



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CAMPUS DE JOINVILLE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIAS MECÂNICAS

Kamila Trainotti

**Membrana Híbrida de Nanocelulose Bacteriana com Lignina Incorporada *In situ*
para Aplicações como Membrana de Troca de Prótons**

Joinville

2026

Kamila Trainotti

**Membrana Híbrida de Nanocelulose Bacteriana com Lignina Incorporada *In situ*
para Aplicações como Membrana de Troca de Prótons**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Mecânicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciências Mecânicas.

Orientadora: Profa. Derce de Oliveira Souza Recouvreux, Dra.

Joinville

2026

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

Trainotti, Kamila

Membrana Híbrida de Nanocelulose Bacteriana com Lignina Incorporada In situ para Aplicações como Membrana de Troca de Prótons / Kamila Trainotti; orientador, Derce de Oliveira Souza Recouvreux, 2026.

81 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Joinville, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Mecânicas, Joinville, 2026.

Inclui referências.

1. Engenharia e Ciências Mecânicas. 2. Membrana de troca de prótons sustentável. 3. Células a combustível. 4. Nanocelulose bacteriana. 5. Biossíntese in situ. I. Recouvreux, Derce de Oliveira Souza. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Mecânicas. III. Título.

Kamila Trainotti

**Membrana Híbrida de Nanocelulose Bacteriana com Lignina Incorporada *In situ*
para Aplicações como Membrana de Troca de Prótons**

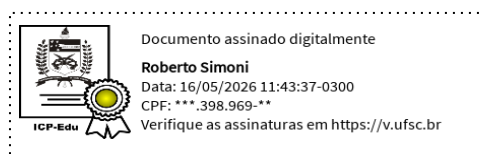
O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 29 de abril de 2026, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Claudimir Antonio Carminatti, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

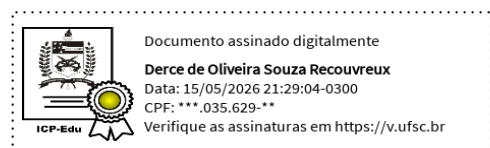
Letícia de Souza, Dr.^a
Rumo Logística
Curitiba-PR

Tatiana Gisset Pineda-Vásquez, Dr.^a
Graduate Program in Industrial Chemistry, Metropolitan Technological Institute –
(ITM), Medellín, Colombia

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciências
Mecânicas.



Prof. Roberto Simoni, Dr.
Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Prof.^a Derce de Oliveira Souza Recouvreux, Dr.^a
Orientadora

Joinville, 2026.

Dedico este trabalho à minha orientadora de pesquisa, Prof^a. Derce, que me guiou em cada passo e me ensinou com dedicação e paciência a realizar esta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Mecânicas pela oportunidade de aprendizado e desenvolvimento acadêmico.

Ao Professor Claudimir Antonio Carminatti, à Dra. Letícia de Souza e à Professora Tatiana Gisset Pineda-Vásquez, por aceitarem o convite para compor a banca examinadora e por contribuírem com seus conhecimentos para o aprimoramento deste trabalho.

À minha orientadora, Professora Derce, por todo o conhecimento compartilhado, apoio e incentivo nessa jornada. Por ter sido mais do que uma orientadora — uma amiga e uma verdadeira inspiração.

Na natureza nada se cria, nada se perde,
tudo se transforma (LAVOISIER, Antoine).

RESUMO

A produção de membranas de troca de prótons (MTPs) a partir de materiais renováveis tem se destacado como uma alternativa sustentável às membranas comerciais à base de fluoropolímeros, como a Nafion®. Nesse contexto, a nanocelulose bacteriana (NCB) apresenta-se como uma matriz promissora devido à sua elevada pureza, cristalinidade, estrutura nanofibrilar e estabilidade mecânica. A incorporação *in situ* de lignina durante a biossíntese da NCB possibilita a obtenção de membranas híbridas funcionalizadas, combinando as propriedades estruturais da celulose com a natureza aromática e funcional da lignina. Este trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar membranas de nanocelulose bacteriana/lignina (NCB/Lig) produzidas por incorporação *in situ* de lignina Kraft, avaliando o efeito dessa modificação nas propriedades físico-químicas, mecânicas, térmicas e eletroquímicas do material. As membranas foram obtidas por cultivo estático de *Komagataeibacter hansenii*, com adição controlada de lignina solubilizada. As caracterizações incluíram absorção de água, porosidade, capacidade de troca iônica (IEC), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X (DRX), análise termogravimétrica (TGA) e ensaios mecânicos. Os resultados indicam que a lignina foi incorporada de forma homogênea à rede celulósica, promovendo aumento na densidade de grupos hidroxila e carboxila, o que favorece a condução protônica. Os valores de IEC (5,22 mmol/g) mostraram-se consistentes com a literatura, evidenciando que a modificação química da celulose contribui para o aumento da capacidade de troca iônica. As micrografias de MEV demonstraram que o tratamento alcalino em temperaturas elevadas proporciona um equilíbrio adequado entre eficiência de purificação e integridade estrutural, enquanto condições mais brandas favorecem a retenção de lignina em detrimento da remoção de impurezas. Os espectros de FTIR confirmaram a incorporação da lignina e evidenciaram a influência dos tratamentos de purificação na composição química final das membranas. A análise integrada das propriedades mecânicas, estruturais e térmicas revelou que a incorporação de lignina induz modificações estruturais significativas que impactam diretamente o desempenho do material. Teores moderados de lignina resultaram em redução da rigidez e aumento da ductilidade, enquanto teores mais elevados podem promover efeito de reforço, dependendo da dispersão e das interações interfaciais. O desempenho eletroquímico foi avaliado em células a combustível microbianas (MFCs), nas quais as membranas NCB/Lig apresentaram desempenho superior em relação à NCB pura. Entre as amostras, a membrana NCB/Lig 2 destacou-se, atingindo maior potencial de saída (~30 mV), atribuído ao equilíbrio entre cristalinidade, retenção de água e transporte de prótons. De modo geral, a incorporação *in situ* da lignina mostrou-se uma estratégia eficaz e sustentável para ajustar as propriedades físico-químicas e eletroquímicas das membranas. Dessa forma, as membranas NCB/Lig apresentam potencial como alternativa ecológica às MTPs comerciais, com aplicações promissoras em células a combustível microbianas e outros sistemas bioeletroquímicos voltados à geração de energia limpa.

Palavras-chave: Membrana de troca de prótons sustentável, células a combustível, nanocelulose bacteriana; lignina; biossíntese *in situ*.

ABSTRACT

The development of proton exchange membranes (PEMs) from renewable materials has emerged as a sustainable alternative to commercial fluoropolymer-based membranes such as Nafion®. In this context, bacterial nanocellulose (BNC) stands out as a promising matrix due to its high purity, crystallinity, nanofibrillar structure, and mechanical stability. The *in-situ* incorporation of lignin during BNC biosynthesis enables the production of functionalized hybrid membranes, combining the structural properties of cellulose with the aromatic and functional nature of lignin. This study aimed to develop and characterize bacterial nanocellulose/lignin (BNC/Lig) membranes produced via *in situ* incorporation of Kraft lignin, evaluating the effects of this modification on the physicochemical, mechanical, thermal, and electrochemical properties of the material. The membranes were obtained through static cultivation of *Komagataeibacter hansenii*, with controlled addition of solubilized lignin. Characterization techniques included water uptake, porosity, ion exchange capacity (IEC), scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (XRD), thermogravimetric analysis (TGA), and mechanical testing. The results indicate that lignin was homogeneously incorporated into the cellulose network, increasing the density of hydroxyl and carboxyl groups, which favors proton conduction. IEC values (5.22 mmol/g) were consistent with the literature, confirming that chemical modification of cellulose enhances ion exchange capacity. SEM micrographs showed that alkaline treatment at elevated temperatures provides an optimal balance between purification efficiency and structural integrity, whereas milder conditions favor lignin retention at the expense of effective impurity removal. FTIR spectra confirmed the successful incorporation of lignin and demonstrated that purification treatments directly influence the final chemical composition of the membranes. The integrated analysis of mechanical, structural, and thermal properties revealed that lignin incorporation induces significant structural changes that directly impact material performance. Moderate lignin contents led to reduced stiffness and increased ductility, while higher contents may promote a reinforcing effect depending on dispersion and interfacial interactions. Electrochemical performance was evaluated in microbial fuel cells (MFCs), where BNC/Lig membranes outperformed pristine BNC. Among the samples, the BNC/Lig 2 membrane exhibited the best performance, achieving a higher output potential (~30 mV), attributed to an optimal balance between crystallinity, water retention, and proton transport. Overall, the *in-situ* incorporation of lignin proved to be an effective and sustainable strategy to tailor the physicochemical and electrochemical properties of BNC-based membranes. Thus, BNC/Lig membranes show strong potential as eco-friendly alternatives to conventional PEMs, with promising applications in microbial fuel cells and other bioelectrochemical systems for clean energy generation.

Keywords: Sustainable Proton Exchange Membrane, fuel cells, bacterial nanocellulose; lignin; *in situ* biosynthesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Rede baseada em energias renováveis com células a combustível alimentadas por hidrogênio verde para diferentes aplicações diárias.	18
Figura 2 – O princípio básico de operação de uma célula de combustível MTP.	20
Figura 3 – Mecanismo Grotthus - percolação de prótons em moléculas de água através da MTP.	23
Figura 4 – Diagrama dos mecanismos de condução de prótons Grotthuss e veicular.	23
Figura 5 – Esquema de uma CCM de duas câmaras (anódica e catódica).	25
Figura 6 – Estrutura molecular da celulose, a cadeia glicosídica 1,4-β.	27
Figura 7 – Esquema da estrutura hierárquica da celulose, desde a fonte vegetal até o nível molecular.	28
Figura 8 – Esquema da estrutura molecular da celulose bacteriana e sua água livre e ligada.	30
Figura 9 – Nomenclatura dos monolignóis e seus resíduos.	35
Figura 10 – Processo de extração da lignina Kraft.	36
Figura 11 – Esquema do processo de preparação, caracterização e avaliação de membranas NCB/Lig.	39
Figura 12 – Modelo de CCM montado para a avaliação da membrana NCB/Lig como MTP.	46
Figura 12 – Representação esquemática do processo de preparação das membranas de nanocelulose bacteriana modificadas com lignina (NCB/Lig) por síntese <i>in situ</i>	50
Figura 14 - Imagens obtidas do MEV superfície e seção transversal em (a) e (b) NCB, (c) e (d) NCB/Lig 1, (e) e (f) NCB/Lig 2 e (g) e (h) NCB/Lig 3, respectivamente.	52
Figura 15 - Espectros FTIR-ATR das membranas.	57
Figura 16 - Curvas de análise termogravimétrica (TG) e suas derivadas (dTG) das membranas.	60
Figura 17 - Padrões de difração de raios X das membranas.	63
Figura 18 - Curva tensão-deformação das membranas.	65
Figura 19 - Curva de potencial em CCMs. As setas vermelhas indicam a realimentação após 48h, 144h e 228h de operação.	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estado da arte de membranas NCB/Lignina.	38
Tabela 2 - Composição lignina	40
Tabela 3 - Absorção de água, porosidade e IEC das membranas.	54
Tabela 4 - Principais bandas observadas nos espectros de FTIR das membranas de NCB, NCB/Lig e lignina Kraft, suas atribuições químicas e efeitos dos tratamentos de purificação	58
Tabela 5 - Propriedades mecânicas das membranas.	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ATR	Refletância total atenuada (<i>Attenuated total reflectance</i>)
ASTM	Sociedade Americana de Testes e Materiais (<i>American Society for Testing and Materials</i>)
CC	Célula a Combustível
CCM	Célula combustível microbiana
IEC	Capacidade de troca iônica (<i>Ion exchange capacity</i>)
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>)
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NCB	Nanocelulose bacteriana
NCC	Nanocristal de celulose
NFC	Nanofibra de celulose
MTP	Membrana de troca de prótons (<i>Proton exchange membrane</i>)
PEMFC	Célula a combustível de membrana de troca de prótons (<i>Proton exchange membrane fuel cell</i>)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	OBJETIVO GERAL	17
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	CÉLULA COMBUSTÍVEL	18
2.2	CÉLULA A COMBUSTÍVEL DE MEMBRANA DE TROCA DE PRÓTONS	19
2.2.1	Princípio de Funcionamento da PEMFC	19
2.2.1.1	Ânodo.....	20
2.2.1.2	Cátodo.....	20
2.2.1.3	Membrana de Troca de Prótons (MTP).....	21
2.2.1.4	Transporte de prótons pela MTP.....	22
2.3	CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA (CCM)	23
2.4	MEMBRANAS COM BASE EM BIOPOLÍMEROS	26
2.5	CELULOSE.....	27
2.5.1	Nanocelulose.....	28
2.5.2	Nanocelulose Bacteriana	29
2.6	MODIFICAÇÕES DA NANOCELULOSE BACTERIANA	30
2.6.1	Modificações químicas.....	31
2.6.2	Modificações físicas	31
2.6.3	Modificações enzimáticas e biológicas	32
2.6.4	Modificações <i>in situ</i> e <i>ex situ</i>.....	32
2.7	LIGNINA.....	34
2.7.1	Estrutura molecular da lignina.....	34
2.7.2	Lignina Kraft.....	35
2.8	ESTADO DA ARTE DE MEMBRANAS NCB/LIGNINA	36
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
3.1	MATERIAIS.....	39
3.1.1	Lignina Kraft.....	40
3.2	PREPARAÇÃO DE MEMBRANAS	40
3.2.1	Produção de membranas de NCB	40
3.2.2	Incorporação <i>in situ</i> de lignina em membranas de NCB	41
3.3	CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS.....	42

3.3.1	Capacidade de Absorção de Água	42
3.3.2	Porosidade	42
3.3.3	Capacidade de Troca Iônica (IEC)	43
3.3.4	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	43
3.3.5	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) 44	
3.3.6	Análise termogravimétrica (TGA)	44
3.3.7	Análise Difração de Raios-X (DRX).....	45
3.3.8	Ensaio mecânico.....	45
3.4	AVALIAÇÃO DA MEMBRANA COMO MTP EM CCM	46
3.4.1	Configuração da CCM.....	46
3.4.2	Montagem da CCM.....	47
3.4.3	Medidas de Tensão e Cálculos Eletroquímicos	47
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1	PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS DE NANOCELULOSE BACTERIANA <i>IN SITU</i> MODIFICADAS COM LIGNINA.....	49
4.2	CARACTERIZAÇÕES.....	50
4.2.1	Análise da morfologia e microestrutura (MEV)	50
4.2.2	Absorção de água, porosidade e IEC das membranas.....	53
4.2.3	Análise dos espectros de FTIR das membranas.....	55
4.2.4	Análise termogravimétrica (TG/dTG) das membranas.	58
4.2.5	Análise da Difração de Raios-X (DRX) das membranas.	61
4.2.6	Ensaio mecânico.....	63
4.3	AVALIAÇÃO DA CURVA DE POTENCIAL EM CCM.....	67
5	CONCLUSÕES.....	69
	REFERÊNCIAS	70

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a crescente demanda global por fontes de energia limpa e renovável tem estimulado o desenvolvimento de tecnologias mais sustentáveis e eficientes, capazes de substituir materiais sintéticos derivados de petróleo. Dentre essas tecnologias, as células a combustível se destacam por promoverem a conversão eletroquímica direta da energia química em energia elétrica, apresentando alta eficiência energética e baixas emissões de poluentes (Abouricha et al., 2024). Um dos componentes mais críticos desses dispositivos é a membrana de troca de prótons (MTP, do inglês *Proton Exchange Membrane*), responsável por permitir o transporte seletivo de íons H^+ enquanto impede a passagem de elétrons e outros gases.

As MTPs comerciais mais utilizadas, como aquelas baseadas no polímero perfluorado Nafion[®], apresentam alta condutividade protônica em ambientes úmidos, mas enfrentam limitações significativas: elevado custo (US\$ 600 e 1200/m² (Löser, 2011)), degradação em ambientes altamente ácidos ou a altas temperaturas, baixa biodegradabilidade e impacto ambiental negativo (Wang et al., 2025; Ye et al., 2018). Por isso, a substituição por membranas baseadas em materiais naturais e renováveis tem sido alvo de intensa pesquisa.

Materiais sustentáveis e de alto desempenho tem impulsionado o desenvolvimento de membranas funcionais baseadas em biopolímeros (Abouricha et al., 2024). Esses materiais, derivados de fontes renováveis como o amido, celulose, quitina, alginato, vêm sendo amplamente explorados por sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e menor impacto ambiental em comparação aos polímeros sintéticos (Myrzakhmetov et al., 2023; Thambiliyagodage et al., 2023; Xu et al., 2021). As membranas produzidas a partir desses biopolímeros têm encontrado aplicações promissoras em diversas áreas como filtração de água (Gough et al., 2021), separação de gases, engenharia de tecidos e liberação controlada de fármacos (Lin; Dufresne, 2014). Além disso, avanços recentes na modificação química e técnicas de processamento têm possibilitado a obtenção de estruturas com propriedades físico-químicas ajustáveis, tornando essas membranas alternativas viáveis e competitivas frente aos materiais tradicionais (Eyley; Thielemans, 2014).

Entre esses biopolímeros, a nanocelulose bacteriana (NCB) destaca-se por suas excelentes propriedades mecânicas, elevada pureza, alta área superficial específica e capacidade de formar redes tridimensionais altamente porosas. Tais

características tornam a NCB uma promissora matriz para o desenvolvimento de membranas de troca de prótons (MTPs), componentes essenciais em dispositivos eletroquímicos como células a combustível (Yang et al., 2024b; Zhang et al., 2025).

Entretanto, a NCB, por si só, apresenta limitações em relação à sua condutividade protônica, o que restringe seu uso direto em aplicações eletroquímicas. Uma abordagem promissora para superar essa limitação é a modificação química ou física da NCB com materiais que promovam a condução de prótons. Nesse contexto, a lignina, um polímero aromático abundante, subproduto da indústria de papel e celulose, tem despertado interesse devido à sua estrutura funcional rica em grupos fenólicos e carboxílicos, os quais podem favorecer a formação de caminhos para o transporte de prótons (Souza et al., 2023; Tian et al., 2021).

Embora existam estudos com a adição física ou pós-tratamento de lignina, a incorporação *in situ* — isto é, conduzida simultaneamente à biossíntese da nanocelulose, representa uma estratégia inovadora que possibilita a incorporação da lignina diretamente na rede tridimensional em formação, promovendo maior homogeneidade estrutural, melhor dispersão na matriz e interações intermoleculares mais eficientes quando comparada às abordagens de modificação pós-síntese (Souza et al., 2023).

