltipla realizou-se o teste da análise de variância (ANOVA) do modelo previsto para a remoção do corante (%), a partir do gráfico de Pareto. Com o gráfico de Pareto é possível verificar qual a correlação do grau de significância das variáveis independentes do modelo com a dependente. O intervalo de confiança é de 95%, o qual é representado pela linha vermelha, onde  $p = 0,05$ . A linha vertical vermelha indica o efeito de cada variável estudada em que (L) é o efeito linear das variáveis, (Q) o efeito quadrático das variáveis e da interação linear entre as variáveis independentes.

Figura 13 – Gráfico de Pareto obtido a partir do DCCR para o percentual de remoção do Corante IC por CB onde L- Termos Lineares; Q - Termos Quadráticos.



Fonte: Autora (2021).

Ao analisar o gráfico de Pareto (Figura 13) é possível observar que os fatores significativos exercem influência sobre a variável resposta. Percebe-se que a variável com mais significância é a agitação seguida pela massa de adsorvente por volume de corante ambas em termos lineares. Observa-se ainda que a influência apresentada pelas variáveis citadas é positiva, desta forma, à medida que estes fatores aumentam ocorre também um aumento na variável de resposta (porcentagem de remoção).

A interação das variáveis velocidade de agitação e massa de adsorvente, assim como a variável velocidade de agitação e massa de adsorvente em termos quadráticos, não apresentaram significância neste intervalo de confiança de 95%. Sendo assim, infere-se que a velocidade de agitação é o fator com mais influência no processo adsorptivo do corante IC.

Com a análise do gráfico de Pareto foi possível descrever a capacidade de adsorção do IC por CB em função dos parâmetros que são considerados significativos pelo Statistica 7.0 a partir do teste ANOVA. O modelo obtido pelo software foi:

Equação Remoção (%):

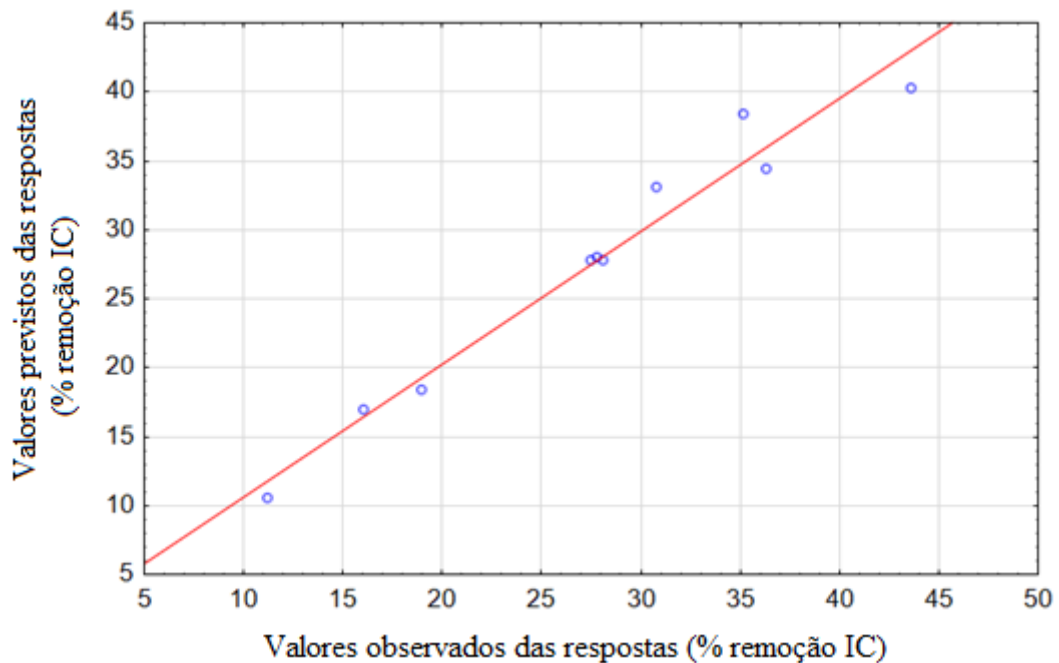
$$R (\%) = -71,157 + 0,1004X_1 - 0,00001(X_1)^2 + 0,6832 X_2 + 0,0009(X_2)^2 - 0,0006 X_1X_2$$

Onde  $X_1$  = massa CB seca (mg)

$X_2$  = agitação (rpm)

O diagrama de dispersão é uma ferramenta que proporciona a verificação de problemas e também proporciona um aumento na eficiência do DCCR aplicado. Na Figura 14 pode ser observada a dispersão entre os valores observados e os valores previstos para a variável de resposta, remoção de corante IC por CB.

Figura 14 – Análise de correlação entre os valores previstos e observados para adsorção de IC por CB.



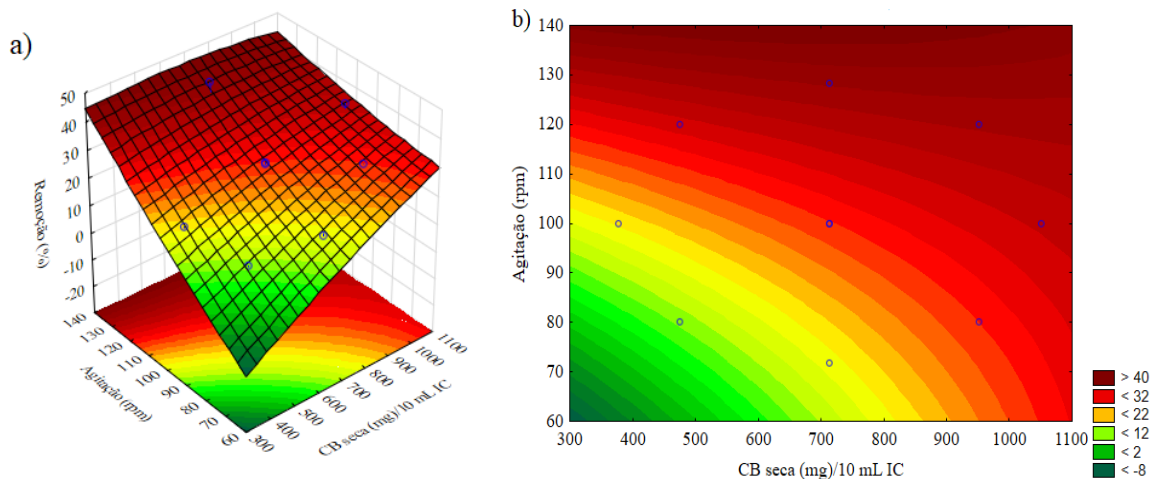
Fonte: Autora (2021).