A modificação *in situ* pode evitar etapas de processamento posteriores, tornando o método mais sustentável e economicamente viável. Membranas desenvolvidas por essa abordagem têm apresentado melhorias significativas na condutividade iônica, capacidade de troca de prótons e estabilidade em meio aquoso, o que as torna candidatas promissoras para substituição parcial ou total de MTPs comerciais em aplicações como células a combustível, dispositivos de eletrólise e sensores eletroquímicos (Dos Santos et al., 2024; Gea et al., 2010; Zhang et al., 2019).

A presente pesquisa visa à incorporação *in situ* de lignina na estrutura da nanocelulose bacteriana, durante ou após sua biossíntese, com o objetivo de aprimorar suas propriedades funcionais para aplicação como membrana de troca de prótons (MTP). Essa estratégia favorece uma integração mais homogênea entre os componentes, potencializando a dispersão da lignina na matriz de NCB e otimizando, potencialmente, a condutividade iônica da membrana resultante. Além disso, a abordagem proposta representa uma rota inovadora e sustentável para a produção de MTPs, contribuindo para o desenvolvimento de aplicações em energia limpa e dispositivos eletroquímicos avançados.

1.1 OBJETIVO GERAL

Esta pesquisa tem como objetivo desenvolver uma membrana nanocompósito de NCB, funcionalizada com lignina incorporada *in situ*, visando aplicações como membrana de troca de prótons em células a combustível.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- a) Preparar membranas híbridas de NCB funcionalizadas com lignina, através da incorporação *in situ* da lignina, visando otimizar a condução de prótons.
- b) Caracterizar a morfologia, microestrutura, propriedades físicas e químicas, além das propriedades mecânicas das membranas de NCB funcionalizadas.
- c) Determinar a capacidade de troca iônica (IEC) das membranas de NCB produzidas.
- d) Avaliar a membrana desenvolvida como MTP em uma célula a combustível microbiana (CCM), monitorando e controlando os parâmetros operacionais (densidade de potência).

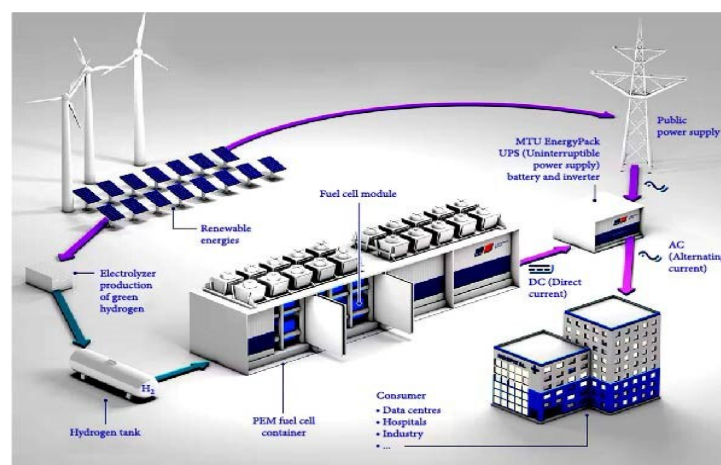
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo, são abordados os fundamentos essenciais para a compreensão dos temas relacionados às células a combustível e às membranas trocadoras de prótons baseadas em biopolímeros, com ênfase na NCB e na lignina.

2.1 CÉLULA COMBUSTÍVEL

As células a combustível têm despertado crescente interesse como fontes alternativas de energia devido à sua alta eficiência na conversão de energia química em elétrica e ao seu potencial de operar com baixa emissão de poluentes. Esses dispositivos eletroquímicos funcionam com base na reação entre um combustível (geralmente hidrogênio) e um agente oxidante (tipicamente oxigênio), produzindo eletricidade, água e calor como subprodutos (O'Hayre et al., 2016). Diferentemente dos motores de combustão, não ocorre queima no processo, e a geração de energia é contínua, desde que haja suprimento de combustível. A Figura 1 mostra fontes de energia renováveis, entre elas a célula combustível com MTP, integradas em uma rede que ajudam a compensar as flutuações na frequência da rede e variações de tensão. Isso ajudaria a garantir suprimentos de energia estáveis e resilientes à medida que as energias renováveis intermitentes crescem.

Figura 1 – Rede baseada em energias renováveis com células a combustível alimentadas por hidrogênio verde para diferentes aplicações diárias.



Fonte: Adaptado de Qasem; Abdulrahman (2024).

As células a combustível são constituídas principalmente por um ânodo, um cátodo e um eletrólito. O combustível, geralmente hidrogênio, é introduzido no ânodo, onde é ionizado, liberando prótons e elétrons. Os prótons atravessam o eletrólito, enquanto os elétrons circulam por um circuito externo, gerando a eletricidade. No cátodo, prótons e elétrons se recombinaem com o oxigênio, formando água como subproduto (O'Hayre et al., 2016).

Existem diferentes tecnologias de células de combustível, incluindo células de combustível de membrana de troca de prótons (PEMFCs), células de combustível de metanol direto ((DMFCs), células de combustível de óxido sólido (SOFCs), células de combustível de ácido fosfórico (PAFCs), células de combustível alcalinas (AFCs) e células de combustível de carbonato fundido (MCFCs), sendo que cada tipo atende a diferentes necessidades de aplicação, temperatura de operação, eficiência, e compatibilidade com certos combustíveis (Qasem; Abdulrahman, 2024). A tecnologia e os materiais usados para cada célula a combustível são otimizados de acordo com esses fatores, resultando em diferenças na estrutura, nas reações químicas e nas propriedades das células.

2.2 CÉLULA A COMBUSTÍVEL DE MEMBRANA DE TROCA DE PRÓTONS

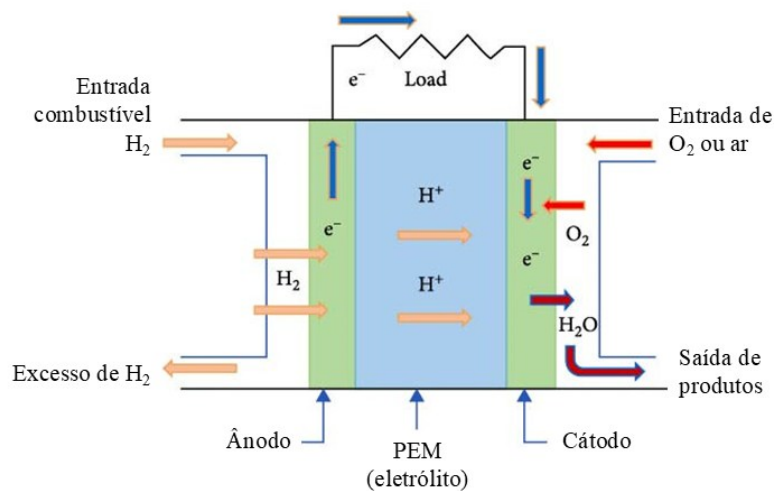
Célula a Combustível de Membrana de Troca de Prótons (PEMFC, do inglês *Proton Exchange Membrane Fuel Cells*) são um dos tipos mais populares de células a combustível, especialmente para aplicações em dispositivos portáteis e sistemas de energia estacionários de pequena escala. Essas células operam em temperaturas relativamente baixas, entre 60°C e 80°C, e são conhecidas por sua eficiência e resposta rápida, além de apresentarem um modelo compacto de estrutura. Existem diferentes tipos e configurações de membranas de troca de prótons utilizadas nas PEMFC, sendo as mais comuns as membranas do tipo H (forma protonada), amplamente empregadas devido à sua elevada condutividade protônica e estabilidade química em sistemas eletroquímicos. (Qasem; Abdulrahman, 2024).

2.2.1 Princípio de Funcionamento da PEMFC

A operação das PEMFCs baseia-se na conversão eletroquímica do hidrogênio em eletricidade, com a geração de água como subproduto. A estrutura básica da

célula é constituída por três componentes principais ânodo, cátodo e MTP (Qasem; Abdulrahman, 2024). O hidrogênio é fornecido ao ânodo, onde sofre oxidação, liberando prótons (H^+) e elétrons (e^-). Enquanto os elétrons percorrem um circuito externo gerando corrente elétrica, os prótons atravessam a MTP, alcançando o cátodo, onde reagem com oxigênio para formar água. A Figura 2 apresenta um esquema do princípio básico de operação de uma célula de combustível MTP.

Figura 2 – O princípio básico de operação de uma célula de combustível MTP.



Fonte: Adaptada de Qasem; Abdulrahman (2024).

2.2.1.1 Ânodo

O ânodo é a região da célula a combustível onde o hidrogênio é introduzido e catalisado, promovendo sua dissociação em prótons e elétrons. Essa reação de oxidação é facilitada por um catalisador, geralmente à base de platina. Os elétrons liberados não conseguem atravessar a membrana de troca de prótons, sendo forçados a percorrer um circuito externo, onde geram eletricidade (Qasem; Abdulrahman, 2024).

2.2.1.2 Cátodo

No cátodo, os prótons que atravessaram a membrana e os elétrons que percorreram o circuito externo reagem com o oxigênio proveniente do ar, formando água como subproduto da reação de redução. Essa etapa completa o ciclo

eletroquímico da célula a combustível, sendo essencial para o funcionamento eficiente do sistema (Qasem; Abdulrahman, 2024).

2.2.1.3 *Membrana de Troca de Prótons (MTP)*

A MTP é um material polimérico condutor iônico que permite o transporte seletivo de prótons (H^+) através de sua estrutura, ao mesmo tempo em que atua como barreira para elétrons e gases. Devido a essas características, esse tipo de membrana é amplamente utilizado em sistemas eletroquímicos, especialmente em células a combustível e processos de eletrólise (Qasem; Abdulrahman, 2024; Yang et al., 2024b).

Essas membranas são geralmente feitas de polímeros que contêm grupos funcionais capazes de se unir a íons específicos, sendo classificadas em dois tipos principais: as membranas catiônicas, que permitem a passagem de íons positivos (cátions), como sódio ou potássio, enquanto bloqueiam a passagem de ânions; e as membranas aniônicas, que permitem a passagem de íons negativos (ânions), como cloreto ou sulfato enquanto bloqueiam a passagem de cátions (Walkowiak-Kulikowska; Wolska; Koroniak, 2017). O funcionamento das membranas de troca iônica baseia-se em um princípio de troca, onde íons de uma solução que entram em contato com a membrana podem ser trocados por íons que estão ligados a ela. Esse processo é crucial em sistemas como as PEMFCs, onde a membrana permite a passagem de prótons do ânodo para o cátodo, enquanto impede o fluxo de elétrons, promovendo a reação eletroquímica que gera eletricidade (Perles, 2008; Walkowiak-Kulikowska; Wolska; Koroniak, 2017).

As membranas de troca de prótons devem apresentar propriedades mecânicas adequadas para garantir estabilidade estrutural, durabilidade e desempenho eletroquímico durante a operação. Entre as principais propriedades mecânicas desejáveis destacam-se alta resistência mecânica, boa resistência à tração, flexibilidade adequada, estabilidade dimensional, resistência à fadiga mecânica, baixa fragilidade e durabilidade química e mecânica combinadas. Essas propriedades são fundamentais para aumentar a vida útil e a eficiência de sistemas como PEMFC (Xue; Alnajideen; Navaratne, 2025).

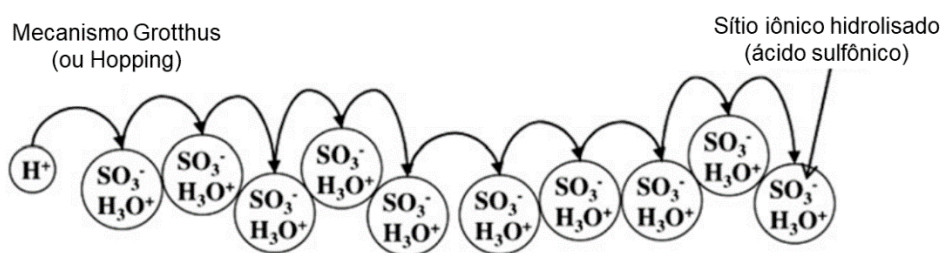
2.2.1.4 Transporte de prótons pela MTP

O mecanismo de transporte de prótons nessas membranas pode ser classificado, de forma geral, em dois tipos principais: (i) mecanismo de Grotthuss e (ii) mecanismo veicular (Asghar et al., 2025; Peighambardoust; Rowshanzamir; Amjadi, 2010).

No mecanismo de Grotthuss, também conhecido como mecanismo de "hopping", o próton (H^+) é transportado por meio de uma sequência de transferências entre sítios iônicos hidratados (como grupos sulfonados $-SO_3^-$ e íons hidrônio H_3O^+). Nesse processo, o próton gerado no ânodo se associa inicialmente a uma molécula de água, formando H_3O^+ , que então transfere o próton para outra molécula de água adjacente. Essa migração contínua ocorre na direção do cátodo, impulsionada pelo campo elétrico aplicado (Asghar et al., 2025; Peighambardoust; Rowshanzamir; Amjadi, 2010; Perles, 2008; Walkowiak-Kulikowska; Wolska; Koroniak, 2017). A Figura 3 ilustra esse processo de percolação protônica através da membrana, característico do mecanismo de Grotthuss (ou denominado de mecanismo Hopping).

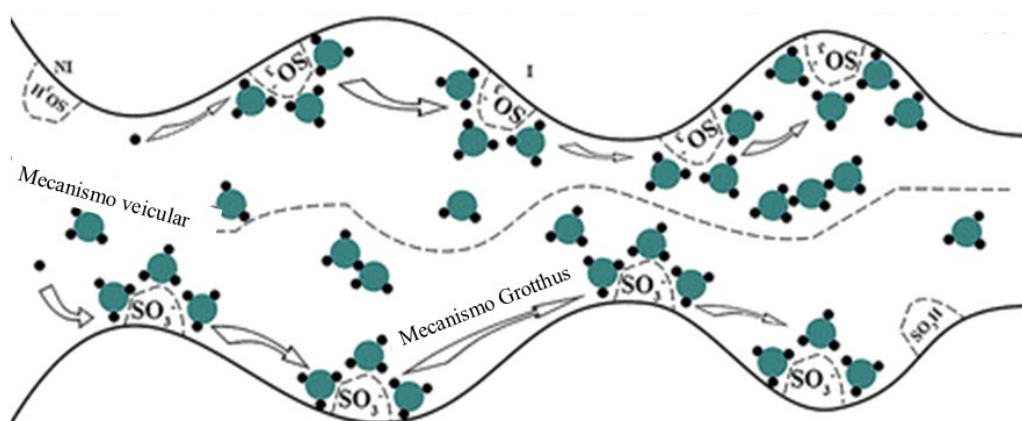
Já no mecanismo veicular, o transporte do H^+ ocorre por meio do deslocamento físico dos próprios íons hidrônio (H_3O^+) ou de outros cátions hidratados através do meio aquoso presente na membrana. Esse movimento ocorre por difusão e depende do alto coeficiente de difusão dos íons ($D = 2,25 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Esse mecanismo é altamente dependente da quantidade de água disponível na estrutura da membrana polimérica. Por isso, a capacidade de hidratação e retenção de água é um fator crítico para o bom desempenho da membrana. A falta de umidade compromete ambos os mecanismos de condução protônica, resultando em perda de eficiência na célula a combustível (Walkowiak-Kulikowska; Wolska; Koroniak, 2017). A Figura 4 ilustra o mecanismo veicular de transporte de prótons ao longo da membrana hidratada.

Figura 3 – Mecanismo Grotthus - percolação de prótons em moléculas de água através da MTP.



Fonte: Adaptado de (Peighambardoust; Rowshanzamir; Amjadi, 2010).

Figura 4 – Diagrama dos mecanismos de condução de prótons Grotthuss e veicular.



Fonte: Adaptado de (Asghar et al., 2025).

A condutividade de prótons em uma MTP está diretamente relacionada à sua composição química (por exemplo, concentração e tipo de grupos funcionais, morfologia e interações ácido-base). Asghar et al. (2025) analisaram o efeito de nanopartículas inorgânicas adicionadas nas MTPs, confirmando que interações químicas entre os componentes (membrana polimérica + aditivos inorgânicos) afetam diretamente mecanismos de condução protônica como Grotthuss e “veicular” (Asghar et al., 2025).

2.3 CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA (CCM)

As Células a Combustível Microbianas (CCMs), um tipo de célula a combustível, são dispositivos bioeletroquímicos que geram eletricidade por meio da atividade metabólica de microrganismos exoeletrogênicos. Esses microrganismos são

capazes de oxidar compostos orgânicos presentes em substratos, como matéria orgânica de águas residuais, e transferir os elétrons liberados para um eletrodo, gerando corrente elétrica. Esse processo converte diretamente a energia química armazenada nos compostos orgânicos em energia elétrica, de forma limpa e sustentável (Dwivedi et al., 2022; Logan et al., 2006).

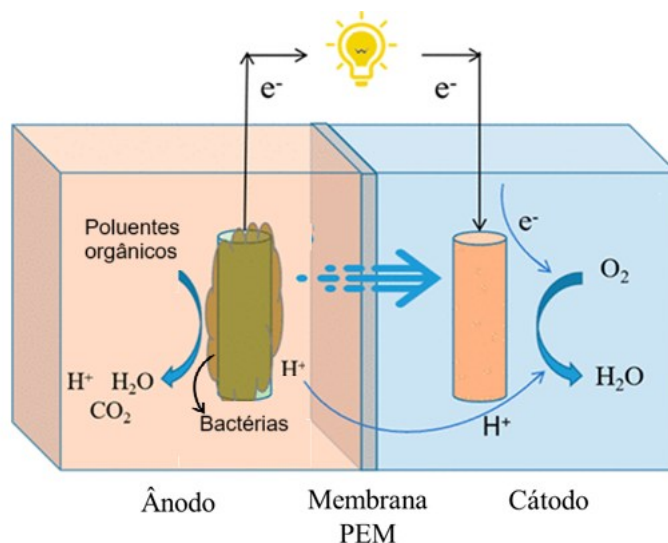
Atualmente, as CCMs estão sendo amplamente estudadas e desenvolvidas para diversas aplicações ambientais e tecnológicas. Entre as principais estão: o tratamento de águas residuais com simultânea geração de energia (Guo et al., 2020); a dessalinização de água, por meio de sistemas integrados como as células de dessalinização microbiana (Dongre et al., 2024); a alimentação de sensores remotos em locais de difícil acesso; e o desenvolvimento de biossensores para monitoramento ambiental e de processos biológicos (Cui; Lai; Tang, 2019; Liu; Cheng; Jia, 2024). Além disso, as CCMs oferecem potencial para serem utilizadas em áreas como biorremediação (Guadarrama-Pérez et al., 2019; Jain et al., 2023), produção de biohidrogênio (Sikarwar et al., 2025), fornecimento de energia em microrredes e dispositivos portáteis, reforçando seu papel como alternativa viável e renovável na matriz energética futura (Li et al., 2019).

Em comparação com células de combustível tradicionais, as CCMs podem ser relativamente baratas de construir, pois geralmente utilizam materiais facilmente disponíveis e resíduos como combustível.

Melhorar a potência de saída e a eficiência das CCMs, otimizando materiais de eletrodos e MTP, comunidades microbianas e condições operacionais são os desafios atuais.