A Figura 14 apresenta os valores observados no eixo horizontal e os valores previstos no eixo vertical utilizados para determinar se um modelo é ou não satisfatório para a adsorção. O resultado mostra que os valores previstos da resposta (% remoção) estão em concordância com valores observados sobre o intervalo selecionado de variáveis independentes. O valor obtido do ajuste para  $R^2$  foi de 0,9618. Observa-se que a maioria dos pontos de resposta estão

localizados bem próximos da linha vermelha, o que indica uma concordância entre os valores previstos e observados e indica que o planejamento fatorial foi empregado com sucesso.

A superfície de resposta Figura 15 (a) e o gráfico de contorno Figura 15 (b) foram utilizados para estudar as interações entre as variáveis estudadas. A resposta da agitação e da massa de CB na eficiência de remoção é mostrada na Figura 15. A cor vermelha indica uma maior porcentagem de remoção. O desbotamento da cor vermelha em amarelo e verde indica uma porcentagem menor de remoção.

Figura 15 – (a) Superfície de resposta e (b) gráfico de contorno para a porcentagem de remoção do Corante IC pelo processo de adsorção por esferas de CB.



Fonte: Autora (2021).

Os resultados obtidos para a porcentagem de remoção nos ensaios, através da aplicação do DCCR, demonstram que os melhores percentuais de remoção foram alcançados em maiores massa de adsorvente e maiores agitações, conforme pode ser observado na Figura 15. No ensaio 8 houve a maior eficiência na remoção da concentração do corante (43,64 %) em que se empregou uma massa de adsorvente igual a 714 mg por 10 mL de IC sob agitação de 128 rpm.

A eficiência de remoção aumentou com o aumento da agitação e com o aumento da massa de adsorvente. Os gráficos indicam esse aumento da função de resposta com a elevação dessas variáveis. O aumento da remoção em massas maiores pode ser devido ao fato de que a acessibilidade dos sítios ativos aumenta com o aumento da massa de adsorvente, mas além de um determinado limite, ocorre a saturação de tais sítios ativos. Estes resultados são compatíveis com os da adsorção de materiais porosos (cinzas de termoelétrica e soja sem óleo) utilizados para remover IC. Ao analisar o efeito da dosagem desses adsorventes Mittal, Mittal e Kurup

(2007) observaram um aumento substancial na remoção do corante IC quando a dosagem foi aumentada de 0,05 para 0,35 g por 4 g/L no caso da cinza e 0,01 para 0,15 g no adsorvente soja por 2 g.L<sup>-1</sup> de IC, porém em valores superiores a estes, o aumento na capacidade de adsorção não foi tão significativo. Song et al. (2017) testaram queratina reforçada com nano cristais de celulose para remover corantes de soluções aquosas e observaram que a eficiência de remoção aumentou dramaticamente com o aumento da massa do adsorvente, o que foi atribuído ao fato de que mais locais de adsorção estavam disponíveis no adsorvente de celulose. Porém, a partir de determinado valor houve uma diminuição da porcentagem de remoção.

Como observado na Figura 15, as remoções mais altas são obtidas com agitações maiores de 130 rpm para qualquer massa de adsorvente, confirmando a maior influência da agitação que da massa de CB sobre a remoção de IC anteriormente discutida. Este fato indica a possibilidade de obter melhores porcentagens de remoção que os aqui obtidos utilizando agitações maiores que 130 rpm e massa de adsorvente menores que 714 mg, o que permitiria otimizar o processo de tratamento ao diminuir a quantidade de adsorvente necessária.

#### 5.4 CONCLUSÃO

A utilização de esferas de celulose bacteriana como adsorvente para remoção de corante têxtil IC de soluções aquosas, foi testada com sucesso neste trabalho. Quantidade de adsorvente e agitação são variáveis importantes que afetam diretamente na condição do processo de adsorção, logo, estes parâmetros foram analisados a partir da utilização de um planejamento experimental (DCCR). Como resposta foi verificada a porcentagem de remoção. A metodologia do DCCR no intervalo de confiança de 95% demonstrou que em agitações superiores a 100 rpm o processo de adsorção começa a ser favorecido com as maiores massas de adsorvente testado. A maior porcentagem de remoção alcançada foi obtida no ensaio 8 com remoção da concentração do corante (43,64 %) no qual foi empregada uma massa de adsorvente igual a 714 mg de esferas de CB sob agitação de 128 rpm. O estudo dos gráficos de contorno e de superfície de resposta revelou o potencial da aplicação da CB em massas menores utilizando velocidades de agitação  $\geq 130$  rpm, o que permitiria otimizar o processo de tratamento diminuindo a quantidade de adsorvente necessária. O uso de um DCCR para planejar experimentos provou ser uma ferramenta de planejamento experimental simples e prática que pode avaliar a influência de variáveis independentes (quantidade de adsorvente e agitação) e



suas interações na adsorção de corantes em águas residuárias. Além de que, forneceu os modelos matemáticos que podem ser usados para prever a remoção de corantes de águas residuais têxteis dentro da faixa de valores de variáveis independentes estudados.