A CCM é composta, basicamente, por dois compartimentos: o ânodo, que contém microrganismos eletrogênicos e substrato orgânico, e o cátodo, que contém oxigênio molecular comoceptor final de elétrons. Esses compartimentos são separados por uma MTP, responsável por permitir a passagem seletiva de íons H^+ , ao mesmo tempo em que impede a difusão de oxigênio para o lado anódico. A geração de energia ocorre por meio da atividade metabólica dos microrganismos, que oxidam o substrato no compartimento anódico, liberando elétrons e prótons. Os elétrons são transportados por um circuito externo, enquanto os prótons atravessam a membrana, completando o circuito eletroquímico no cátodo (Dwivedi et al., 2022).

Figura 5 – Esquema de uma CCM de duas câmaras (anódica e catódica).



Fonte: Adaptado de Li et al. (2024).

O grande desafio para um melhor rendimento da CCM é a durabilidade e o desempenho da MTP. A membrana tem a função de separar os lados do ânodo e do cátodo e conduzir os prótons.

A durabilidade e o desempenho da MTP representam um dos principais desafios para o aumento da eficiência das CCMs. Essa membrana exerce papel fundamental ao atuar na separação dos compartimentos anódico e catódico, além de viabilizar a condução seletiva de prótons no sistema (Rahimnejad et al., 2014).

As membranas atualmente utilizadas em células a combustível apresentam diversas propriedades desejáveis para sua operação. No entanto, nenhum material isolado consegue atender simultaneamente a todos os requisitos físico-químicos, eletroquímicos e mecânicos exigidos por esses sistemas. Tipicamente, as membranas condutoras de prótons utilizadas em CCMs têm como base polímeros sulfonados hidratados em sua forma protonada, os quais possibilitam a condução seletiva de prótons entre os compartimentos anódico e catódico (Subhadarshini et al., 2023).

Existem diversas configurações estruturais para as CCMs, cada uma adaptada a diferentes aplicações e condições operacionais. Nas CCMs de câmara dupla, o ânodo e o cátodo são alocados em compartimentos separados, sendo isolados por uma membrana de troca protônica (MTP), a qual permite a condução de prótons enquanto impede o contato direto entre os reagentes. Por outro lado, nas CCMs de câmara única, o cátodo não se encontra imerso em uma câmara aerada; em vez disso, ele é diretamente exposto ao oxigênio atmosférico, o que simplifica a

estrutura ao manter apenas a câmara anódica, reduzindo custos e complexidade operacional. Já as CCMs tubulares apresentam geometria cilíndrica, geralmente composta por uma câmara anódica interna, circundada por um cátodo externo exposto ao ar, sendo uma configuração adequada para aplicações contínuas ou em escala piloto (Jalili et al., 2024).

2.4 MEMBRANAS COM BASE EM BIOPOLÍMEROS

Polímeros naturais ou biopolímeros são candidatos ideais para o desenvolvimento de materiais ecologicamente corretos, biodegradáveis e biocompatíveis. Suas estruturas principais carregam grupos funcionais que permitem uma modificação fácil para dar origem a novas propriedades dentro do material ou para melhorar as existentes (Abouricha et al., 2024). Sua modificação pode ser química por reticulação, enxerto, eterificação e esterificação, ou física pela formação de compósitos, misturas e por plastificação (Walkowiak-Kulikowska; Wolska; Koroniak, 2017). As suas características sustentáveis os tornam uma alternativa atrativa em comparação com os polímeros sintéticos, derivados de recursos fósseis.

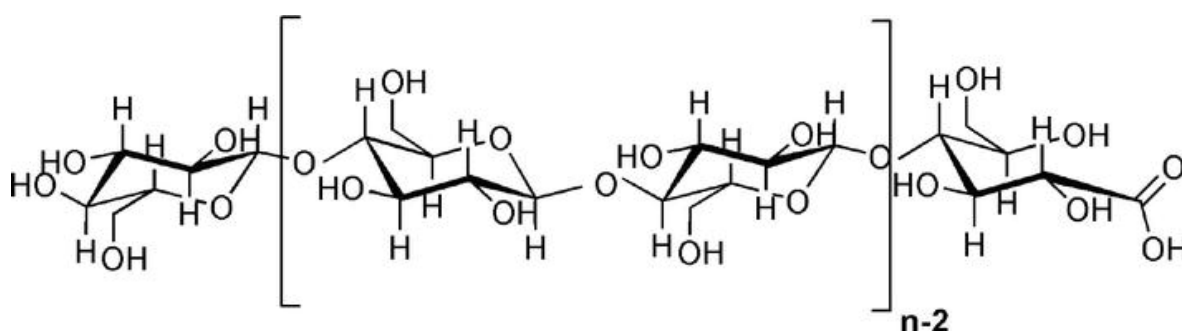
Nos últimos anos, biopolímeros têm se destacado em estudos como membranas de troca de prótons. Entre eles a celulose tem tido muito interesse devido suas vantagens como baixo custo, ecologicamente correta, hidrofílica - o que é crucial para o transporte de íons, e excelentes propriedades de barreira a gases (Li et al., 2022).

O biopolímero lignina, um composto complexo encontrado nas paredes celulares de plantas, que confere rigidez e resistência (Fazeli et al., 2024), tem sido explorado para a produção de materiais sustentáveis devido às suas propriedades mecânicas e químicas únicas (Balakshin et al., 2021). Além de ser uma alternativa para a fabricação de biocompósitos, a lignina também pode ser utilizada na produção de membranas, apresentando potencial para aplicações em separação e purificação, assim como em membranas para células a combustível (Fazeli et al., 2024; Souza et al., 2023). Essas são apenas algumas opções de biopolímeros que demonstram a versatilidade e a relevância em diversas áreas.

2.5 CELULOSE

A celulose é o biopolímero mais abundante na Terra e o maior conteúdo da biomassa vegetal. É um homopolissacarídeo linear composto por unidades de β -D-glicopiranoose ligadas por ligações glicosídicas β -(1,4), sendo a celobiose (um dímero de glicose) o segmento de repetição e cada unidade de glicose rotacionada em 180° em relação às suas vizinhas. Cada cadeia individual de celulose exibe dois grupos terminais distintos, uma extremidade com funcionalidade quimicamente redutora, ou seja, uma unidade hemiacetal, e a outra é uma extremidade não redutora com um grupo hidroxila pendente, como pode ser observado na Figura 6 (Vilela et al., 2019). O comprimento das cadeias poliméricas (grau de polimerização) da celulose depende da fonte de celulose e do método de isolamento (Amr; Ibrahim, 2022).

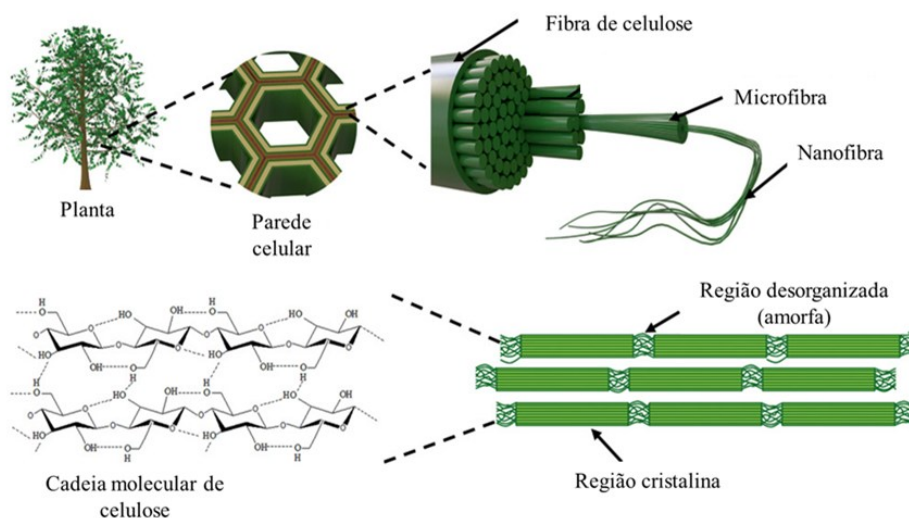
Figura 6 – Estrutura molecular da celulose, a cadeia glicosídica 1,4- β .



Fonte: Amr; Ibrahim (2022).

Estruturalmente, a celulose é um componente similar a uma fibra, como a encontrada na parede celular das plantas. Devido à existência de grupos hidroxila reativos (OH) em sua estrutura química, as cadeias poliméricas da celulose estabelecem extensas redes de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. Essas interações promovem a associação ordenada das cadeias, resultando na formação de nanofibrilas. Subsequentemente, múltiplas nanofibrilas se organizam em microfibrilas, as quais se agregam hierarquicamente para constituir as fibras de celulose que integram a parede celular vegetal (Lukova; Katsarov; Pilicheva, 2023; Pei et al., 2021). A celulose é um biopolímero semicristalino com um grau de cristalinidade na faixa de 40–70% porque contém regiões cristalinas (ordenadas) e amorfas (desordenadas) (Vilela et al., 2019). Essa estrutura é ilustrada na Figura 7.

Figura 7 – Esquema da estrutura hierárquica da celulose, desde a fonte vegetal até o nível molecular.



Fonte: Adaptado de (Pei et al., 2021).

A celulose é uma das principais fontes de materiais renováveis e tem aplicações em vários campos, incluindo sistemas de armazenamento de energia (Pei et al., 2021; Vilela et al., 2019). Muitas pesquisas indicam que a celulose desempenhará um papel fundamental no desenvolvimento de sistemas sustentáveis de armazenamento de energia eletroquímica devido à sua ampla disponibilidade, baixo custo, fácil restauração e natureza ambientalmente aceitável (Chakraborty et al., 2020; Muddasar et al., 2022; Wasim et al., 2021).

2.5.1 Nanocelulose

A nanocelulose é um material nanoestruturado derivado da celulose, principal componente das paredes celulares de plantas, algumas algas e certas bactérias. É composta por fibrilas de celulose com, pelo menos, uma dimensão em escala nanométrica (geralmente abaixo de 100 nm). Devido à sua abundância, biodegradabilidade, elevada resistência mecânica, baixa densidade, além de propriedades óticas e reológicas únicas, a nanocelulose tem atraído grande interesse em diversas áreas tecnológicas e industriais (Klemm et al., 2018).

A Associação Técnica da Indústria de Celulose e Papel (TAPPI), na norma WI 3021 (TAPPI, 2012), propôs definições e padrões para nanomateriais obtidos a partir

de celulose, dividindo esses nanomateriais em duas classes: (i) materiais nanoestruturados, constituídos por microcristais de celulose (CMC) e microfibras de celulose (CMF), e (ii) nanofibras, compreendendo três subcategorias, celulose nanofibrilada (NFC), nanocristal de celulose (CNC) e nanocelulose bacteriana (NCB), com base em suas estruturas e na técnica de isolamento aplicada (Gopi et al., 2019).

2.5.2 Nanocelulose Bacteriana

A NCB é uma forma altamente pura e cristalina de celulose produzida por alguns microrganismos, especialmente bactérias do gênero *Komagataeibacter* (anteriormente denominadas *Gluconacetobacter*). Diferentemente da celulose vegetal, a NCB é isenta de lignina, hemicelulose e outros componentes da parede celular de plantas, o que confere alta pureza e facilita seu uso em uma variedade de aplicações (De Oliveira Barud et al., 2016).

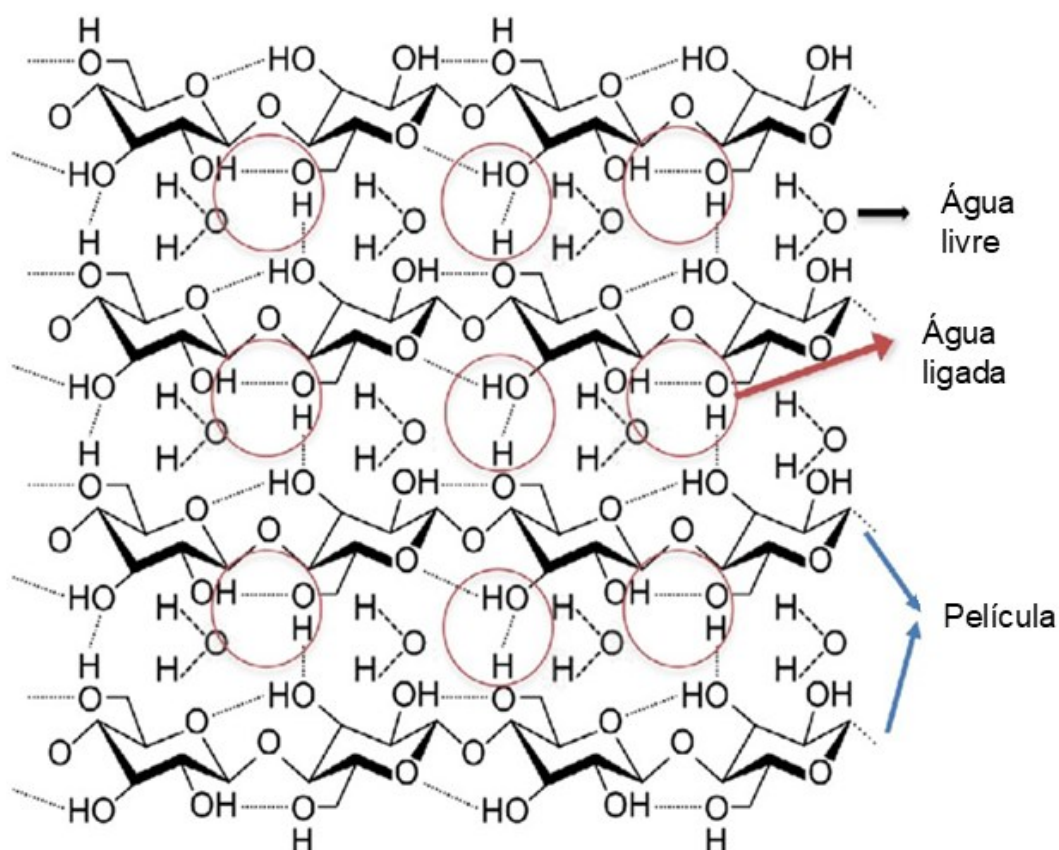
Durante o processo de cultivo, essas bactérias sintetizam e secretam cadeias de celulose que se auto-organizam em uma rede tridimensional de nanofibras com diâmetros menores que 100 nm. A estrutura resultante apresenta elevada cristalinidade, excelente resistência mecânica, alta capacidade de retenção de água e notável biocompatibilidade (Girard; Chaussé; Vermette, 2024)

Assim como a celulose de origem vegetal, a NCB é composta por longas cadeias de unidades de β -D-glucopiranosose ligadas entre si por ligações glicosídicas do tipo $\beta(1\rightarrow4)$, resultando na presença de grupos hidroxila livres em sua superfície. (Girard; Chaussé; Vermette, 2024). Embora tanto a NCB quanto a celulose vegetal compartilhem a mesma fórmula molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$, elas apresentam diferenças significativas em suas propriedades físico-químicas. A NCB exibe um índice cristalino mais elevado, maior capacidade de absorção de água e maior pureza (Amr; Ibrahim, 2022).

Ligações de hidrogênio e forças de van der Waals desempenham papéis significativos na organização das regiões cristalinas, contribuindo para a robustez e elasticidade do material. Além disso, essas ligações são responsáveis pela ligação das moléculas de água na estrutura da NCB. Além do baixo teor de celulose (aproximadamente 2% em massa), a NCB *in natura* é predominantemente constituída por água, que corresponde a cerca de 98% de sua composição total em massa. Aproximadamente 10% dessa água é considerada água livre, capaz de penetrar e sair

facilmente da estrutura molecular da NCB, enquanto o restante da água está ligado por meio de ligações de hidrogênio aos numerosos grupos hidroxila disponíveis (R. Rebelo et al., 2018), conforme ilustra a Figura 8.

Figura 8 – Esquema da estrutura molecular da celulose bacteriana e sua água livre e ligada.



Fonte: Adaptada de R. Rebelo et al. (2018).

2.6 MODIFICAÇÕES DA NANOCELULOSE BACTERIANA

A nanocelulose, em suas diferentes formas (NFC, CNC e nanocelulose bacteriana – NCB), possui excelente potencial para diversas aplicações tecnológicas. No entanto, para atender às exigências específicas de desempenho, estabilidade e funcionalidade, a nanocelulose é frequentemente submetida a processos de modificação, que podem ser classificados como físicos, químicos e enzimáticos, bem como realizados por via *in situ* ou *ex situ* (Habibi, 2014).

Essas modificações visam principalmente melhorar a dispersibilidade, aumentar a interação com outras matrizes poliméricas, conferir propriedades

funcionais específicas (como condutividade, capacidade de troca iônica, ou atividade antimicrobiana) e modificar a superfície para facilitar processos de processamento e manufatura (Dufresne, 2013; Saleh et al., 2024).

2.6.1 Modificações químicas

A modificação química envolve reações covalentes que alteram a estrutura superficial da nanocelulose. Por meio de processos como reações de esterificação, acetilação, carboxilação, oxidação, sulfonação ou enxertia de cadeias poliméricas (*graft polymerization*), é possível introduzir grupos funcionais específicos capazes de melhorar a interação com outros materiais ou conferir propriedades específicas como troca iônica e hidrofobicidade (Habibi, 2014).

2.6.2 Modificações físicas

A modificação física é considerada uma abordagem simples, não destrutiva e frequentemente reversível, na qual a estrutura da nanocelulose é modificada sem quebra de suas ligações covalentes. Essa modificação geralmente envolve a incorporação de nanopartículas, polímeros ou agentes em escala nanométrica, capazes de alterar a estrutura física, as propriedades mecânicas e as características de transporte da nanocelulose. A modificação física é considerada uma abordagem simples, não destrutiva e frequentemente reversível, na qual a estrutura da nanocelulose é modificada sem quebra de suas ligações covalentes. Essa modificação geralmente envolve a incorporação de nanopartículas, polímeros ou agentes em escala nanométrica, capazes de alterar a estrutura física, as propriedades mecânicas e as características de transporte da nanocelulose (Luz et al., 2024).

Por exemplo, a adição de nanopartículas metálicas (como prata ou óxidos metálicos) pode conferir propriedades antimicrobianas, enquanto a incorporação de polímeros condutores ou eletrólitos sólidos pode aumentar a condutividade elétrica ou iônica do material. Da mesma forma, polímeros naturais ou sintéticos (como álcool polivinílico (PVA), polietilenoglicol (PEG) ou quitosana) podem ser combinados com nanocelulose para melhorar flexibilidade, estabilidade térmica e resistência à umidade (Moon et al., 2011).

Esse tipo de modificação é amplamente utilizado em membranas de troca iônica e separação seletiva, onde agentes condutores ou polímeros sulfonados são fisicamente misturados à matriz de nanocelulose por meio da introdução de nanocargas condutivas (Vilela et al., 2019).

Além disso, por não envolver reações químicas agressivas, a modificação física preserva a biodegradabilidade da nanocelulose, sendo compatível com aplicações sustentáveis e ambientalmente seguras.

2.6.3 Modificações enzimáticas e biológicas

A modificação enzimática é uma abordagem mais recente e ambientalmente amigável que utiliza enzimas específicas para alterar seletivamente as superfícies da nanocelulose. Enzimas como celulases, lacases ou oxidasas podem atuar de forma controlada, promovendo a hidrólise parcial da superfície para ajuste da morfologia ou porosidade ou a introdução seletiva de grupos funcionais em regiões amorfas ou ainda o acoplamento de ligantes bioativos (Kaczmarek; Białkowska, 2025).

A principal vantagem da modificação enzimática é a alta seletividade e baixa agressividade química, sendo particularmente útil em aplicações biomédicas e farmacêuticas, onde a integridade estrutural e a biocompatibilidade da nanocelulose devem ser preservadas (Kaczmarek; Białkowska, 2025).

A escolha do método de modificação depende da aplicação desejada e das propriedades finais esperadas para o material. Estudos recentes demonstram que a modificação da NCB potencializa sua aplicação em membranas de troca iônica, sensores, entre outros (Guccini et al., 2019; Samaniego; Espiritu, 2022).

2.6.4 Modificações *in situ* e *ex situ*

As estratégias de modificação da nanocelulose também podem ser classificadas de acordo com o momento em que são realizadas, sendo denominadas *in situ* ou *ex situ*. Diferentemente das classificações baseadas na natureza da interação — como modificações físicas, químicas ou enzimáticas —, essas abordagens referem-se à etapa do processo em que a modificação é conduzida, podendo, portanto, envolver diferentes mecanismos.

A biossíntese *in situ* é destacada como a estratégia mais promissora para a fabricação de compósitos à base de NCB. Nessa abordagem, diferentes aditivos são introduzidos diretamente no meio de cultura de microrganismos produtores de NCB, possibilitando a formação de materiais com diferentes propriedades mecânicas e físico-químicas (Efremenko et al., 2025).

A modificação *in situ* ocorre durante a síntese ou produção da nanocelulose, geralmente no meio de cultivo (no caso da NCB) ou durante o processo de purificação. Essa abordagem permite a introdução direta de agentes modificadores (como polímeros, nanopartículas ou precursores químicos) enquanto as nanofibras ainda estão se formando, resultando em uma incorporação mais homogênea e interativa entre os componentes (Gea et al., 2010; Zhang et al., 2019). Exemplos como a adição de sais metálicos, polímeros ou compostos funcionais ao meio de cultura durante a produção da NCB, visam gerar materiais com propriedades condutoras, antimicrobianas ou reforçadas (Gea et al., 2010). Entretanto, é importante que os materiais utilizados na modificação *in situ* sejam compatíveis com os microrganismos envolvidos no processo produtivo, de modo a evitar efeitos de inibição microbiana que possam comprometer a síntese da nanocelulose.

A modificação *ex situ* é realizada após a produção e purificação da nanocelulose, por meio de tratamentos físicos ou químicos na fase sólida ou em suspensão. Essa abordagem permite maior controle sobre o tipo e a extensão da modificação, sendo frequentemente usada para funcionalização superficial, reticulação, ou combinação com outros materiais (De Oliveira Barud et al., 2016; Yuan et al., 2017). Exemplo: sulfonação, esterificação ou incorporação de cargas nanométricas em suspensões de nanocelulose já produzidas.

Dessa forma, as abordagens *in situ* e *ex situ* não constituem categorias independentes quanto à natureza da modificação, mas sim estratégias operacionais que podem envolver diferentes tipos de interação. A escolha entre essas abordagens depende da aplicação desejada, da estabilidade dos agentes modificadores e do nível de controle requerido sobre as propriedades finais do material.

2.7 LIGNINA

A lignina é um dos três principais componentes estruturais da biomassa vegetal, juntamente com a celulose e a hemicelulose (Liang et al., 2021). Ela representa cerca de 30% da biomassa total no mundo, classificando-a como o segundo material renovável mais abundante depois da celulose, compreendendo uma estrutura poliaromática complexa, que confere rigidez, impermeabilidade e resistência microbiana à madeira (Fazeli et al., 2024; Shah et al., 2023). Ela demonstra um potencial considerável em tecnologias verdes (Balakshin et al., 2021).

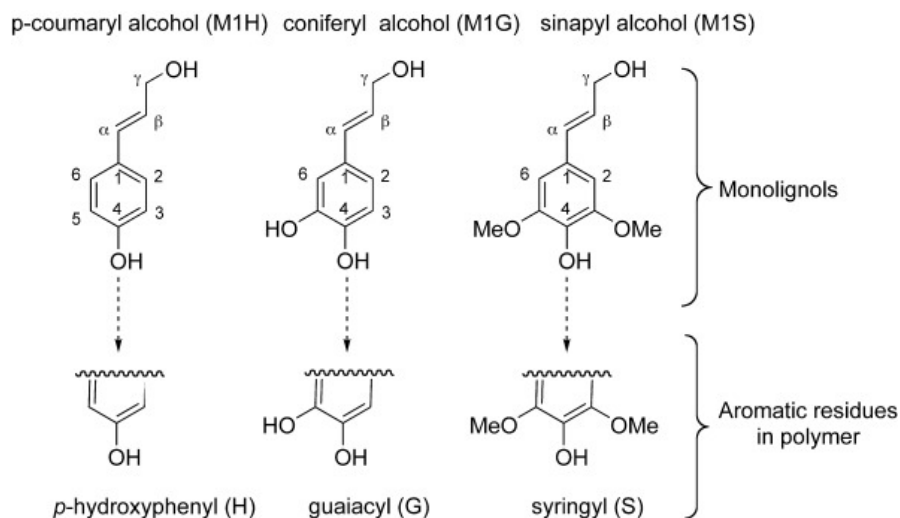
Devido à sua estrutura aromática complexa e funcionalizada, a lignina tornou-se um material promissor para diversas aplicações sustentáveis. Recentemente, houve um crescimento expressivo no uso da lignina em materiais compósitos, onde ela atua como agente de reforço, aditivo funcional ou precursor na fabricação de superfícies, filmes, adesivos e espumas (Fazeli et al., 2024; Shah et al., 2023). Além disso, a lignina demonstrou grande potencial na impressão 3D, atuando como componente funcional em resinas fotossensíveis e filamentos termoplásticos, ainda que persista o desafio de equilibrar processabilidade e propriedades mecânicas (Yang et al., 2024a).

A lignina se destaca hoje como um recurso natural abundante e econômico, capaz de substituir materiais de origem fóssil em múltiplas aplicações. Muitas pesquisas estão sendo realizadas utilizando lignina para MTP (Dos Santos et al., 2024; Farzin et al., 2020; Souza et al., 2023; Wang et al., 2025).

2.7.1 Estrutura molecular da lignina

A lignina é um biopolímero complexo e irregular que contém unidades fenilpropanoides reticuladas aleatoriamente (ou seja, álcool coniferílico, sinapil e cumarílico) e é encontrada nas paredes celulares secundárias de plantas. Essas unidades monolignol fornecem a base para a formação dos blocos de construção da lignina, ou seja, *p*-hidroxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S) (Calvo-Flores; Dobado, 2010; Vanholme et al., 2010). A Figura 9 demonstra os monolignóis e os seus resíduos no polímero.

Figura 9 – Nomenclatura dos monolignóis e seus resíduos.



Fonte: Calvo-Flores; Dobado (2010).

2.7.2 Lignina Kraft

A maior parte do papel produzido mundialmente é obtida pelo processo Kraft, que consiste na digestão química da madeira na presença de uma solução alcalina denominada licor branco, composta principalmente por hidróxido de sódio (NaOH) e sulfeto de sódio (Na₂S). Nesse processo, cavacos de madeira são submetidos a condições de alta temperatura (entre 155 °C e 175 °C) e pressão por várias horas, promovendo a degradação da lignina e a liberação das fibras de celulose (Calvo-Flores; Dobado, 2010; Farzin et al., 2020).

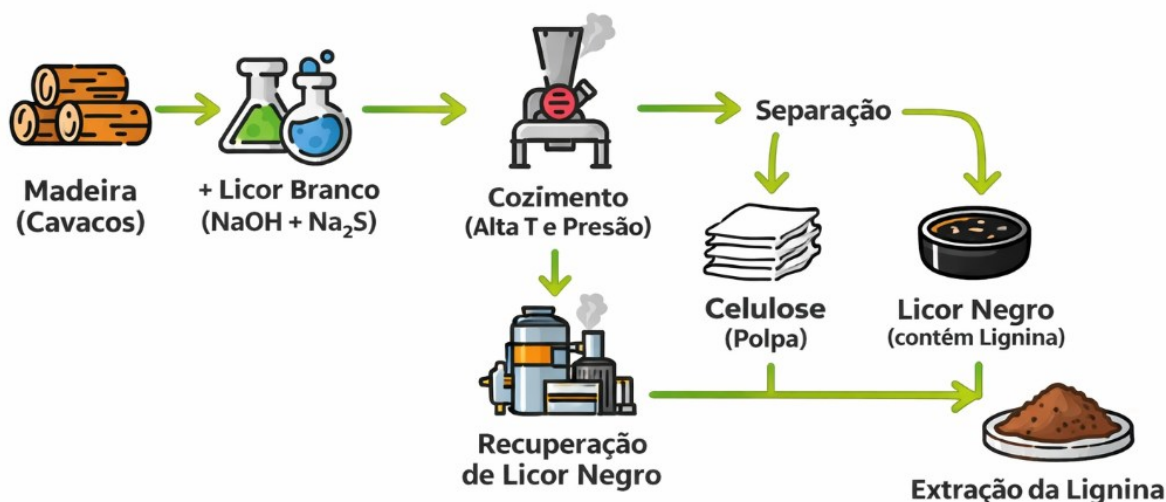
Após o cozimento, ocorre a etapa de separação, na qual a fração sólida, rica em celulose (polpa), é isolada da fração líquida, conhecida como licor negro, que contém lignina dissolvida, além de outros subprodutos orgânicos e inorgânicos. O licor negro pode então ser submetido a processos de recuperação química ou à extração da lignina, que geralmente envolve a precipitação por acidificação (pH entre 1 e 2), seguida de lavagem e secagem para obtenção do material na forma sólida celulose (Calvo-Flores; Dobado, 2010; Farzin et al., 2020).

A lignina obtida por esse método, conhecida como lignina Kraft, apresenta uma estrutura altamente complexa, heterogênea e condensada, resultante das condições severas do processo de polpação (Jardim et al., 2020). Essas características estruturais, embora contribuam para sua estabilidade química, também

representam um desafio significativo para sua aplicação em produtos de maior valor agregado (Balakshin et al., 2021; Jardim et al., 2020).

A Figura 10 ilustra de forma esquemática as principais etapas do processo Kraft, desde a digestão da madeira até a separação das frações e a extração da lignina.

Figura 10 – Processo de extração da lignina Kraft.



Fonte: Elaborado pela autora.

2.8 ESTADO DA ARTE DE MEMBRANAS NCB/LIGNINA

Com base nos dados apresentados na Tabela 1, observa-se que o desenvolvimento de membranas de nanocelulose bacteriana (NCB) incorporada com lignina tem evoluído de abordagens mais simples, como misturas físicas *ex situ*, para sistemas mais complexos e funcionalizados, com foco em aplicações eletroquímicas.

Inicialmente, estratégias baseadas na incorporação física de lignina à NCB demonstraram melhorias principalmente nas propriedades mecânicas e térmicas, embora com impacto limitado na condutividade protônica (Gea et al., 2010; Vilela et al., 2019). Avanços mais significativos foram obtidos com a funcionalização química da lignina, especialmente por sulfonação, que promove o aumento da capacidade de troca iônica e da condutividade protônica, aproximando o desempenho de membranas comerciais, ainda que sem superá-las (Samaniego; Espiritu, 2022b).

Nesse contexto, destaca-se o trabalho de Souza et al. (2023), que demonstrou

a aplicação direta de membranas NCB/lignina em células a combustível microbianas, evidenciando aumento da capacidade de troca iônica ($\sim 0,78 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) e melhora significativa no desempenho eletroquímico, com densidade de potência aproximadamente três vezes superior à da NCB pura. Esse estudo representa um marco ao validar experimentalmente o uso desses materiais em dispositivos reais.

Paralelamente, abordagens mais recentes têm explorado sistemas híbridos, como a combinação de lignina com agentes reticulantes (ácido cítrico) ou líquidos iônicos, visando otimizar simultaneamente propriedades mecânicas, estabilidade e condutividade (Guccini et al., 2019; Saleh et al., 2024). Estratégias *in situ* também têm ganhado destaque por promoverem melhor dispersão e interação entre os componentes, resultando em materiais mais homogêneos (Efremenko et al., 2025). Adicionalmente, modificações químicas e enzimáticas mais recentes têm possibilitado a introdução controlada de grupos funcionais, como carboxílicos e fenólicos, ampliando as possibilidades de ajuste fino das propriedades superficiais (Kaczmarek; Białkowska, 2025).

Apesar dos avanços, persistem desafios relacionados à condutividade protônica em condições operacionais mais exigentes, à estabilidade química de longo prazo e ao controle da dispersão da lignina na matriz. Ainda assim, os resultados indicam que sistemas NCB/lignina constituem uma alternativa promissora e sustentável para o desenvolvimento de membranas funcionais em aplicações eletroquímicas.

Tabela 1 - Estado da arte de membranas NCB/Lignina.

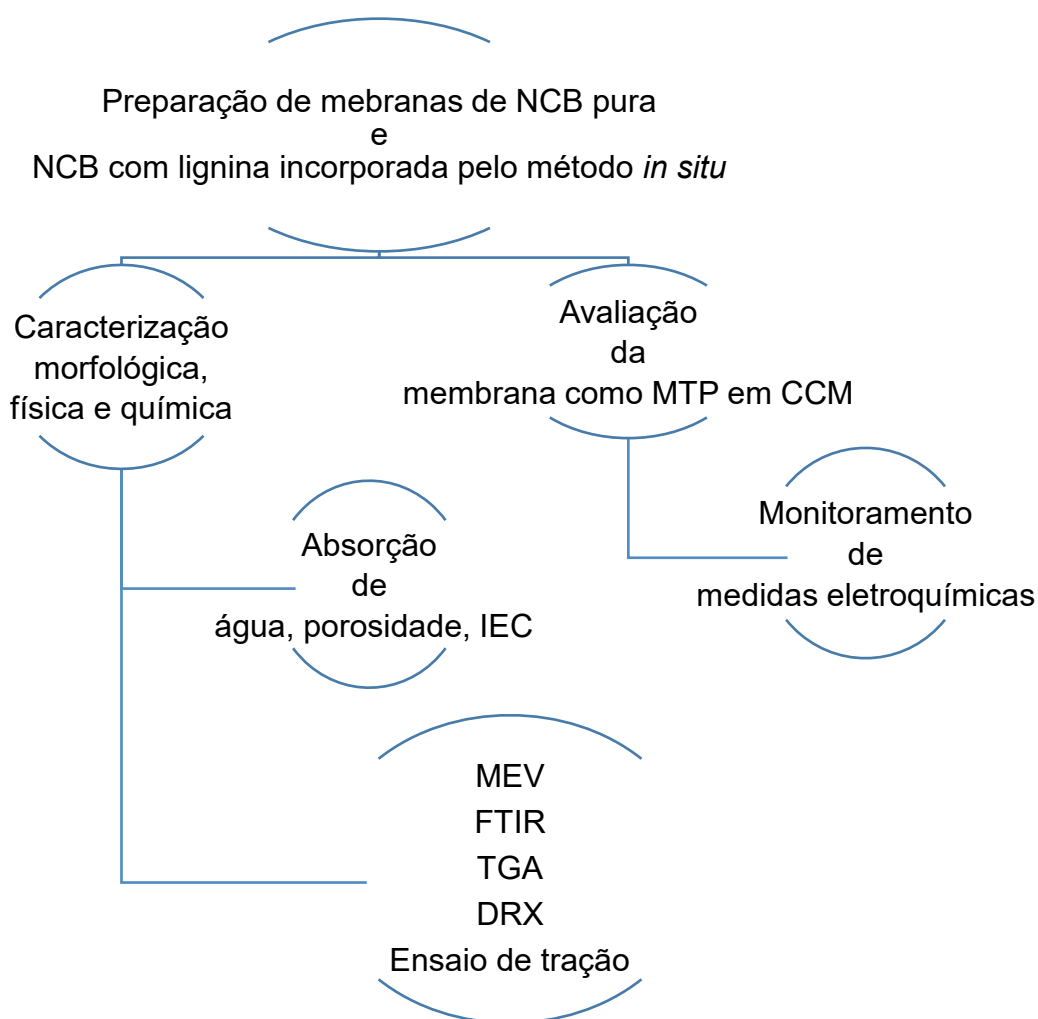
Estratégia / Sistema	Tipo de modificação	Principais propriedades avaliadas	Resultados relevantes	Limitações	Referência
NCB + lignina (blenda)	Física (<i>ex situ</i>)	Mecânicas, térmicas, morfologia	Aumento da estabilidade térmica e rigidez	Baixa condutividade protônica	Gea et al., 2010
NCB + lignina Kraft	Física (<i>ex situ</i>)	Transporte iônico, IEC	Aumento da capacidade de troca iônica	Dispersão limitada da lignina	Vilela et al., 2019
NCB + lignina (PEM em MFC)	Física (<i>ex situ</i>)	Condutividade, IEC, desempenho eletroquímico	↑ IEC (~0,78 mmol·g ⁻¹); ↑ potência (~18,5 mW·m ⁻² vs. ~6,8)	Escala laboratorial; condutividade ainda limitada	Souza et al., 2023
NCB + lignina sulfonada	Química	Condutividade protônica, IEC	Melhora significativa na condução protônica	Ainda inferior ao Nafion	Samaniego; Espiritu, 2022
NCB/Lignina (<i>in situ</i>)	Física + interação química	Morfologia, homogeneidade, mecânica	Melhor dispersão e interação matriz-fase	Controle do processo	Efremenko et al., 2025
NCB + lignina + ácido cítrico	Química (reticulação)	Estabilidade térmica, mecânica	Aumento da resistência estrutural	Possível redução da mobilidade iônica	Guccini et al., 2019
NCB + lignina + líquidos iônicos	Híbrida	Condutividade iônica, retenção de água	Aumento expressivo da condutividade	Custo e estabilidade	Saleh et al., 2024
NCB + lignina oxidada	Química	Funcionalização superficial	Introdução de grupos carboxílicos	Controle reacional	Kaczmarek; Białkowska, 2025
NCB + lignina + polímeros (PVA, PEG)	Física	Flexibilidade, estabilidade	Melhora da processabilidade	Pode reduzir condutividade	Moon et al., 2011
NCB + lignina + nanopartículas	Física	Antimicrobiana, mecânica	Propriedades multifuncionais	Compatibilidade interfacial	Luz et al., 2024

Fonte: Elaborado pela autora.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho, foram produzidas membranas de nanocelulose bacteriana com lignina incorporada pelo método *in situ*. As membranas resultantes foram analisadas quanto às suas características morfológicas, físico-químicas e à capacidade de condução iônica, bem como avaliadas quanto ao seu potencial de aplicação como MTP em uma CCM. As etapas do processo estão apresentadas esquematicamente Figura 11, e descritas nos itens a seguir.