## **6 CONCLUSÃO E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS**

Neste trabalho, foi possível demonstrar o potencial da aplicação de esferas de CB como adsorvente do corante têxtil IC. A partir dos resultados alcançados na produção das esferas de CB e posterior uso para adsorção do corante IC, podem-se fazer as seguintes considerações:

- Concentração de inóculo e velocidade de agitação são dois fatores importantes que devem ser considerados na produção de CB esférica visando controlar o diâmetro adequado das esferas para a aplicação desejada.
- O estudo da influência destes dois fatores via DCCR mostrou que a velocidade de agitação é o fator estatisticamente significativo que controla o diâmetro das esferas produzidas, mostrando que o diâmetro diminui quando a velocidade de agitação aumenta a qualquer porcentagem de inóculo. Também, para concentração de inóculo constante, o número de esferas produzidas aumenta com o aumento da velocidade de agitação.
- As esferas de CB do tamanho desejado para o processo de adsorção foram produzidas a partir da análise das variáveis que influenciam a produção de CB em cultura agitada, o que demonstrou com sucesso como controlar a produção das esferas e obter maior rendimento. Desta maneira, estes parâmetros devem ser levados em consideração na definição das condições operacionais ótimas do processo.
- Ensaios para avaliar a capacidade de adsorção das esferas de CB para remover o corante IC foram realizados empregando um DCCR, que se mostrou uma ferramenta útil na análise estatística das variáveis do processo (velocidade de agitação e massa de

adsorvente), possibilitando a avaliação do efeito e significância destes parâmetros. Além disso, foi gerado um modelo matemático preditivo para a remoção da cor.

- A melhor porcentagem de remoção (43,64 %) foi alcançada ao utilizar uma massa de adsorvente igual a 714 mg de esferas de CB por 10 mL de IC sob agitação de 128 rpm.
- Os gráficos de superfície e de contorno mostraram o potencial da CB esférica como agente de remoção do IC em agitações  $\geq 130$  rpm e massa de adsorvente menores que 714 mg/10 mL, o que permitiria melhorar a remoção de IC e otimizar o processo de tratamento ao reduzir a quantidade de adsorvente utilizada.
- O adsorvente foi caracterizado pré e pós-adsorção do corante IC utilizando a técnica de FTIR. O espectro pós-adsorção apresenta as bandas características da CB e do IC sem deslocamentos significativos, sugerindo um mecanismo de adsorção via fisiossorção.
- Os resultados obtidos apontam o processo de adsorção de corantes nas esferas de CB como promissor no tratamento de efluentes da indústria têxtil, evidenciando que a aplicação desse adsorvente contribui para a demanda do mercado pela busca de novos adsorventes.

A partir dos resultados obtidos por esta pesquisa ficam algumas recomendações para trabalhos futuros, as quais estão listadas a seguir:

- a) Analisar a influência de outras variáveis da síntese de CB, como por exemplo, pH, fonte de carbono, etc.;
- b) Efetuar experimentos de adsorção em regime de fluxo contínuo, visando a aplicação do processo em maior escala e em efluente têxtil real;
- c) Realizar a funcionalização da CB esférica;
- d) Analisar a adsorção de IC e outros corantes poluentes das águas residuárias;
- e) Avaliar a possibilidade de reuso destes efluentes tratados.

## REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, E. A.; HEGAZEY, R. M.; BHATNAGAR, R. E. Efficient removal of methylene blue dye from aqueous media using Fe/Si, Cr/Si, Ni/Si, and Zn/Si amorphous novel adsorbents. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 8, n. 6, p. 5301–5313, 2019.
- ABIT. Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção (São Paulo) (Org.). **Perfil do Setor**. 2021. Disponível em: <https://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor>. Acesso em: 15 set. 2021.
- ADEGOKE, K. A.; BELLO, O. S. Dye sequestration using agricultural wastes as adsorbents. **Water Resources and Industry**, v. 12, p. 8–24, 2015.
- ADEL, M.; AHMED, M. A.; MOHAMED, A. A. Effective removal of indigo carmine dye from wastewaters by adsorption onto mesoporous magnesium ferrite nanoparticles. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 16, p. 39, 2021.
- AHMAD, M. B. et al. Adsorption of Indigo Carmine dye onto the surface-modified adsorbent prepared from municipal waste and simulation using deep neural network. **Journal of Hazardous Materials**, v. 408, p. 124433, 2021.
- AHMARUZZAMAN, M. Adsorption of phenolic compounds on low-cost adsorbents: a review. **Advances in colloid and interface science**, v. 143, n. 1-2, p. 48-67, 2008.
- AHMED, J.; GULTEKINOGLU, M.; EDIRISINGHE, M. Bacterial cellulose micro-nano fibres for wound healing applications. **Biotechnology Advances**, v. 39, p. 107549, 2020.
- AHMED, M. A.; BRICK, A. A.; MOHAMED, A. A. An efficient adsorption of indigo carmine dye from aqueous solution on mesoporous Mg/Fe layered double hydroxide nanoparticles prepared by controlled sol-gel route. **Chemosphere**, v. 174, p. 280–288, 2017.
- AICHOOR, A. et al. Low-cost, biodegradable and highly effective adsorbents for batch and column fixed bed adsorption processes of methylene blue. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 5, p. 103409, 2019.
- AIROLDI, C.; FARIAS, R. F. DE. O uso de sílica gel organofuncionalizada como agente sequestrante para metais. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 496–503, 2000.
- AL-DEGS, Y. et al. Effect of carbon surface chemistry on the removal of reactive dyes from textile effluent. **Water Research**, v. 34, n. 3, p. 927–935, 2000.

ALARDHI, S. M.; ALBAYATI, T. M.; ALRUBAYE, J. M. Adsorption of the methyl green dye pollutant from aqueous solution using mesoporous materials *MCM-41* in a fixed-bed column. **Heliyon**, v. 6, n. 1, p. 03253, 2020.

ALMEIDA, E. J. R.; DILARRI, G.; CORSO, C. R. A indústria têxtil no Brasil: Uma revisão dos seus impactos ambientais e possíveis tratamentos para os seus efluentes. **Artigo Científico**, Rio Claro – SP, p. 1-18. 2014.

ALVES, A. A.; SILVA, W. E.; BELIAN, M.F.; LINS, L. S. G.; GALEMBECK, A. Bacterial cellulose membranes for environmental water remediation and industrial wastewater treatment. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 17, p. 3997–4008, 2020.

ANDRIANI, D.; APRIYANA, A. Y.; KARINA, M. The optimization of bacterial cellulose production and its applications: a review. **Cellulose**, v. 27, n. 12, p. 6747–6766, 2020.

ANTÔNIO, R. V. et al. Produção de celulose bacteriana a partir de diferentes substratos. **Revista Técnico Científica (IFSC)**, v. 3, n. 1, p. 176–182, 2012.