Figura 11 – Esquema do processo de preparação, caracterização e avaliação de membranas NCB/Lig.



Fonte: Elaborada pela autora.

3.1 MATERIAIS

A bactéria *Komagataebacter hansenii* ATCC 23769 foi adquirida da Coleção de Culturas Tropicais (CCT) (Fundação André Tosello, Campinas, SP, Brasil). Hidróxido de sódio (NaOH, Dinâmica), cloreto de sódio (NaCl, Vetec), bactopectona e extrato de levedura (ambos da Kasvi), e glicerol, ácido clorídrico e ácido cítrico (todos da Neon). Todos os reagentes foram utilizados sem purificação adicional.

3.1.1 Lignina Kraft

A lignina Kraft foi fornecida pela Suzano Papel e Celulose (Suzano, SP, Brasil). O processo de fabricação da lignina consiste basicamente na remoção e purificação da lignina kraft do licor negro, sendo fornecida como um pó marrom. A tabela

Tabela 2 - Composição lignina.

Especificação	Valor
Aparência	Pó marrom-escuro
Teor de sólidos, 105 °C	≥ 95%
Teor de cinzas (base seca), 800 °C	≤ 5%
Teor de água	< 5%
pH, suspensão aquosa 10% m/v	3 – 5
Teor total de carboidratos	< 2%
Teor de celulose	< 0,3%
Teor de hemicelulose	< 1,5%

Fonte: Suzano S.A. (2025).

3.2 PREPARAÇÃO DE MEMBRANAS

3.2.1 Produção de membranas de NCB

A bactéria *K. hansenii* foi utilizada para a produção das membranas. O meio de cultivo foi preparado contendo glicerol (25 g/L), extrato de levedura (5,0 g/L) e peptona (3,0 g/L) (Souza et al., 2023).

O cultivo foi realizado em frascos de Erlenmeyer de 125 mL, contendo 15 mL do meio previamente preparado, aos quais foram adicionados 10% (v/v) de inóculo proveniente de uma cultura estoque de *K. hansenii*. Os frascos foram mantidos sob condições estáticas a 30 °C por 20 dias.

Após esse período, as membranas na forma de hidrogel foram coletadas, lavadas com água e submetidas ao processo de purificação em solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M, a 90 °C, em banho-maria, por 20 minutos.

Após o tratamento, as membranas foram extensivamente lavadas com água destilada até atingirem pH neutro. As amostras foram então armazenadas em meio

úmido, com 10% de etanol, sob refrigeração ou secas sob circulação de ar para análises posteriores.

As membranas obtidas foram denominadas **NCB**.

3.2.2 Incorporação *in situ* de lignina em membranas de NCB

A bactéria *K. hansenii* foi utilizada para a produção das membranas. O meio de cultivo foi preparado contendo glicerol (25 g/L), extrato de levedura (5,0 g/L) e peptona (3,0 g/L) (Souza et al., 2023). O meio padrão foi suplementado com lignina Kraft em pó (2 g/L) e ácido cítrico (1,15 g/L), sendo posteriormente esterilizado em autoclave a 121 °C por 20 minutos (Sharma et al., 2025).

O cultivo foi realizado em frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo 15 mL do meio previamente preparado, aos quais foram adicionados 10% (v/v) de inóculo proveniente de uma cultura estoque de *K. hansenii*. Os frascos foram mantidos sob condições estáticas a 30 °C por 20 dias.

Após esse período, as membranas na forma de hidrogel foram coletadas, lavadas com água e submetidas a três diferentes processos de purificação:

1. As membranas foram tratadas com solução de NaOH 0,1 M a 90 °C, em banho-maria, por 20 minutos. As amostras obtidas foram denominadas **NCB-Lig 1**.
2. As membranas foram imersas em água a 90 °C por 20 minutos. As amostras obtidas foram denominadas **NCB-Lig 2**.
3. As membranas foram imersas em solução de NaOH 0,1 M, sem aquecimento, e mantidas sob refrigeração por 24 h. As amostras obtidas foram denominadas **NCB-Lig 3**.

Os diferentes tratamentos foram realizados com o objetivo de avaliar qual condição promove uma maior remoção de resíduos bacterianos e proteínas, mantendo a lignina incorporada à matriz.

Após os tratamentos, as membranas foram extensivamente lavadas com água destilada até atingirem pH neutro. As amostras foram então armazenadas em meio úmido sob refrigeração ou secas sob circulação de ar para análises posteriores.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS

A caracterização das membranas foi conduzida com o objetivo de avaliar suas propriedades morfológicas, físicas, químicas e térmicas, seguindo os procedimentos metodológicos descritos a seguir.

3.3.1 Capacidade de Absorção de Água

A capacidade de absorção de água (CA) das membranas de NCB (controle) e NCB/Lig foi avaliada utilizando o método descrito por Sharma et al. (2025) com algumas modificações. Amostras das membranas com dimensões de NCB (40 mm × 12,04 mm × 0,01 mm), NCB-Lig 1 (40 mm × 11,55 mm × 0,02 mm), NCB-Lig 2 (40 mm × 11,72 mm × 0,02 mm) e NCB-Lig 3 (40 mm × 11,82 mm × 0,01 mm) tiveram o excesso de água superficial removido cuidadosamente com papel filtro e, em seguida, foram pesadas.

Posteriormente, as amostras foram secas em estufa a 60 °C até atingirem massa constante, sendo então novamente pesadas. As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos como média dos valores obtidos. A capacidade de retenção de água das membranas foi calculada conforme a Equação 1:

$$CA = \left(\frac{m_u - m_s}{m_s} \right) 100 \quad (1)$$

onde CA representa a capacidade de retenção de água (%), m_s corresponde à massa seca (g) e m_u à massa úmida (g).

3.3.2 Porosidade

A porosidade pode ser estimada por métodos gravimétricos baseados na absorção de água, nos quais a diferença entre as massas da membrana no estado úmido e seco é utilizada para calcular o volume de poros acessíveis ao líquido (Geng et al., 2019).

Amostras previamente secas em estufa a 60 °C até massa constante, com dimensões de NCB (40 mm × 12,04 mm × 0,01 mm), NCB-Lig 1 (40 mm × 11,55 mm

× 0,02 mm), NCB-Lig 2 (40 mm × 11,72 mm × 0,02 mm) e NCB-Lig 3 (40 mm × 11,82 mm × 0,01 mm), tiveram sua massa inicial determinada.

Em seguida, as amostras foram imersas em água destilada e após 24 horas as amostras foram retiradas do líquido, tendo o excesso de água superficial removido com papel filtro. Posteriormente, foram imediatamente pesadas.

O ensaio foi realizado em triplicata, e a porosidade foi calculada pela diferença entre as massas da membrana no estado úmido e seco conforme a Equação 2:

$$P = \left(\frac{m_f - m_i}{\rho V} \right) 100 \quad (2)$$

onde P é a porosidade (%), m_i é a massa inicial da membrana (g), m_f é a massa após a absorção de água (g), ρ é a densidade da água a 25 °C (0,998 g/cm³) e V é o volume da amostra determinado a partir de sua geometria.

3.3.3 Capacidade de Troca Iônica (IEC)

A capacidade de troca iônica (IEC) foi determinada por titulação ácido-base. As membranas foram imersas em solução de cloreto de sódio (NaCl) 1,0 M por 24 horas, visando promover a troca de prótons por íons sódio. Após esse período, a solução foi titulada com hidróxido de sódio (NaOH) 0,0005 M, utilizando fenolftaleína como indicador.

A titulação foi realizada em triplicata, e a IEC foi calculada conforme a Equação 3 (Gadim et al., 2017; Zhao et al., 2015).

$$IEC = \frac{V_{NaOH} C_{NaOH}}{m_s} \quad (3)$$

onde IEC é expressa em mmol/g, V_{NaOH} é o volume de NaOH utilizado na titulação (mL), C_{NaOH} é a concentração da solução de NaOH (mmol/mL) e m_s é a massa seca da amostra (g).

3.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microestrutura e a morfologia das amostras foram caracterizadas por meio de micrografias obtidas com Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), utilizando o equipamento JEOL JSM-6390 LV, disponível no Laboratório Central de Microscopia

Eletrônica (LCME) da UFSC, em Florianópolis. As amostras das membranas foram previamente congeladas e submetidas à secagem por liofilização a $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ (L101, LioTop, Liobras). Para a análise por MEV, amostras com dimensões de $1 \times 1\text{ cm}$ foram fixadas em suportes de alumínio e recobertas com uma camada de ouro de aproximadamente 30 nm.

3.3.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O ensaio de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) foi realizado com o objetivo de identificar os principais grupos funcionais presentes na superfície das membranas. Essa técnica permite avaliar a capacidade de uma substância em absorver, transmitir ou refletir radiação infravermelha, desde que possua ligações covalentes, medindo a quantidade de energia absorvida. A partir dos espectros de absorção ou transmissão, é possível interpretar os tipos de ligações químicas presentes, com base nas bandas de transição (Gómez-Ordóñez; Rupérez, 2011).

As análises foram conduzidas em amostras com dimensões de $1 \times 1\text{ cm}$, utilizando um espectrômetro PerkinElmer modelo Frontier, no modo de Reflexão Total Atenuada (ATR), com cristal de diamante. As medidas foram realizadas na faixa espectral de $4000\text{ a }600\text{ cm}^{-1}$, com 32 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} .

3.3.6 Análise termogravimétrica (TGA)

A Análise Termogravimétrica (TGA) possibilita determinar a variação de massa de uma amostra durante o seu aquecimento a certa velocidade. Os picos endotérmicos, associados à decomposição da amostra, refletem-se no resultado da TGA como perda de massa quantificável, que são registradas em curvas termogravimétricas de massa da amostra em função da temperatura ou do tempo. O ensaio de estabilidade térmica das amostras foi realizado usando um STA 449-F3 Jupiter, sob atmosfera inerte de nitrogênio, no Laboratório de Análise Térmica da Central de Análises do Departamento de Química (UFSC). As amostras foram secas em estufa a vácuo a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ para remover a umidade. Em seguida, utilizando o equipamento modelo DTG-60H (Shimadzu, Japão), tipo de análise: TG-DTG-DTA

simultânea, as amostras com massa de 10 mg foram aquecidas em atmosfera N₂ (inerte) até 600 °C, ar sintético (20% de O₂, 80% de N₂, oxidante) até 800 °C, sob fluxo de gás de 50 mL min⁻¹ entre 21 e 800 °C e taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

3.3.7 Análise Difração de Raios-X (DRX)

Para identificar as principais fases cristalinas foram realizados os ensaios de difração de raios-X em um difratômetro de Raios X Kappa APEX II DUO do Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC-UFSC), com radiação Mo K α monocromática de grafite.

As amostras foram colocadas sobre uma placa de alumínio e medidas com ângulo 2 θ em relação à superfície da amostra, num intervalo de 5° a 50° e variação de 0,05° min⁻¹.

3.3.8 Ensaio mecânico

O ensaio mecânico das amostras foi realizado em uma máquina universal (Instron, modelo 23-100), seguindo a norma ASTM D3039/D3039M-17 – Tração de Materiais Compósitos com Matriz Polimérica (ASTM International, 2014). Foi aplicada uma carga de tração uniaxial em amostras de cada tipo de membrana, com as seguintes dimensões: NCB (40 mm $\times$ 12,04 mm $\times$ 0,01 mm), NCB-Lig 1 (40 $\times$ 11,55 $\times$ 0,02 mm, NCB-Lig 2 (40 $\times$ 11,72 $\times$ 0,02 mm) e NCB-Lig 3 (40 $\times$ 11,82 $\times$ 0,01 mm). O ensaio foi realizado em três amostras de cada tipo de membrana. O teste foi conduzido com uma célula de carga de 2 kN e velocidade de aplicação de 1 mm min⁻¹. Os dados foram adquiridos por meio do software Bluehill Universal, sendo determinados os valores de resistência à tração, deformação e módulo de elasticidade.

A tensão (σ) foi calculada como a razão entre a força aplicada e a área da seção transversal da amostra. A deformação (ϵ) foi obtida pela razão entre o deslocamento e o comprimento inicial do corpo de prova. O módulo de elasticidade foi estimado a partir de uma regressão linear no trecho elástico-linear do diagrama tensão-deformação.

3.4 AVALIAÇÃO DA MEMBRANA COMO MTP EM CCM

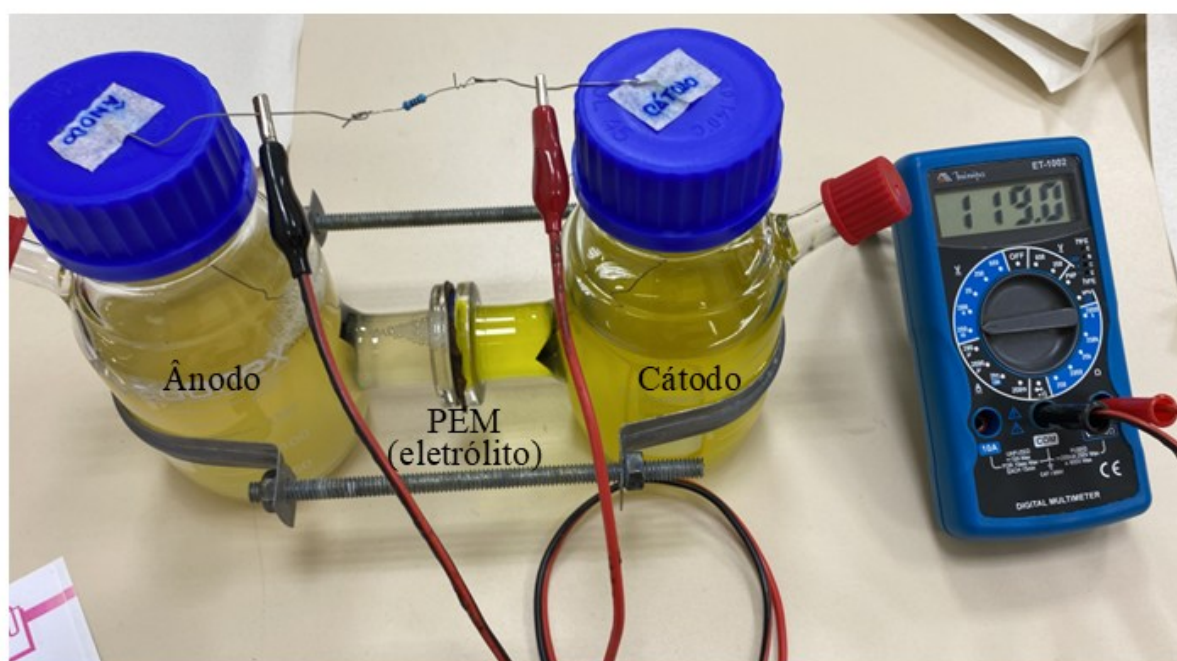
3.4.1 Configuração da CCM

Células a combustível microbianas (CCMs) de duas câmaras, no formato em “H”, foram montadas para avaliar o potencial da membrana NCB/Lig como membrana de troca protônica (MTP). O sistema experimental consistiu em dois frascos de vidro borossilicato, com volume de 100 mL cada, interligados por um canal central no qual a membrana foi posicionada como MTP.

Tanto na câmara anódica quanto na catódica foram utilizados eletrodos de tecido de carbono (Fuel Cell Store, Texas, EUA), com carga catalítica de $0,5 \text{ mg cm}^{-2}$ e área superficial de $6,25 \text{ cm}^2$. Os eletrodos foram conectados por fios de titânio (0,5 mm de diâmetro) a um resistor externo de $1 \text{ k}\Omega$.

A Figura 12 apresenta o esquema do modelo de CCM empregado nesta análise.

Figura 12 – Modelo de CCM montado para a avaliação da membrana NCB/Lig como MTP.



Fonte: Elaborado pela autora.

3.4.2 Montagem da CCM

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi adquirida no mercado local. Para a preparação do pré-inóculo, 100 mg de levedura seca foram cultivados por 4 h a 30 °C em 100 mL de solução de glicose a 1% (m/v), conforme descrito por Akçay (2025 e Raghavulu et al. (2011).

Em seguida, para a obtenção do inóculo, 1 mL dessa suspensão foi cultivado em condições aeróbias por 4 h a 30 °C, sob agitação de 180 rpm, em frasco de Erlenmeyer de 100 mL contendo 20 mL de meio de cultura YPD (extrato de levedura, peptona e dextrose). A composição do meio foi de glicose (20 g L⁻¹), extrato de levedura (10 g L⁻¹) e peptona (20 g L⁻¹). Todos os componentes foram previamente esterilizados em autoclave a 120 °C por 20 min.

No compartimento anódico, foram adicionados 50 mL do meio de cultura YPD, juntamente com 0,1% (v/v) de cultura ativa de *S. cerevisiae*, utilizada como microrganismo exoeletrogênico.

O compartimento catódico foi preenchido com solução aquosa contendo 0,01% de NaCl.

3.4.3 Medidas de Tensão e Cálculos Eletroquímicos

As CCMs foram mantidas em temperatura ambiente (25°C ± 5°C), sem agitação, e monitoradas por meio de um sistema de aquisição de dados (DAQ USB Device NI USB-6001) conectado a um computador e utilizando uma resistência externa de 1 kΩ.

A partir dos valores das medições de tensão da CCM (E) em Volt (V) e utilizando uma resistência externa (R), foi possível determinar a corrente (I) em (mA), sendo calculada através da lei de Ohm, conforme Equação 4 (Logan; Regan, 2006).

$$I = \frac{E}{R} \quad (4)$$

onde E (V) é a tensão medida através dos dois eletrodos conectados com resistência externa R .

A densidade de potência (DP) representa a potência em relação a área superficial do ânodo (considerando dois lados do eletrodo), e é calculada conforme a Equação 5 (Logan; Regan, 2006).

$$DP = \frac{E^2}{R A} \quad (5)$$

onde DP é densidade de potência medida Watts (W) por metro quadrado (m^2), E é a diferença de potencial medida em Volt (V), R é valor da resistência medida em ohm (Ω) e A é a área em m^2 do eletrodo anódico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir das amostras produzidas foram caracterizados quanto as suas propriedades morfológicas e químicas, sendo as membranas obtidas avaliadas como MTP em uma CCM. Esses resultados serão apresentados e discutidos a seguir.

4.1 PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS DE NANOCELULOSE BACTERIANA *IN SITU* MODIFICADAS COM LIGNINA

A preparação das membranas de nanocelulose bacteriana modificadas com lignina (NCB/Lig) foi realizada por meio de síntese *in situ*, conforme ilustrado na Figura 13. Inicialmente, o meio de cultivo foi formulado e submetido ao processo de esterilização, garantindo condições adequadas para o crescimento microbiano e evitando contaminações.

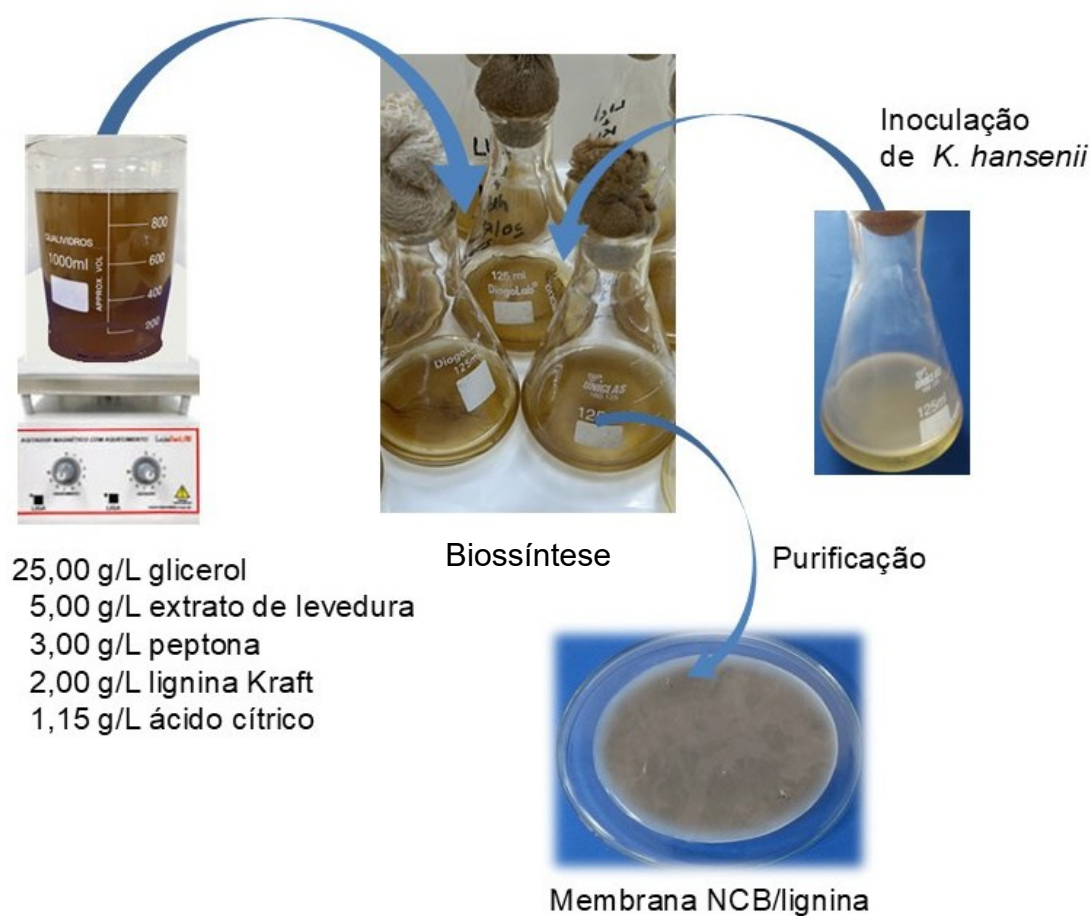
Após o resfriamento, o meio estéril foi inoculado com cultura bacteriana de *K. hansenii*, microrganismo amplamente conhecido pela sua capacidade de produzir nanocelulose bacteriana. A síntese foi conduzida em condições estáticas, nas quais ocorre a formação de uma película gelatinosa na interface ar-líquido, característica da produção de nanocelulose na forma de hidrogel.

Durante o processo de biossíntese, a lignina presente no meio é incorporada simultaneamente à rede tridimensional de nanofibrilas de celulose, promovendo a formação de um material compósito. Esse método permite uma distribuição mais homogênea da lignina na matriz, uma vez que sua incorporação ocorre concomitantemente à formação da estrutura nanofibrilar.

Após o período de cultivo, as membranas formadas foram submetidas a diferentes etapas de purificação, com o objetivo de remover células bacterianas e resíduos do meio de cultura e preservar a lignina incorporada. Ao final do processo, obtêm-se membranas de NCB/Lig com características estruturais e químicas modificadas, conforme evidenciado pelas análises subsequentes.

A Figura 13 apresenta de forma esquemática as principais etapas do processo, incluindo a preparação e esterilização do meio, inoculação bacteriana, formação da membrana e sua posterior purificação.

Figura 13 – Representação esquemática do processo de preparação das membranas de nanocelulose bacteriana modificadas com lignina (NCB/Lig) por síntese *in situ*.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.2 CARACTERIZAÇÕES

4.2.1 Análise da morfologia e microestrutura (MEV)

As micrografias de MEV evidenciam que os diferentes protocolos de purificação influenciaram significativamente a organização estrutural das membranas, refletindo tanto a eficiência na remoção de resíduos bacterianos quanto a preservação da lignina incorporada.

A amostra NCB (Figuras 14a–b), submetida ao tratamento alcalino com NaOH $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ a 90°C por 20 min, apresenta uma rede fibrilar limpa, homogênea e altamente porosa. A ausência de aglomerados ou materiais amorfos indica remoção eficiente de impurezas, como células bacterianas e proteínas, resultando na típica

estrutura tridimensional da nanocelulose bacteriana (Gorgieva; Trček, 2019; Klemm et al., 2005). A seção transversal confirma uma organização em camadas com boa integridade estrutural (Klemm et al., 2005).

Comportamento semelhante é observado para a NCB/Lig 1 (Figuras 14c–d), submetida ao mesmo tratamento alcalino em alta temperatura. A estrutura fibrilar permanece bem definida, porém com leve densificação da rede e presença discreta de regiões mais compactas, sugerindo que parte da lignina foi mantida na matriz, possivelmente adsorvida ou ligada às fibrilas (Ridho et al., 2022). Esse resultado indica que o tratamento alcalino aquecido foi eficaz na purificação sem remover completamente a lignina incorporada.

Por outro lado, a amostra NCB/Lig 2 (Figuras 14e–f), tratada apenas com água a 90 °C, apresenta alterações mais pronunciadas. A presença de regiões colapsadas, poros irregulares e estruturas heterogêneas sugere remoção incompleta de impurezas. Além disso, a possível presença de resíduos biológicos e agregados indica que o tratamento térmico sem agente químico não foi suficiente para purificação efetiva, comprometendo a organização da rede nanofibrilar (Tian et al., 2021b).

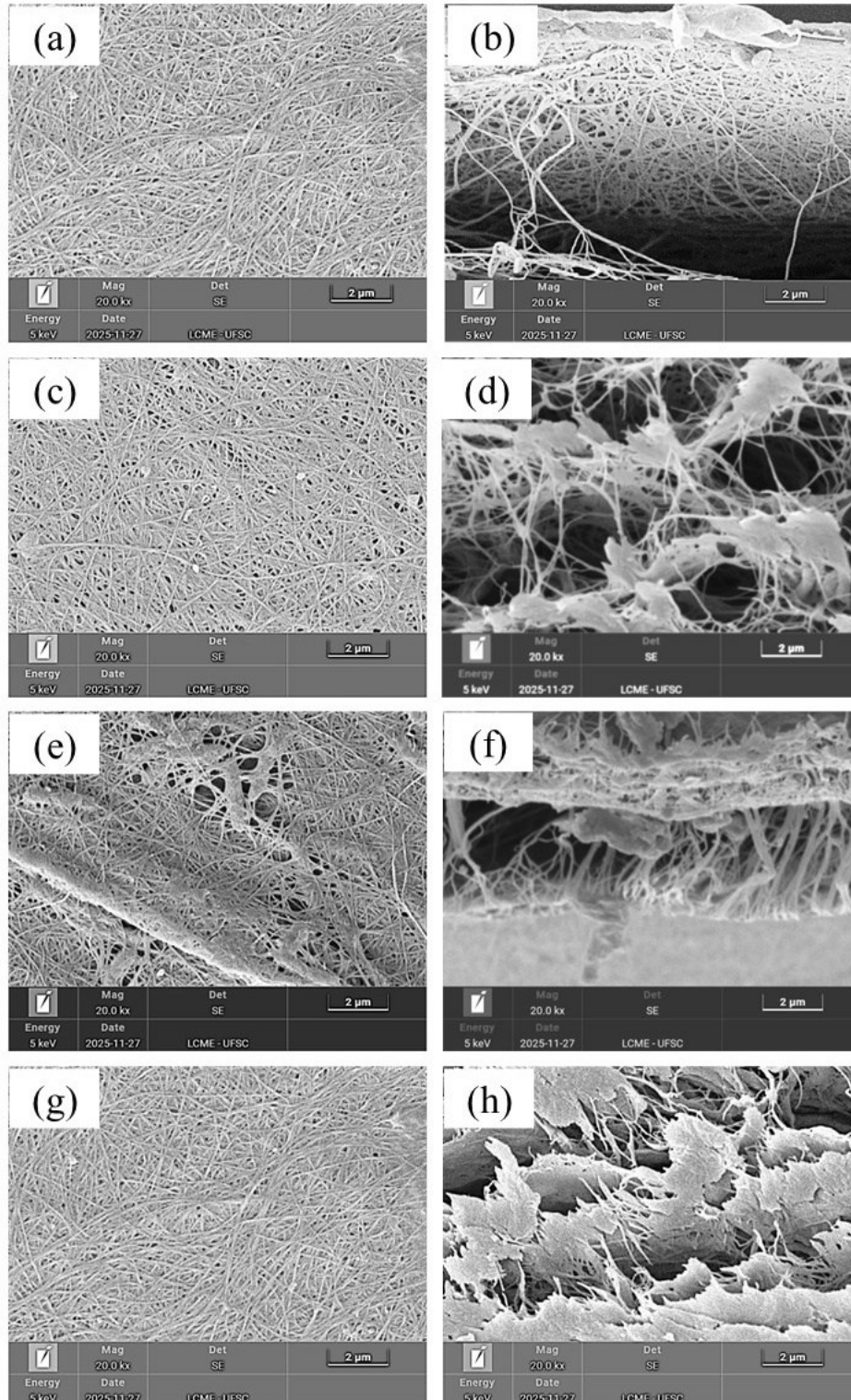
Já a NCB/Lig 3 (Figuras 14g–h), tratada com NaOH a frio (sob refrigeração por 24 h), apresenta uma morfologia intermediária. A superfície ainda exibe uma rede fibrilar relativamente organizada, porém a seção transversal revela regiões densas e aglomerados mais evidentes. Isso sugere que, embora o tratamento alcalino tenha contribuído para alguma remoção de impurezas, a ausência de aquecimento reduziu sua eficiência. Por outro lado, esse método pode ter favorecido maior retenção da lignina, evidenciada pelo aumento de regiões compactas e material amorfo.

De maneira geral, os resultados indicam que NaOH a quente (NCB e NCB/Lig 1) apresenta maior eficiência na remoção de resíduos bacterianos e proteínas, preserva parcialmente a lignina na membrana e resulta em uma estrutura mais homogênea e organizada. Já, quando se utilizou água quente (NCB/Lig 2) teve-se baixa eficiência de purificação, permanecendo na membrana resíduos, ocorrendo colapso estrutural e apresentando maior heterogeneidade. Porém, com o tratamento NaOH a frio (NCB/Lig 3) a eficiência de purificação foi intermediária, com maior retenção de lignina, Formando regiões densificadas.

Esses resultados demonstram que o tratamento alcalino em temperatura elevada representa um bom compromisso entre purificação e manutenção da

integridade estrutural, enquanto condições mais brandas tendem a preservar mais lignina, porém com menor eficiência na remoção de impurezas.

Figura 14 - Imagens obtidas do MEV superfície e seção transversal em (a) e (b) NCB, (c) e (d) NCB/Lig 1, (e) e (f) NCB/Lig 2 e (g) e (h) NCB/Lig 3, respectivamente.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.2.2 Absorção de água, porosidade e IEC das membranas

Os resultados de absorção de água e porosidade apresentados na Tabela 1 indicam que tanto a incorporação de lignina quanto os diferentes tratamentos de purificação influenciam a organização estrutural e a acessibilidade da rede nanofibrilar das membranas.

A membrana NCB apresentou absorção de água de 919,55% e porosidade de 47,10%, valores típicos de nanocelulose bacteriana seca em estufa, nos quais ocorre colapso parcial da estrutura fibrilar (*hornification*), reduzindo a capacidade de reidratação quando comparada ao estado hidrogel (Gorgieva; Trček, 2019; Klemm et al., 2005; Seifert et al., 2004). Ainda assim, o valor relativamente elevado de absorção indica que a rede manteve porosidade acessível e boa afinidade por água, o que está diretamente relacionado à sua estrutura altamente porosa e rede tridimensional de nanofibrilas, conforme observado nas micrografias de MEV. A elevada hidrofilicidade da nanocelulose, associada à abundância de grupos hidroxila, favorece a retenção de água. O valor de IEC ($3,18 \text{ mmol g}^{-1}$) reflete a presença natural de grupos ionizáveis na estrutura da celulose.

Com a incorporação de lignina na amostra NCB/Lig 1, observa-se redução tanto na absorção de água (708,86%) quanto na porosidade (46,34%). Esse comportamento pode ser atribuído ao caráter mais hidrofóbico da lignina e ao preenchimento parcial dos poros da matriz, reduzindo a disponibilidade de sítios para interação com a água (Ridho et al., 2022). Além disso, o IEC diminuiu para $1,96 \text{ mmol g}^{-1}$, sugerindo que parte dos sítios ionizáveis da celulose pode ter sido bloqueada pela lignina ou removida durante o tratamento alcalino a quente.

A amostra NCB/Lig 2 apresenta a menor absorção de água (631,87%) e porosidade (37,75%), indicando uma estrutura mais compacta e menos acessível à água. Esse resultado está em concordância com as imagens de MEV, que mostram regiões colapsadas e heterogêneas. Curiosamente, essa amostra apresenta o maior valor de IEC ($5,22 \text{ mmol g}^{-1}$), o que pode estar relacionado à presença de resíduos não removidos, como proteínas ou componentes do meio de cultura, que contribuem com grupos ionizáveis adicionais. Além disso, a ausência de tratamento alcalino pode ter preservado grupos funcionais ácidos da lignina (grupos hidroxila fenólicos ($-\text{OH}$) e os grupos carboxila ($-\text{COOH}$)), aumentando a capacidade de troca iônica.

Para a NCB/Lig 3, observa-se comportamento intermediário, com absorção de água (646,88%) e porosidade (43,21%) superiores à NCB/Lig 2, porém inferiores à NCB/Lig 1. O IEC (4,17 mmol g⁻¹) também é elevado, sugerindo maior retenção de lignina e/ou grupos ionizáveis devido ao tratamento alcalino em condições brandas (sem aquecimento). Esse resultado indica um equilíbrio entre preservação da lignina e remoção parcial de impurezas.

Membranas de NCB secas em estufa apresentam valores de absorção de água significativamente inferiores aos observados em hidrogéis, devido ao colapso da rede fibrilar durante o processo de secagem. Valores típicos reportados variam entre aproximadamente 50% e 1100%, dependendo da densidade estrutural e do histórico de processamento. Esse comportamento é atribuído à formação de ligações de hidrogênio irreversíveis entre as fibrilas (hornification), que reduz a reidratação do material. Os valores obtidos neste trabalho (631–919%) situam-se na faixa superior reportada, indicando que as membranas mantiveram uma estrutura relativamente porosa mesmo após a secagem.

Os valores elevados de IEC, quando comparados aos reportados para a membrana Nafion®-117 (faixa de 0,8 a 1,0 mmol g⁻¹) (Souza et al., 2023; Gadim et al., 2017), tanto para a amostra de NCB pura quanto para as amostras modificadas, indicam maior presença de grupos ionizáveis nesses materiais. No caso da NCB pura, esse comportamento pode estar associado à presença de grupos funcionais da própria celulose e possíveis resíduos remanescentes, enquanto nas amostras NCB/Lig está relacionado à incorporação de lignina, rica em grupos fenólicos. Esses resultados estão em concordância com estudos reportados na literatura que demonstram o aumento da capacidade de troca iônica após a modificação química da celulose (Gadim et al., 2017; Wang; Tavakoli; Tang, 2019).

Tabela 3 - Absorção de água, porosidade e IEC das membranas.

Amostra	Absorção de água (%)	Porosidade (%)	IEC (mmol g ⁻¹)
NCB	919,55±19,32	47,10±0,07	3,18±0,27
NCB/Lig 1	708,86±21,64	46,34±0,27	1,96±0,20
NCB/Lig 2	631,87±26,51	37,75±0,21	5,22±0,04
NCB/Lig 3	646,88,±15,62	43,21±1,94	4,17±0,16

Fonte: Elaborado pela autora.

De forma geral, os resultados indicam que a absorção de água e a porosidade diminuem com a incorporação de lignina e o aumento da compactação estrutural; o tratamento alcalino a quente promove maior purificação, porém podem reduzir o IEC; os tratamentos mais brandos favorecem um aumento do IEC, possivelmente devido à preservação de grupos funcionais e/ou impurezas. Portanto, mais lignina na membrana resulta em menor porosidade e absorção. Por outro lado, quanto mais lignina/impurezas maior é o IEC.

Esses achados estão em concordância com as observações morfológicas por MEV, reforçando que modificações estruturais impactam diretamente as propriedades físico-químicas das membranas.

4.2.3 Análise dos espectros de FTIR das membranas

Os espectros de FTIR das membranas de NCB, NCB/Lig e lignina Kraft evidenciam as principais modificações químicas decorrentes da incorporação de lignina e dos diferentes tratamentos de purificação (Figura 15).

A banda larga observada na região de $\sim 3340\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$, atribuída ao estiramento de grupos hidroxila (--OH), está presente em todas as amostras, sendo característica da nanocelulose (Chavez et al., 2023). Nota-se uma redução na intensidade dessa banda nas amostras contendo lignina, especialmente em NCB/Lig 2 e NCB/Lig 3, o que pode estar relacionado à diminuição da disponibilidade de grupos hidroxila livres devido a interações intermoleculares (ligações de hidrogênio) entre a celulose e a lignina.

A região de $\sim 2920\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$, correspondente ao estiramento C--H de grupos alifáticos, está associada tanto à celulose quanto à lignina (Chavez et al., 2023). O aumento relativo dessa banda nas amostras modificadas indica contribuição dos grupos metoxila e cadeias alifáticas da lignina.