ARAGAW, T. A. Utilizations of electro-coagulated sludge from wastewater treatment plant data as an adsorbent for direct red 28 dye removal. **Data in brief**, v. 28, p. 104848, 2020.

ARENAS, C. N. et al. Removal of indigo carmine (IC) from aqueous solution by adsorption through abrasive spherical materials made of rice husk ash (RHA). **Process Safety and Environmental Protection**, v. 105, p. 224-238, 2017.

ARVAND, M. et al. Mediated electrochemical method for the determination of indigo carmine levels in food products. **Talanta**, v. 173, p. 60–68, 2017.

ASGHAR, A.; RAMAN, A. A. A.; DAUD, W. M. A. W. Advanced oxidation processes for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for textile wastewater treatment: A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 87, n. 1, p. 826–838, 2015.

BABU, N. A. et al. Removal of hazardous indigo carmine dye from waste water using treated red mud. **Materials Today: Proceedings**, v. 17, p. 198–208, 2019.

BARUD, H. S. **Novos materiais multifuncionais baseados em celulose bacteriana**. 2010. 172 f. Tese (Doutorado em química) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2010.

BARUD, H. S. **Preparo e caracterização de novos compósitos de celulose bacteriana**. 2006. 114 f. Dissertação (Mestrado em química) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2006.

BHATNAGAR, A.; SILLANPÄÄ, M. Utilization of agro-industrial and municipal waste materials as potential adsorbents for water treatment-A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 157, n. 2–3, p. 277–296, 2010.

BHOWMIK, S; CHAKRABORTY, V; DAS, P. Batch adsorption of indigo carmine on activated carbon prepared from sawdust: A comparative study and optimization of operating conditions using Response Surface Methodology. **Results in Surfaces and Interfaces**, v. 3, p. 100011, 2021.

BI, J. C. et al. Morphology and structure characterization of bacterial celluloses produced by different strains in agitated culture. **Journal of Applied Microbiology**, v. 117, n. 5, p. 1305–1311, 2014.

Box, G. E. P.; Hunter, W. G.; Hunter, J. S. (1978). **Statistics for experimenters** (Vol. 664). New York: John Wiley.

BRANDES, R. et al. A mini-review on the progress of spherical bacterial cellulose production. **Journal of Nano Research**, v. 45, p. 142–154, 2017.

BRANDES, R. et al. Influence of the Processing Parameters on the Characteristics of Spherical Bacterial Cellulose. **Fibers and Polymers**, v. 19, n. 2, p. 297–306, 2018.

BRASIL. **Decreto Federal nº 50.877**, de 29 de junho de 1961. Dispõe sobre o lançamento de resíduos tóxicos ou oleosos nas águas interiores ou litorâneas do País e dá outras providências. Brasília, 1961. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1960-1969/decreto-50877-29-junho-1961-390520-publicacaooriginal-1-pe.html>. Acesso em: 10 mai. 2021.

BRASIL. **Lei nº 6.938**, de 31 de agosto de 1981. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação. Brasília, 1981. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l6938.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l6938.htm). Acesso em: 10 mai. 2021.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº 237**, de 19 de dezembro de 1997. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/res/res97/res23797.html>. Acesso em: 8 set. 2020.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº 357/2005**, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

Disponível em:  
[https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res\\_conama\\_357\\_2005\\_classificacao\\_corpos\\_agua\\_rtfda\\_altrd\\_res\\_393\\_2007\\_397\\_2008\\_410\\_2009\\_430\\_2011.pdf](https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfda_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf). Acesso em: 8 set. 2020.

BROADBENT, A. D. **Basic Principles of Textile Coloration**. Canada: Society of Dyers and Colourists, West Yorkshire. 2001.

BROWN, A. J. On an acetic ferment which forms cellulose. **Journal of the Chemical Society**, v. 49, n. 545, p. 432–439, 1886a.

BROWN, A. J. The chemical action of pure cultivations of bacterium aceti. **Journal of the Chemical Society, Transactions**, v. 49, n. 172, p. 172–187, 1886b.

BUTTON, S.T. **Metodologia para planejamento experimental e análise de resultado**. São Paulo, Universidade Estadual de Campinas. /Apostila/. 2001. Disponível em: <http://www.fem.unicamp.br/~sergio1/pos-graduacao/IM317/apostila2012.pdf>. Acesso em: 7 jun. 2021.

CARDOSO, N. F. **Adsorção de corantes têxteis utilizando biossorventes alternativos**. 2012. 120 f. Tese (Doutorado em química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

CASABURI, A. et al. Carboxymethyl cellulose with tailored degree of substitution obtained from bacterial cellulose. **Food Hydrocolloids**, v. 75, p. 147–156, 2018.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; VÁZQUEZ, M. Food Hydrocolloids Characterization of mechanical and barrier properties of bacterial cellulose, glycerol and polyvinyl alcohol (PVOH) composite films with eco-friendly UV-protective properties. **Food Hydrocolloids**, v. 99, p. 105323, 2020.

CHAVES, K. O. et al. Adsorção de índigo carmim em biomassas mortas de *aspergillus niger*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 13, n. 4, p. 351–355, 2008.

CHÁVEZ-PACHECO, J. L. et al. Celulosa bacteriana en *Gluconacetobacter xylinum*: biosíntesis y aplicaciones. **Tip Revista Especializada en Ciências Químico-Biológicas**, v. 7, n. 1, p. 18-25, 2004.

CHEN, B. et al. Design of an alternative approach for synergistic removal of multiple contaminants: Water splitting coagulation. **Chemical Engineering Journal**, v. 380, p. 122531, 2020.

CHEN, G. et al. Scale-up of production of bacterial nanocellulose using submerged cultivation. **J Chem Technol Biotechnol**, v. 93, p. 3418–3427, 2018.

CHEN, J. et al. In situ preparation of bacterial cellulose with antimicrobial properties from bioconversion of mulberry leaves. **Carbohydrate Polymers**, v. 220, p. 170–175, 2019.

CHEN, S. et al. Kinetic and thermodynamic studies of adsorption of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  onto amidoximated bacterial cellulose. **Polymer Bulletin**, v. 63, p. 283–297, 2009.