Na faixa de $\sim 1639\text{--}1611\text{ cm}^{-1}$, atribuída a vibrações de C=O e C=C aromático, observa-se aumento significativo de intensidade nas amostras NCB/Lig, principalmente em NCB/Lig 2 e NCB/Lig 3. Essa banda é característica da estrutura aromática da lignina, confirmando sua incorporação na matriz de nanocelulose (Chavez et al., 2023).

A região de $\sim 1420\text{--}1370\text{ cm}^{-1}$, relacionada a deformações de C--H e grupos C--O--H , apresenta variações de intensidade entre as amostras, sugerindo alterações na

organização estrutural da celulose e possíveis interações com a lignina (Wang et al., 2016).

Na faixa de $\sim 1260\text{--}1210\text{ cm}^{-1}$, atribuída ao estiramento C–O (especialmente em estruturas fenólicas da lignina) (Shi et al., 2019), observa-se aumento de intensidade nas amostras modificadas, sendo mais pronunciado em NCB/Lig 2. Esse resultado indica maior presença de grupos fenólicos, possivelmente devido à menor remoção da lignina ou de compostos associados.

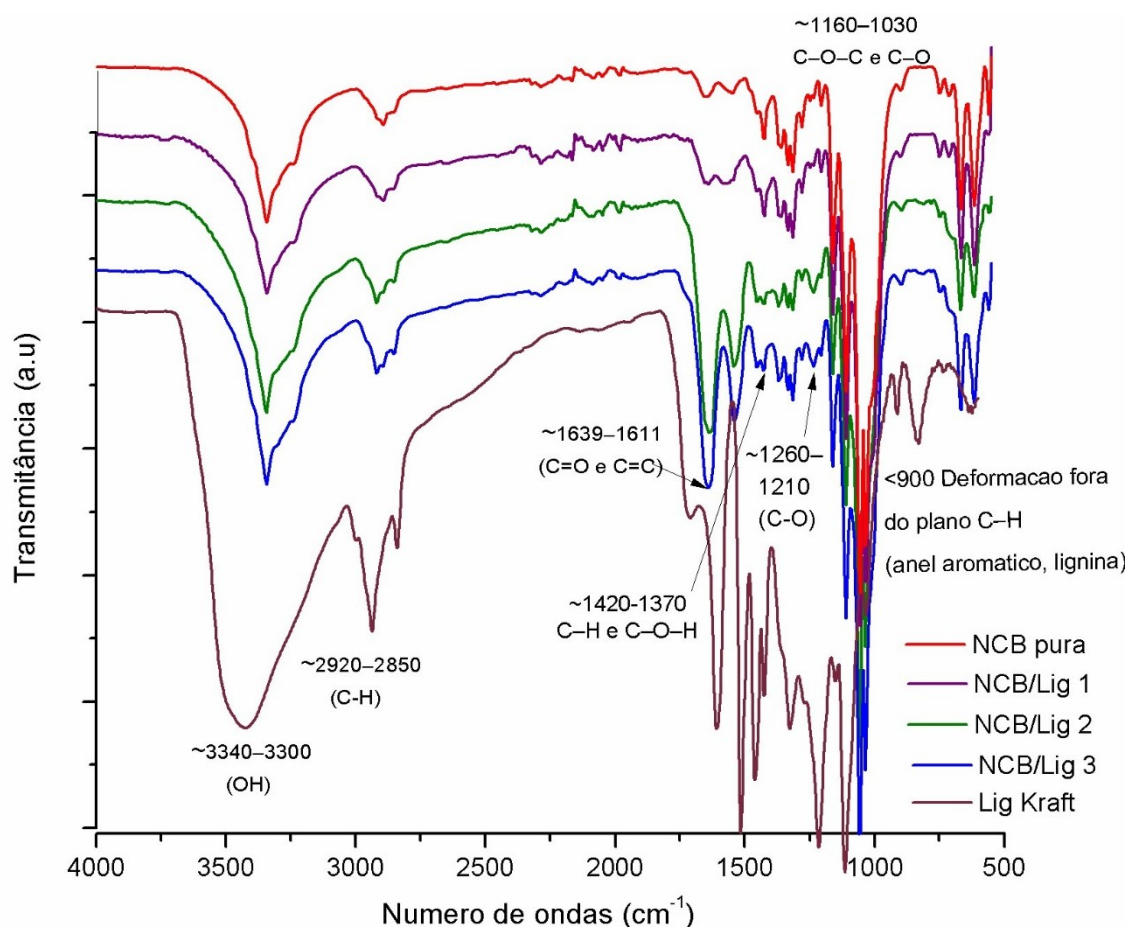
A região de $\sim 1160\text{--}1030\text{ cm}^{-1}$, associada às ligações C–O–C e C–O da celulose (estrutura do anel pirano e ligações glicosídicas) (Chavez et al., 2023), está presente em todas as amostras, porém com alterações no perfil e intensidade nas membranas com lignina, sugerindo mudanças na organização da rede polissacarídica.

Por fim, a banda abaixo de 900 cm^{-1} , relacionada à deformação fora do plano de C–H em anéis aromáticos (Md Salim; Asik; Sarjadi, 2021) aparece de forma mais evidente nas amostras contendo lignina, reforçando a presença de estruturas aromáticas típicas desse componente.

Comparando as amostras nota-se que o efeito dos tratamentos de purificação na membrana NCB/Lig 1 (NaOH a quente) apresenta menor intensidade das bandas aromáticas, indicando remoção parcial da lignina e confirmando a maior eficiência de purificação. Já na membrana NCB/Lig 2 (água quente) ocorre maior intensidade das bandas de lignina (C=C aromático, C–O fenólico), o que sugere maior retenção de lignina e/ou impurezas, corroborando com o valor mais alto de IEC observado. E por fim a membrana NCB/Lig 3 (NaOH a frio) ocorre intensidade intermediária das bandas, que indica equilíbrio entre purificação e preservação da lignina.

Os espectros de FTIR confirmam a incorporação da lignina nas membranas e evidenciam que os tratamentos de purificação influenciam diretamente a composição química final. O tratamento alcalino a quente promove maior remoção de lignina e impurezas, enquanto métodos mais brandos preservam grupos funcionais, o que se reflete em maiores valores de IEC. Essas observações estão em concordância com os resultados de MEV (morfologia) e com as propriedades de absorção de água e porosidade.

Figura 15 - Espectros FTIR-ATR das membranas.



Fonte: Elaborado pela autora.

A Tabela 4 apresenta as principais bandas identificadas nos espectros de FTIR das membranas de NCB, NCB/Lig e da lignina Kraft, bem como suas respectivas atribuições químicas e as alterações observadas em função da incorporação de lignina e dos diferentes tratamentos de purificação empregados. As variações de intensidade e perfil das bandas evidenciam modificações estruturais e interações intermoleculares entre a celulose e a lignina, permitindo avaliar a influência dos métodos de purificação na composição química final das membranas. Além disso, a comparação entre as amostras demonstra diferenças na retenção de lignina e de grupos funcionais aromáticos, corroborando os resultados obtidos nas análises morfológicas e nas propriedades físico-químicas das membranas.

Tabela 4 - Principais bandas observadas nos espectros de FTIR das membranas de NCB, NCB/Lig e lignina Kraft, suas atribuições químicas e efeitos dos tratamentos de purificação

Região / Banda (cm⁻¹)	Atribuição	Observações nas amostras	Referência
~3340–3300	Estiramento de grupos hidroxila (–OH)	Presente em todas as amostras. Redução de intensidade nas membranas com lignina, especialmente NCB/Lig 2 e NCB/Lig 3, indicando interações intermoleculares e ligações de hidrogênio entre celulose e lignina.	Chavez et al. (2023)
~2920–2850	Estiramento C–H de grupos alifáticos	Aumento relativo nas amostras modificadas devido à contribuição de grupos metoxila e cadeias alifáticas da lignina.	Chavez et al. (2023)
~1639–1611	Vibrações de C=O e C=C aromático	Aumento significativo de intensidade nas amostras NCB/Lig, principalmente NCB/Lig 2 e NCB/Lig 3, confirmando a incorporação de lignina na matriz de nanocelulose.	Chavez et al. (2023)
~1420–1370	Deformações de C–H e grupos C–O–H	Variações de intensidade sugerem alterações estruturais da celulose e interações com a lignina.	Wang et al. (2016)
~1260–1210	Estiramento C–O em estruturas fenólicas da lignina	Intensidade aumentada nas amostras modificadas, especialmente em NCB/Lig 2, indicando maior presença de grupos fenólicos e maior retenção de lignina/impurezas.	Shi et al. (2019)
~1160–1030	Ligações C–O–C e C–O da celulose	Presente em todas as amostras. Alterações no perfil e intensidade nas membranas com lignina indicam mudanças na organização da rede polissacarídica.	Chavez et al. (2023)
< 900	Deformação fora do plano de C–H em anéis aromáticos	Mais evidente nas amostras contendo lignina, reforçando a presença de estruturas aromáticas típicas da lignina.	Md Salim; Asik; Sarjadi (2021)

Fonte: Elaborado pela autora.

4.2.4 Análise termogravimétrica (TG/dTG) das membranas.

As curvas de TG e dTG das membranas de NCB e NCB/Lig, apresentadas na Figura 16 evidenciam o comportamento térmico característico de materiais lignocelulósicos, em concordância com estudos específicos de celulose bacteriana e

seus compósitos, com eventos de degradação bem definidos (Thomas et al., 2018). Estudos mais recentes também confirmam esse comportamento, destacando que a decomposição térmica da celulose ocorre em faixa estreita, enquanto a lignina apresenta degradação distribuída em ampla faixa de temperatura devido à sua estrutura aromática complexa (Gorgieva; Trček, 2019).

Na primeira etapa (até ~120 °C) observa-se uma perda de massa inicial em todas as amostras, atribuída à evaporação de água adsorvida e umidade residual. A intensidade dessa perda é maior para a NCB, o que está de acordo com sua maior capacidade de absorção de água, previamente discutida (Poletto; Pistor; J., 2013). Para a nanocelulose bacteriana, essa etapa ocorre tipicamente entre 280 e 350 °C, podendo variar conforme cristalinidade e pureza (Thomas et al., 2018). A presença de picos mais definidos na NCB indica maior homogeneidade estrutural, enquanto o alargamento observado nas amostras NCB/Lig sugere a presença de múltiplos componentes térmicos.

Na segunda etapa ocorre a etapa principal de degradação (~250–370 °C). A principal perda de massa ocorre nessa faixa e está associada à degradação da celulose (Yang et al., 2007). A NCB apresenta um pico bem definido de degradação (dTG), indicando estrutura relativamente homogênea. Nas amostras NCB/Lig, observa-se deslocamento do pico e alargamento da curva. Isso indica uma sobreposição de processos de degradação e contribuição da lignina, que apresenta decomposição mais ampla.

A terceira etapa corresponde a degradação da lignina (~200–500 °C), que diferente da celulose, a lignina apresenta degradação gradual em uma faixa ampla de temperatura, devido à sua estrutura aromática tridimensional e heterogênea (Hu; Li; Jing, 2024). Nas amostras NCB/Lig observa-se uma cauda mais longa nas curvas TG e um alargamento na DTG. Isso confirma a presença de lignina e maior heterogeneidade térmica.

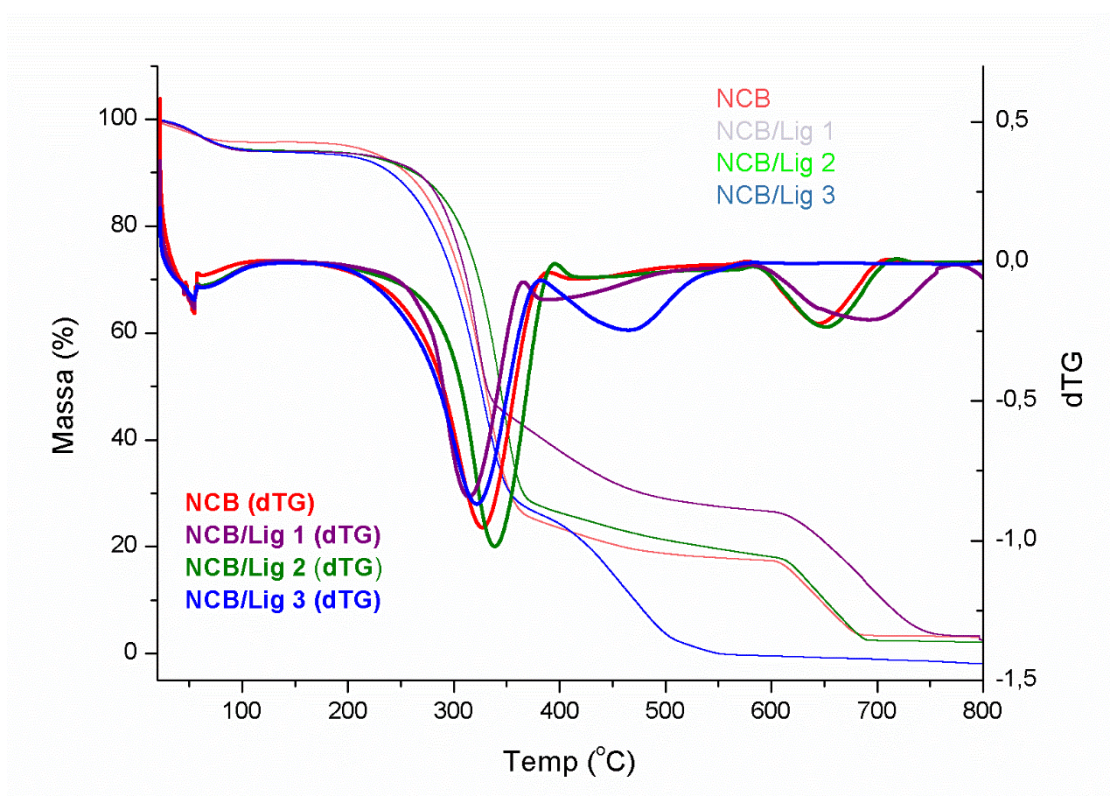
O resíduo final (acima de ~500–600 °C) nas amostras contendo lignina apresentam maior resíduo (carvão residual), o que é esperado devido à natureza aromática da lignina.

Comparando as amostras NCB (controle) apresenta degradação mais definida e estreita, menor resíduo final e maior perda inicial de água. A amostra NCB/Lig 1 (NaOH a quente) possui uma curva ainda próxima da NCB, indicando menor quantidade de lignina residual e maior purificação. Já, a amostra de NCB/Lig 2

(água quente) apresentou uma curva mais alargada, com maior contribuição de lignina e/ou impurezas, o que confirma menor eficiência de purificação. E por fim a amostra NCB/Lig 3 (NaOH a frio) apresentou um comportamento intermediário, com presença significativa de lignina e maior resíduo térmico. Nota-se que a presença de lignina na membrana de NCB implica em maior formação de carbono residual, e enquanto a NCB pura apresenta menor resíduo.

Portanto, pode-se concluir que a incorporação de lignina às membranas de NCB promove maior estabilidade térmica em temperaturas elevadas e amplia a faixa de degradação térmica, embora resulte em um aumento do resíduo final. Já o tratamento de purificação influencia diretamente a composição química e o perfil térmico.

Figura 16 - Curvas de análise termogravimétrica (TG) e suas derivadas (dTG) das membranas.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.2.5 Análise da Difração de Raios-X (DRX) das membranas.

A análise por difração de raios X (DRX) das membranas de nanocelulose bacteriana (NCB) e NCB modificadas com lignina evidenciou picos característicos da celulose tipo I, com reflexões principais em aproximadamente $2\theta \approx 16^\circ$ e 22° , atribuídas aos planos cristalinos (110) e (200), respectivamente. Esse padrão é amplamente reportado para materiais celulósicos nativos e confirma a preservação da estrutura cristalina após os processos de modificação (Nam et al., 2016; Pandey et al., 2024).

Na Figura 17 observa-se que a amostra controle (NCB) apresenta maior intensidade e definição dos picos, enquanto as amostras contendo lignina exibem redução na intensidade e alargamento das reflexões. Esse comportamento indica diminuição do índice de cristalinidade e aumento da fração amorfa, fenômeno comumente associado à incorporação de lignina, que possui natureza predominantemente amorfa e interfere no empacotamento ordenado das cadeias de celulose (Pontillo et al., 2025). Estudos recentes mostraram que a presença de lignina pode reduzir a cristalinidade de materiais lignocelulósicos de valores próximos a 68% para faixas entre 51–59%, reforçando esse efeito desorganizador na estrutura cristalina (Pontillo et al., 2025).

Além disso, o alargamento dos picos observado nas amostras modificadas sugere redução no tamanho de cristalito e aumento da desordem estrutural, o que pode estar relacionado a interações intermoleculares entre lignina e celulose, como ligações de hidrogênio e interações π - π . A literatura destaca que a estrutura heterogênea e a coexistência de regiões cristalinas e amorfas são fatores determinantes na interpretação dos difratogramas de biomateriais lignocelulósicos (Salem et al., 2023).

A ausência de novos picos cristalinos nas amostras contendo lignina indica que não houve formação de novas fases cristalinas, sugerindo que a lignina está distribuída de forma amorfa na matriz celulósica. Esse comportamento é consistente com estudos recentes que mostraram que modificações químicas ou físicas em materiais lignocelulósicos tendem a alterar o grau de cristalinidade sem modificar a estrutura cristalina fundamental da celulose (Liu et al., 2025).