CIELECKA, I. et al. Response surface methodology-based improvement of the yield and differentiation of properties of bacterial cellulose by metabolic enhancers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 187, p. 584–593, 2021.

Ciola, R. **Fundamentos de catálise**. São Paulo: Edusp, 1981.

CONAMA. **Resolução CONAMA 430/2011**, de 13 de maio de 2011. Dispõem sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, 2011.

CUI, M. H. et al. Mixed dye wastewater treatment in a bioelectrochemical system-centered process. **Bioresource Technology**, v. 297, p. 122420, 2020.

CUNHA, T. R. et al. Influence of incorporation of fluoroalkyl methacrylates on roughness and flexural strength of a denture base acrylic resin. **Journal of Applied Oral Science**, v. 17, n. 2, p. 103–107, 2009.

CZAJA, W. et al. Microbial cellulose - The natural power to heal wounds. **Biomaterials**, v. 27, n. 2, p. 145–151, 2006.

CZAJA, W.; ROMANOVICZ, D.; BROWN, R. M. Structural investigations of microbial cellulose produced in stationary and agitated culture. **Cellulose**, v. 11, p. 403–411, 2004.

DAYAL, M. S.; CATCHMARK, J. M. Mechanical and structural property analysis of bacterial cellulose composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 144, p. 447–453, 2016.

DENIZ, F.; KARAMAN, S. Removal of an azo-metal complex textile dye from colored aqueous solutions using an agro-residue. **Microchemical Journal**, v. 99, n. 2, p. 296–302, 2011.

DU, R. et al. Production, Optimization and Partial Characterization of Bacterial Cellulose from *Gluconacetobacter xylinus* (TJU-D2). **Waste and Biomass Valorization**, v. 11, n. 5, p. 1681–1690, 2020.

ESA, F.; TASIRIN, S. M.; RAHMAN, N. A. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 113–119, 2014.

ERKURT, H. A. **Biodegradation of azo dyes**. Springer, 2010.

FATOMBI, J. K. et al. Characterization and application of alkali-soluble polysaccharide of Carica papaya seeds for removal of indigo carmine and Congo red dyes from single and binary solutions. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. v. 7, p. 103343, 2019.

FERNANDES, A. N. et al. Isotherm and thermodynamic data of adsorption of methylene blue from aqueous solution onto peat. **Journal of Molecular Structure**, v. 982, n. 1–3, p. 62–65, 2010.

FINK, H.; SELLBORN, A.; KRETTEK, A. Molecular Understanding of Endothelial Cell and Blood Interactions with Bacterial Cellulose: Novel Opportunities for Artificial Blood Vessels. **Atherogenesis**, p. 162-184, 2012.

FREIRE, R. S. et al. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Química nova**, v. 23, n. 4, p. 504-511, 2000.

FREITAS, K. R., **Caracterização e Reuso de Efluentes do Processo de Beneficiamento da Indústria Têxtil**. 2002. 162 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

FU, L.; ZHANG, J.; YANG, G. Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 1432–1442, 2013.

FURLAN, F. R. **Avaliação da eficiência do processo de coagulação-floculação e adsorção no tratamento de efluentes têxteis**. 2008. 151 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

GALDINO, C. J. S. et al. Use of a bacterial cellulose filter for the removal of oil from wastewater. **Process Biochemistry**, v. 91, p. 288–296, 2020.

GHALY, A. et al. Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review. **Journal of Chemical Engineering & Process Technology**, v. 5, n. 1, p. 1–18, 2014.



GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes Têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71–78, 2000.

GUIMARÃES, V. G. **Adsorção-dessorção de partículas neutras em sistemas com superfícies não idênticas**. 2015. 63 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2015.

GUPTA, K.; GUPTA, D.; KHATRI, O. P. Graphene-like porous carbon nanostructure from Bengal gram bean husk and its application for fast and efficient adsorption of organic dyes. **Applied Surface Science**, v. 476, p. 647–657, 2019.

GÜZEL, M.; AKPINAR, Ö. Production and Characterization of Bacterial Cellulose from Citrus Peels. **Waste and Biomass Valorization**, v. 10, n. 8, p. 2165–2175, 2019.

HAMEED, B. H.; DIN, A. T. M.; AHMAD, A. L. Adsorption of methylene blue onto bamboo-based activated carbon: Kinetics and equilibrium studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 141, n. 3, p. 819–825, 2007.

HINES, A. L.; MADDOX, R. N. **Mass transfer: fundamentals and applications**. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1985.

HOLKAR, C. R. et al. A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches. **Journal of Environmental Management**, v. 182, p. 351–366, 2016.

HU, Y. et al. Bacterial cellulose derived paper-like purifier with multifunctionality for water decontamination. **Chemical Engineering Journal**, v. 371, p. 730–737, 2019a.

HU, Y. et al. Handy purifier based on bacterial cellulose and Ca-montmorillonite composites for efficient removal of dyes and antibiotics. **Carbohydrate Polymers**, v. 222, p. 115017, 2019b.

HU, Y.; CATCHMARK, J. M. Formation and characterization of spherelike bacterial cellulose particles produced by *acetobacter xylinum* JCM 9730 strain. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 7, p. 1727–1734, 2010.

HU, Y.; CATCHMARK, J. M.; VOGLER, E. A. Factors impacting the formation of sphere-like bacterial cellulose particles and their biocompatibility for human osteoblast growth. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 10, p. 3444–3452, 2013.

HUANG, X. et al. Amino-functionalized magnetic bacterial cellulose/activated carbon composite for Pb<sup>2+</sup> and methyl orange sorption from aqueous solution. **Journal of Materials Science and Technology**, v. 34, n. 5, p. 855–863, 2018.

HUANG, Y. et al. Recent advances in bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 21, n. 1, p. 1–30, 2014.

HUY, B. T. et al. ZnO-Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/graphitic carbon nitride photocatalytic system with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-assisted enhanced degradation of Indigo carmine under visible light. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 3790–3800, 2020.

ILLA, M. P.; SHARMA, C. S.; KHANDELWAL, M. Tuning the physiochemical properties of bacterial cellulose: effect of drying conditions. **Journal of Materials Science**, v. 54, n. 18, p. 12024–12035, 2019.

ION, V. A.; PÂRVULESCU, O. C. Volatile organic compounds adsorption onto neat and hybrid bacterial cellulose. **Applied Surface Science**, v. 335, p. 137–146, 2015.

ISIK, M.; SARDON, H.; MECERREYES, D. Ionic liquids and cellulose: Dissolution, chemical modification and preparation of new cellulosic materials. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 7, p. 11922–11940, 2014.

JACEK, P. et al. Modification of bacterial nanocellulose properties through mutation of motility related genes in *Komagataeibacter hansenii* ATCC 53582. **New Biotechnology**, v. 52, p. 60–68, 2019.

JAHAN, K. et al. Bacterial Cellulose - Polyaniline Porous Mat for Removal of Methyl Orange and Bacterial Pathogens from Potable Water. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 29, p. 1257–1270, 2020.

JANUÁRIO, E. F. et al. Functionalization of membrane surface by layer-by-layer self-assembly method for dyes removal. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 134, p. 140–148, 2020.

JEGATHEESAN, V. et al. Treatment of textile wastewater with membrane bioreactor: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 204, p. 202–212, 2016.

JIANG, Z.; HU, D. Molecular mechanism of anionic dyes adsorption on cationized rice husk cellulose from agricultural wastes. **Journal of Molecular Liquids**, v. 276, p. 105–114, 2019.

KAMAL, T. et al. Adsorption and photocatalyst assisted dye removal and bactericidal performance of ZnO/chitosan coating layer. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 584–590, 2015.

KAMAL, T. et al. Bacterial cellulose as support for biopolymer stabilized catalytic cobalt nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 1162–1170, 2019.

KATHERESAN, V.; KANSEDO, J.; LAU, S. Y. Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, p. 4676–4697, 2018.

KEIJZER, M. DE. et al. Indigo carmine: Understanding a problematic blue dye. **Studies in Conservation**, v. 57, p. S87–S95, 2012.

KEKES, T.; TZIA, C. Adsorption of indigo carmine on functional chitosan and  $\beta$ -cyclodextrin/chitosan beads: Equilibrium, kinetics and mechanism studies. **Journal of Environmental Management**, v. 262, p. 110372, 2020.

KHADHRI, N.; KHAMES, S.M.; MOSBAH, M. B; MOUSSAOUI, Y. Batch and continuous column adsorption of indigo carmine onto activated carbon derived from date palm petiole, **J. Environ. Chem. Eng.** v.7, n. 1, p. 102775, 2019.

KLEMM, D. et al. Bacterial synthesized cellulose — artificial blood vessels for microsurgery. **Progress in Polymer Science**, v. 26, n. 9, p. 1561–1603, 2001.

KLEMM, D., HEUBLEIN, B., FINK, H.P., BOHN, A. Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. **Angewandte Chemie – International Edition** v. 44 n. 22, p. 3358–3393. 2005.

KLEMM, D., KRAMER, F., MORITZ, S., LINDSTRÖM, T., ANKERFORS, M., GRAY, D., DORRIS, A. Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 24, p. 5438–5466, 2011.

KOCH, M.; YEDILER, A. Ozonation of hydrolyzed azo dye reactive yellow 84 (CI). **Chemosphere**, v. 46, p. 109–113, 2002.

KUNZ, A. et al. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 78–82, 2002.

KUO, C. H. et al. Hydrolysis of Orange Peel with Cellulase and Pectinase to Produce Bacterial Cellulose using *Gluconacetobacter xylinus*. **Waste and Biomass Valorization**, v. 10, n. 1, p. 85–93, 2019.

KUSMIEREK, K.; SWIATKOWSKI, A. The influence of different agitation techniques on the adsorption kinetics of 4-chlorophenol on granular activated carbon. **Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis**, v. 116, p. 261–271, 2015.

LIMA, L. R. et al. Nanocristais de celulose a partir de celulose bacteriana. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1140–1147, 2015.

LIU, J. et al. Removal of heavy metal ions and anionic dyes from aqueous solutions using amide-functionalized cellulose-based adsorbents. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, p. 115619, 2020.

LIU, K.; CATCHMARK, J. M. Enhanced mechanical properties of bacterial cellulose nanocomposites produced by co-culturing *Gluconacetobacter hansenii* and *Escherichia coli* under static conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 219, p. 12–20, 2019.

LIU, Q. et al. Superior adsorption capacity of functionalised straw adsorbent for dyes and heavy-metal ions. **Journal of Hazardous Materials**, p. 121040, 2019.

LU, M. et al. Thermodynamics and kinetics of adsorption for heavy metal ions from aqueous solutions onto surface amino-bacterial cellulose. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China (English Edition)**, v. 24, n. 6, p. 1912–1917, 2014.

MA, H. et al. Ultrahigh adsorption capacities for anionic and cationic dyes from wastewater using only chitosan. **Journal of Cleaner Production**, v. 214, p. 89–94, 2019.

MACHADO, V. T.; CANDEIA, R. A.; FARIAS, C. A. S. DE. Gestão ambiental adotada em indústria têxtil do sertão da Paraíba. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 8, n. 4, p. 267–283, 2019.

MAI, T. et al. In situ anchoring Zn-doped ZIF-67 on carboxymethylated bacterial cellulose for effective indigo carmine capture. **Nanoscale**, v. 13, n. 43, p. 18210–18217, 2021.

MANJOT, TOOR; BO, J. Adsorption characteristics, isotherm, kinetics, and diffusion of modified natural bentonite for removing diazo dye. **Chemical Engineering Journal**, v. 187, p. 79–88, 2012.

MCCABE, W. L., SMITH, J. C., HARRIOTT, P. **Unit operations of chemical engineering**. v. 5, p. 154. New York: McGraw-Hill. 1993.

MCKAY, G.; OYRWSURN, M. S. The removal of colour from effluent using various adsorbents-III Silica: rate processes. **Water Research**, v. 14, p. 15–20, 1980.

MENG, C. et al. Controllable synthesis uniform spherical bacterial cellulose and their potential applications. **Cellulose**, v. 26, p. 8325–8336, 2019.

MITTAL, A.; MITTAL, J.; KURUP, L. Batch and bulk removal of hazardous dye, indigo carmine from wastewater through adsorption. **Journal of Hazardous Materials**, v. 137, n. 1, p. 591–602, 2007.

MOHITE, B. V.; PATIL, S. V. Bacterial cellulose of *Gluconoacetobacter hansenii* as a potential bioadsorption agent for its green environment applications. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 25, n. 18, p. 2053–2065, 2014a.

MOHITE, B. V.; PATIL, S. V. Physical, structural, mechanical and thermal characterization of bacterial cellulose by *G. hansenii* NCIM 2529. **Carbohydrate Polymers**, v. 106, n. 1, p. 132–141, 2014b.

MONTGOMERY, D.C. **Diseño y análisis de experimentos**. Versão traduzida. Mexico, Iberoamérica. 1991.

MOREIRA, P. N. T. **Planejamento e otimização de um método quimiluminescente para determinação da vitamina B12 usando um sistema fluxo-batelada**. 2009. 96 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.

NAGARAJ, A.; SADASIVUNI, K. K.; RAJAN, M. Investigation of lanthanum impregnated cellulose, derived from biomass, as an adsorbent for the removal of fluoride from drinking water. **Carbohydrate Polymers**, v. 176, p. 402–410, 2017.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2001.

NIKOUSEFAT, Z.; HASHEMNIA, M.; KARAMYAN, A. Potential of the ImageJ software in the differentiation of various types of canine lymphadenopathies with fine needle aspiration cytology (FNAC). **Comparative Clinical Pathology**, v. 27, p. 643–648, 2018.

OH, S. Y. et al. Crystalline structure analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide by means of X-ray diffraction and FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 340, n. 15, p. 2376–2391, 2005.

OLIVEIRA, L. V. F. et al. Free-standing cellulose film containing manganese dioxide nanoparticles and its use in discoloration of indigo carmine dye. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, n. August 2019, p. 115621, 2020.

OTHMAN, I.; MOHAMED, R. M.; IBRAHEM, F. M. Study of photocatalytic oxidation of indigo carmine dye on Mn-supported TiO<sub>2</sub>. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 189, n. 1, p. 80–85, 2007.

OZTURK, E. et al. Evaluation of Integrated Pollution Prevention Control in a textile fiber production and dyeing mill. **Journal of Cleaner Production**, v. 88, p. 116–124, 2015.

PASARIBU, K. M. et al. Characterization of bacterial cellulose-based wound dressing in different order impregnation of chitosan and collagen. **Biomolecules**, v. 10, n. 11, p. 1–15, 2020.

PASCHOAL, F. M. M.; TREMILIOSI-FILHO, G. Aplicação da tecnologia de eletrofloculação na recuperação do corante índigo blue a partir de efluentes industriais. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 766–772, 2005.

PERUZZO, L. C. **Influência de agentes auxiliares na adsorção de corantes de efluentes da indústria têxtil em colunas de leito fixo**. 2003. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia química) - Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

PICHETH, G. F. et al. Bacterial cellulose in biomedical applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 97–106, 2017.

PUTRA, A. et al. Tubular bacterial cellulose gel with oriented fibrils on the curved surface. **Polymer**, v. 49, p. 1885–1891, 2008.

RANI, M. U.; APPAIAH, A. Optimization of culture conditions for bacterial cellulose production from *Gluconacetobacter hansenii* UAC09. **Annals of Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 781–787, 2011.

RECOUVREUX, D. O. **Desenvolvimento de Novos Biomateriais Baseados em Celulose Bacteriana para Aplicações Biomédicas e de Engenharia de Tecidos**. 2008. 145 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

ROCHA, O. R. S. et al. Avaliação do processo adsorptivo utilizando mesocarpo de coco verde para remoção do corante cinza reativo BF-2R. **Química Nova**, v. 35, n. 7, p. 1369–1374, 2012.

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

ROY, D. et al. Cellulose modification by polymer grafting: a review. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 7, p. 2046–2064, 2009.

RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and adsorption processes**. John Wiley & Sons, 1984.

SALAMA, A.; ALJOHANI, H. A.; SHOUER, K. R. Oxidized cellulose reinforced silica gel: New hybrid for dye adsorption. **Materials Letters**, v. 230, p. 293–296, 2018.

SALGADO, B. C. B. et al. Decolorization of synthetic and laundry wastewater containing indigo and azo dyes by the Fenton, photolytic and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> processes. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 1–8, 2009.

SANTOS, S. M. et al. Characterization of purified bacterial cellulose focused on its use on paper restoration. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 173–181, 2015.

SHI, Z. et al. Utilization of bacterial cellulose in food. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 539–545, 2014.

SILVA, M. et al. Adsorção de Cd (II) por lama vermelha natural e com diferentes ativações. **Geochimica Brasiliensis**, v. 33, n. 1, p. 76–88, 2019.

SILVA, R. A. **Avaliação do ciclo de vida da produção de celulose bacteriana em diferentes meios de cultivo**. 2019. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2019.

SINGHSA, P.; NARAIN, R.; MANUSPIYA, H. Physical structure variations of bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter xylinus* strains and carbon sources in static and agitated conditions. **Cellulose**, v. 25, n. 3, p. 1571–1581, 2018.

SIYAL, A. A. et al. Fly ash based geopolymer for the adsorption of anionic surfactant from aqueous solution. **Journal of Cleaner Production**, v. 229, p. 232–243, 2019.

SOBREIRA, M. A. S. O estudo de têxteis no Brasil: uma pesquisa bibliométrica na base de dados Scielo. **Revista da Associação Brasileira de Estudos de Pesquisas em Moda**, v. 12, n. 25, p. 213–229, 2019.

SONG, K. et al. Cellulose nanocrystal-reinforced keratin bioadsorbent for effective removal of dyes from aqueous solution. **Bioresource Technology**, v. 232, p. 254–262, 2017.

SPEROTTO, G.; STASIAK, L. G.; GODOI, J. P. M. G.; GABIATTI, N. C.; DE SOUZA, S. S. A review of culture media for bacterial cellulose production: complex, chemically defined and minimal media modulations. **Cellulose**, v. 28, p. 2649–2673, 2021.

SUN, B. et al. In situ structural modification of bacterial cellulose by sodium fluoride. **Carbohydrate Polymers**, v. 231, p. 115765, 2020.

SZÓKE, Á. F. et al. Eco-friendly indigo carmine-loaded chitosan coatings for improved anti-corrosion protection of zinc substrates. **Carbohydrate Polymers**, v. 215, p. 63–72, 2019.

TAN, K. B. et al. Adsorption of dyes by nanomaterials: Recent developments and adsorption mechanisms. **Separation and Purification Technology**, v. 150, p. 229–242, 2015.

TIAN, D. et al. Enhancing bacterial cellulose production via adding mesoporous halloysite nanotubes in the culture medium. **Carbohydrate Polymers**, v. 198, p. 191–196, 2018.

TONETTO, M. L. **Tratamento de águas residuais da indústria têxtil utilizando celulose bacteriana**. 2018. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Energia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Araranguá, 2018.

TOUNSADI, H. et al. Ecotoxicology and Environmental Safety Impact of chemical substances used in textile industry on the employee's health: Epidemiological study. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 197, p. 1–7, 2020.

TYAGI, N.; THANGADURAI, P.; SURESH, S. Application of bacterial cellulose–silver nanoprism composite for detoxification of endosulfan and inactivation of *Escherichia coli* cells. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 1713–1726, 2020.

LEKSHMI, V. K. P.; YESODHARAN, S.; YESODHARAN, E. P.  $MnO_2$  and  $MnO_2/tiO_2$  mediated, persulphate enhanced photocatalysis for the removal of indigo carmine dye pollutant from water. **European Chemical Bulletin**, v. 6, n. 5, p. 177, 2017.

VIEIRA, S. E.; HOFFMANN, R. **Estatística Experimental**. Editora Atlas, São Paulo, 1989.

WAGH, P. B.; EL-AZABAWY, V. S. Removal of indigo carmine dye by using palm wood cellulose activated carbon in aqueous solution: A Kinetic and Equilibrium Study. **International Journal of Latest Technology in Engineering, Management & Applied Science**. v. 4, n. 7, p. 106–114, 2015.

WAGHMODE, T. R. et al. Sequential photocatalysis and biological treatment for the enhanced degradation of the persistent azo dye methyl red. **Journal of Hazardous Materials**, v. 371, p. 115–122, 2019.

WANG, J.; TAVAKOLI, J.; TANG, Y. Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 219, p. 63–76, 2019.

WANG, Y. et al. Accelerated azo dye removal by biocathode formation in single-chamber biocatalyzed electrolysis systems. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 740–743, 2013.



XU, R. et al. Preparation of mesoporous poly (acrylic acid)/SiO<sub>2</sub> composite nanofiber membranes having adsorption capacity for indigo carmine dye. **Applied Physics A: Materials Science and Processing**, v. 106, n. 3, p. 747–755, 2012.

YAGUB, M. T. et al. Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 209, p. 172–184, 2014.

YANG, Y. K. et al. Cellulose Production by *Acetobacter xylinum* BRCS under Agitated Condition. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 85, n. 3, p. 312–317, 1998.

YANG, Z. et al. In-situ functionalization of poly(m-phenylenediamine) nanoparticles on bacterial cellulose for chromium removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 344, p. 441–452, 2018.

YASEEN, D. A.; SCHOLZ, M. Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, 1193–1226, 2019.

YI, X. et al. Aramid nanofibers / Bacterial cellulose nanocomposite aerogels for high-efficient cationic dye removal. **Materials Chemistry and Physics**, v. 272, n. July, p. 124985, 2021.

YIN, N. et al. Characterization of antibacterial bacterial cellulose composite membranes modified with chitosan or chitooligosaccharide. **Carbohydrate Polymers**, v. 229, p. 115520, 2020a.

YIN, X. et al. Ultra-fine electrospun nanofibrous membranes for multicomponent wastewater treatment: Filtration and adsorption. **Separation and Purification Technology**, v. 242, p. 1–10, 2020b.

ZANONI, M. V. B.; YAMANAKA, H. **Corantes: Caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento**. 1 ed. Editora cultura acadêmica, São Paulo. 2016.

ZHANG, J.; ZHOU, Q.; OU, L. Desalination and Water Treatment Removal of indigo carmine from aqueous solution by microwave-treated activated carbon from peanut shell. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 2, p. 718–727, 2016.

ZHANG, Y. et al. Synthesis of cationic-modified silica gel and its adsorption properties for anionic dyes. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 102, p. 1–8, 2019.

ZHANG, Y.; LIU, L. Fly ash-based geopolymer as a novel photocatalyst for degradation of dye from wastewater. **Particuology**, v. 11, n. 3, p. 353–358, 2013.

ZHIJIANG, C.; CHENGWEI, H.; GUANG, Y. Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)/bacterial cellulose composite porous scaffold: Preparation, characterization and biocompatibility evaluation. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 1073–1080, 2012.

ZHONG, C. et al. Metabolic flux analysis of *Gluconacetobacter xylinus* for bacterial cellulose production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 14, p. 6189–6199, 2013.

ZHU, H. et al. Preparation and application of bacterial cellulose sphere: A novel biomaterial. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 25, n. 1, p. 2233–2236, 2011.

**APÊNDICE A – Resultados da análise ANOVA do modelo experimental para a remoção de IC por esferas de CB.**

	SS	df	MS	F	p
<b>CB seca (mg) (L)</b>	<b>257,4849</b>	<b>1</b>	<b>257,4849</b>	<b>31,7247</b>	<b>0,0048</b>
<b>CB seca (mg) (Q)</b>	2,2520	1	2,2520	0,2772	0,6262
<b>Agitação (rpm) (L)</b>	<b>543,3434</b>	<b>1</b>	<b>543,3434</b>	<b>66,9453</b>	<b>0,0012</b>
<b>Agitação (rpm) (Q)</b>	0,7155	1	0,7155	0,08816	0,7813
<b>1Lby2L</b>	37,3321	1	37,3321	4,5996	0,0985
<b>Erro</b>	32,4649	4	8,1162		
<b>Total SS</b>	<b>875,5935</b>	<b>9</b>			

SS – Soma dos quadrados; df- Graus de liberdade; MS – Quadrados médios; F – teste de Fisher.