Portanto, os resultados de DRX indicam que a incorporação de lignina preserva a estrutura cristalina da celulose tipo I, porém promove uma redução da cristalinidade

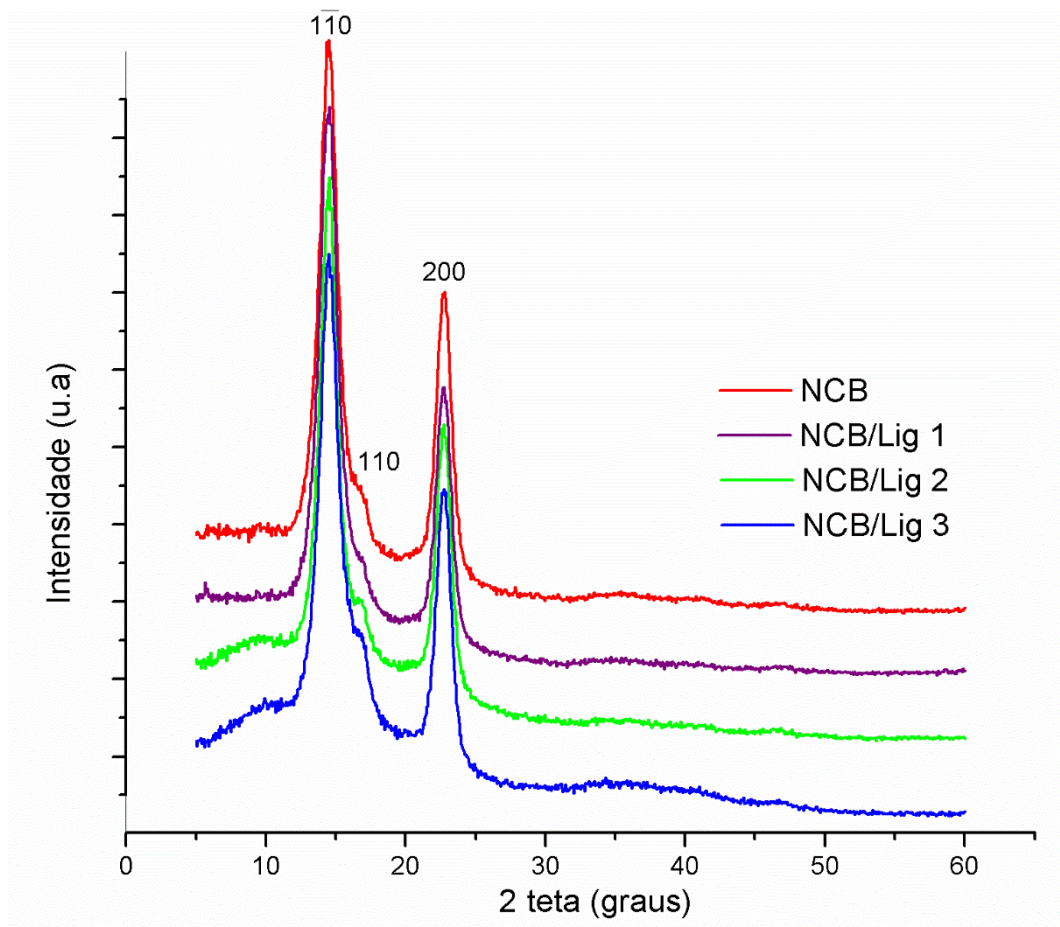
global e aumento da fração amorfa, o que pode impactar diretamente propriedades como absorção de água, comportamento mecânico e estabilidade térmica das membranas.

Os resultados de DRX estão em forte concordância com a análise termogravimétrica (TG/DTG). As curvas TG evidenciam três estágios principais de degradação: (i) perda de água adsorvida abaixo de 120 °C; (ii) degradação da celulose entre aproximadamente 250–350 °C; e (iii) decomposição residual associada à lignina em uma faixa mais ampla de temperatura (200–500 °C). Observa-se que as amostras contendo lignina apresentam um perfil de degradação mais amplo e menos definido, típico de materiais com maior fração amorfa.

Adicionalmente, a temperatura de máxima degradação ($T_{\max}$), obtida a partir das curvas DTG, tende a apresentar leve deslocamento ou alargamento nos compósitos NCB/Lig, refletindo a contribuição da lignina, cuja decomposição ocorre de forma gradual devido à sua estrutura aromática altamente reticulada. Esse comportamento está diretamente relacionado à redução da cristalinidade observada por DRX, uma vez que regiões amorfas apresentam menor estabilidade térmica quando comparadas às regiões cristalinas altamente ordenadas.

Portanto, a integração dos resultados de DRX e TG/dTG demonstram que a incorporação de lignina promove uma diminuição do índice de cristalinidade e aumento da fração amorfa nas membranas, resultando em alterações significativas no comportamento térmico. Essa correlação evidencia a forte dependência entre organização estrutural e estabilidade térmica em sistemas lignocelulósicos, sendo um fator determinante para o desempenho final dos materiais.

Figura 17 - Padrões de difração de raios X das membranas.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.2.6 Ensaio mecânico

A Figura 18 apresenta as curvas de tensão–deformação das membranas de nanocelulose bacteriana (NCB) e NCB modificadas com lignina, evidenciando o comportamento mecânico típico de materiais poliméricos semicristalinos, com uma região inicial linear associada à deformação elástica, seguida por uma região plástica até a ruptura. A inclinação da região elástica está diretamente relacionada ao módulo de Young, sendo um indicativo da rigidez do material (Callister; Rethwisch, 2016).

A amostra controle (NCB) apresentou elevado módulo de Young (2773,08 MPa), refletindo maior inclinação na região elástica e, portanto, maior rigidez, além de menor deformação na ruptura, caracterizando um comportamento mais frágil. Esse resultado está diretamente associado ao maior grau de cristalinidade da nanocelulose pura, conforme evidenciado pelos resultados de difração de raios X (DRX). Regiões

cristalinas promovem maior empacotamento das cadeias poliméricas e maior densidade de interações intermoleculares, resultando em aumento da rigidez e resistência mecânica (Nam et al., 2016).

Por outro lado, as amostras contendo lignina (NCB/Lig) apresentaram comportamento distinto em função da composição. A amostra NCB-Lig 1 apresentou redução significativa do módulo de Young (1525,6 MPa), indicando menor rigidez e maior contribuição da fase amorfa. Já a amostra NCB-Lig 2 apresentou módulo intermediário (2244,61 MPa), sugerindo um balanço entre regiões cristalinas e amorfas. Curiosamente, a amostra NCB-Lig 3 apresentou o maior valor de módulo de Young (2944,64 MPa), superior inclusive ao da NCB pura, indicando possível efeito reforçador da lignina em maiores concentrações ou melhor dispersão/interação com a matriz celulósica.

De modo geral, a redução do módulo observada nas amostras com lignina, especialmente em NCB-Lig 1, está associada à natureza amorfa desse componente, que interfere na organização das cadeias de celulose, promovendo maior mobilidade molecular e reduzindo o grau de cristalinidade do sistema. Essa interpretação é consistente com os resultados obtidos por DRX, nos quais foram observadas diminuição da cristalinidade com o aumento do teor de lignina, conforme discutido previamente com base no método de Segal (Nam et al., 2016; Park et al., 2010). Por outro lado, o aumento do módulo em NCB-Lig 3 sugere que, em determinadas condições, a lignina pode atuar como fase de reforço, favorecendo a transferência de tensão.

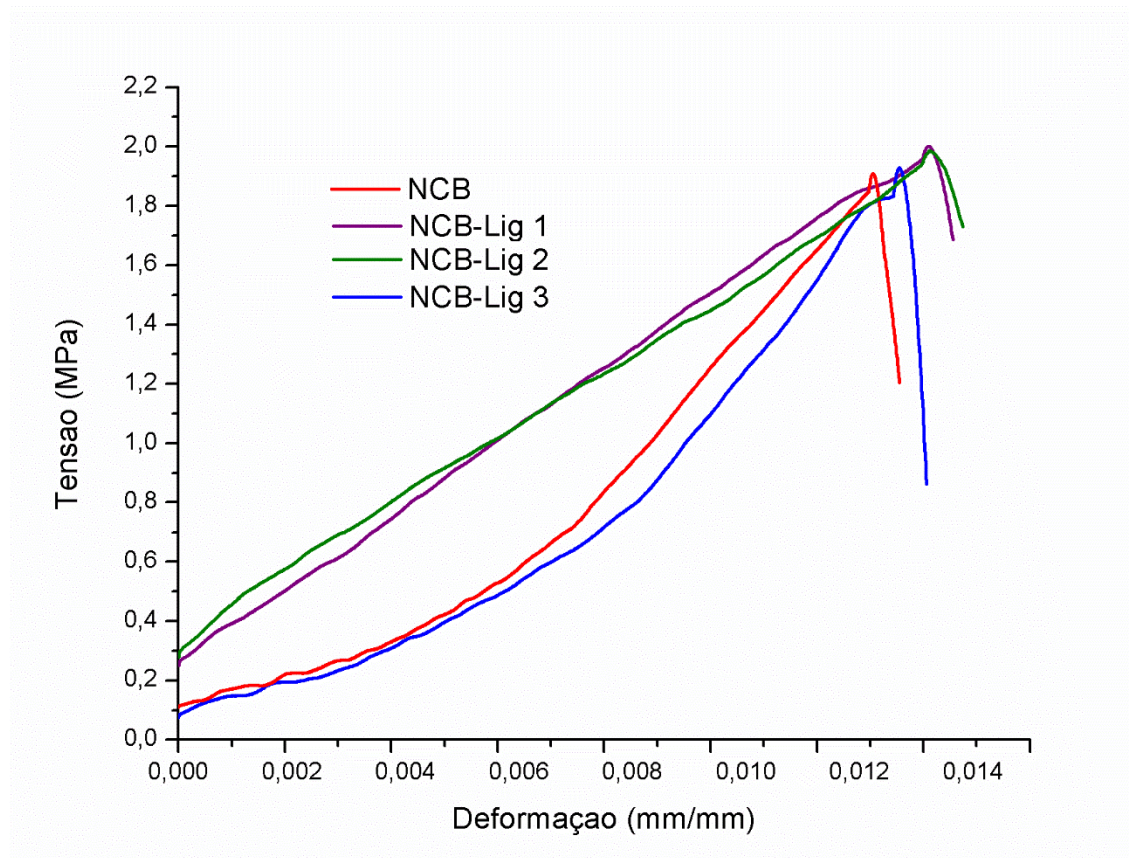
Além disso, a presença de lignina pode atuar como agente de transferência de tensão, dependendo do grau de dispersão e interação com a matriz celulósica, podendo resultar em variações na resistência mecânica do material. Interações intermoleculares, como ligações de hidrogênio entre grupos hidroxila da celulose e grupos fenólicos da lignina, contribuem significativamente para o comportamento mecânico observado (Shorey et al., 2024).

Os resultados mecânicos também apresentam forte correlação com o comportamento térmico obtido por análise termogravimétrica (TG/dTG). As amostras com maior fração amorfa tendem a apresentar menor estabilidade térmica nas regiões iniciais de degradação, bem como perfis de decomposição mais amplos, devido à degradação gradual da lignina, que ocorre em uma faixa extensa de temperatura. Em

contraste, regiões mais cristalinas, como as observadas na NCB pura, apresentam maior resistência térmica e decomposição mais definida (Yang et al., 2007)

Dessa forma, a análise conjunta dos resultados de tração, DRX e TG/dTG demonstra que a incorporação de lignina promove alterações estruturais significativas, influenciando diretamente as propriedades mecânicas. Enquanto teores moderados de lignina tendem a reduzir a rigidez e aumentar a ductilidade, maiores teores podem atuar como reforço estrutural, dependendo da dispersão e interação com a matriz. Essa correlação entre estrutura, comportamento térmico e propriedades mecânicas é fundamental para compreender o desempenho de sistemas lignocelulósicos e direcionar suas aplicações tecnológicas.

Figura 18 - Curva tensão-deformação das membranas.



Fonte: Elaborado pela autora.

A Tabela 5 apresentada evidencia que a incorporação de lignina exerce influência significativa sobre as propriedades mecânicas das membranas de nanocelulose bacteriana, promovendo alterações não lineares no módulo de Young em função da composição. Esse comportamento está diretamente relacionado ao

grau de organização estrutural das cadeias celulósicas, que favorece a formação de uma rede rígida com fortes interações intermoleculares (Nam et al., 2016).

A Tabela 5 também resume as principais tendências estruturais observadas por difração de raios X (DRX), evidenciando a relação entre cristalinidade e desempenho mecânico. De modo geral, a redução inicial do módulo de Young, observada nas amostras com menor teor de lignina, está associada à diminuição da cristalinidade e ao aumento da fração amorfa, conforme indicado pelo alargamento e redução da intensidade dos picos no difratograma. Por outro lado, o aumento do módulo em maiores teores de lignina sugere uma possível reorganização estrutural ou efeito reforçador, possivelmente relacionado à melhor dispersão da lignina e ao estabelecimento de interações intermoleculares mais eficientes com a matriz celulósica.

Esses resultados demonstram que a lignina desempenha um papel dual no sistema, atuando inicialmente como agente desestruturante da fase cristalina e, em condições específicas, como componente de reforço. Assim, a correlação entre os dados mecânicos e estruturais confirma que a cristalinidade é um fator determinante no controle das propriedades das membranas lignocelulósicas.

Tabela 5 - Propriedades mecânicas das membranas.

Amostra	Módulo de Young (MPa)	Tendência estrutural (DRX)	Interpretação
NCB	2773,08	Alta cristalinidade	Alta rigidez, comportamento mais frágil
NCB-Lig 1	1525,6	Redução significativa de cristalinidade	Maior fração amorfa, menor rigidez, maior ductilidade
NCB-Lig 2	2244,61	Cristalinidade intermediária	Equilíbrio entre rigidez e flexibilidade
NCB-Lig 3	2944,64	Reorganização estrutural / possível reforço	Maior rigidez, efeito reforçador da lignina

Fonte: Elaborado pela autora.

4.3 AVALIAÇÃO DA CURVA DE POTENCIAL EM CCM

A Figura 1 apresenta a variação do potencial (mV) ao longo do tempo de operação das células a combustível microbianas (CCMs) contendo diferentes membranas (NCB, NCB/Lig 1, NCB/Lig 2 e NCB/Lig 3), evidenciando o efeito da composição da membrana no desempenho eletroquímico do sistema. As setas vermelhas indicam os momentos de realimentação (48, 144 e 228 h), os quais resultam em aumentos imediatos no potencial, seguidos por uma diminuição gradual. Esse comportamento é amplamente relatado na literatura e está associado à reposição de substrato, que promove o aumento da atividade metabólica dos microrganismos eletrogênicos e, consequentemente, a geração de elétrons ((Logan; Regan, 2006; Santoro et al., 2017).

De modo geral, todas as amostras apresentaram picos de potencial após os eventos de realimentação, seguidos por uma queda progressiva, o que pode ser atribuído à depleção do substrato e ao acúmulo de metabólitos que reduzem a eficiência do sistema. Além disso, limitações no transporte de prótons e aumento da resistência interna também contribuem para a diminuição do desempenho ao longo do tempo (Logan; Regan, 2006).

Entre as membranas avaliadas, a amostra NCB/Lig 2 apresentou os maiores valores de potencial ao longo do experimento, atingindo picos próximos a 30 mV. Esse desempenho superior pode estar relacionado a um equilíbrio adequado entre frações cristalinas e amorfas, favorecendo simultaneamente a condutividade protônica e a retenção de água. De acordo com a literatura, a eficiência das CCMs está diretamente associada às propriedades da membrana, especialmente sua capacidade de transporte de prótons, baixa permeabilidade ao oxigênio e adequada hidratação (Santoro et al., 2017; Zhang et al., 2017).

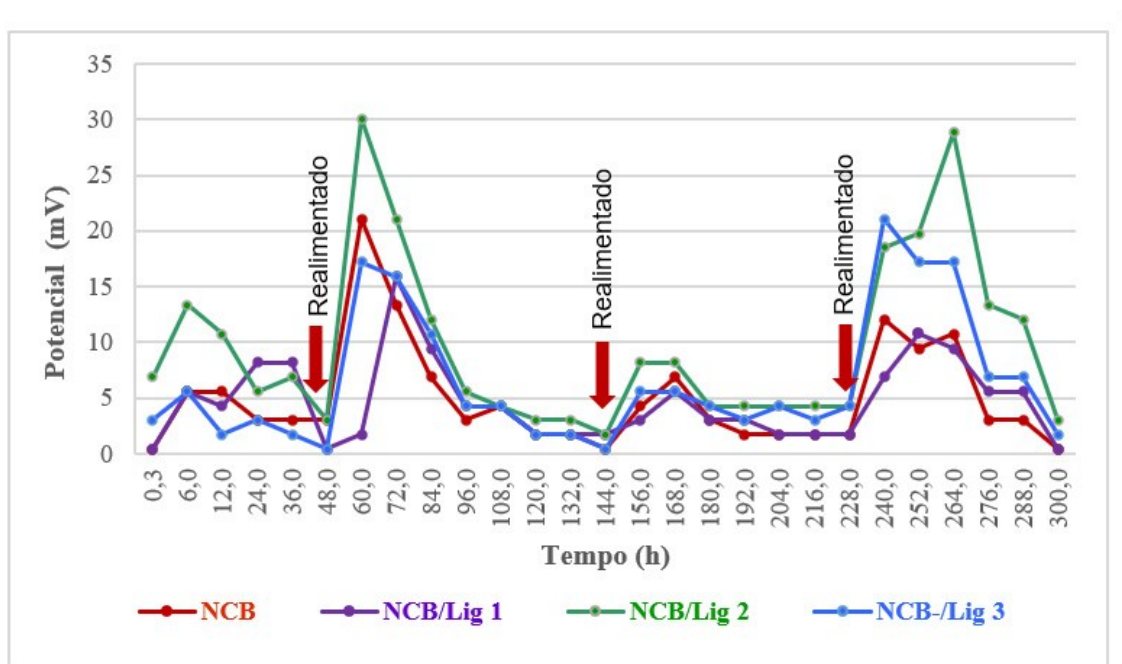
A membrana NCB/Lig 3 também apresentou bom desempenho, com valores elevados de potencial e maior estabilidade ao longo do tempo, o que pode estar associado à melhoria na integridade estrutural e à formação de uma rede mais eficiente para o transporte iônico. Estudos recentes indicam que a incorporação de lignina pode melhorar propriedades como estabilidade mecânica e retenção de umidade, impactando positivamente o desempenho eletroquímico de membranas poliméricas (Yi et al., 2022).

Por outro lado, a membrana NCB/Lig 1 apresentou desempenho inferior, com menores valores de potencial, possivelmente devido ao aumento excessivo da fração amorfa, que pode comprometer a integridade estrutural e aumentar resistência interna do sistema. A amostra controle (NCB) também apresentou desempenho mais limitado, o que pode estar relacionado à menor capacidade de retenção de água e menor mobilidade iônica, características essenciais para o transporte eficiente de prótons em CCMs (Yi et al., 2022).

A queda gradual do potencial após cada pico reforça a influência de fatores operacionais e estruturais no desempenho das CCMs. A literatura aponta que a eficiência desses sistemas depende fortemente da interação entre o biofilme e a membrana, bem como das propriedades físico-químicas do material, incluindo porosidade, hidrofobicidade e condutividade iônica (Santoro et al., 2017).

Portanto, os resultados indicam que a incorporação de lignina nas membranas de NCB pode melhorar significativamente o desempenho das CCMs, especialmente em composições intermediárias, como observado para NCB/Lig 2. A correlação entre propriedades estruturais (DRX), mecânicas e eletroquímicas evidencia que o controle da microestrutura da membrana é fundamental para otimizar a eficiência de sistemas bioeletroquímicos.

Figura 19 - Curva de potencial em CCMs. As setas vermelhas indicam a realimentação após 48h, 144h e 228h de operação.



Fonte: Elaborado pela autora.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos evidenciam que a incorporação de lignina promove alterações consistentes nas propriedades estruturais, físico-químicas, térmicas e mecânicas das membranas de nanocelulose bacteriana. As micrografias de MEV indicaram redução da porosidade, aumento da compactação estrutural e modificações na organização fibrilar, com tendência à formação de aglomerados em determinadas condições. Essas mudanças morfológicas estão diretamente associadas ao comportamento físico das membranas, influenciando sua densidade e organização interna.

Os ensaios de absorção de água, porosidade e capacidade de troca iônica mostraram que a presença de lignina reduz a hidrofiliabilidade do sistema e aumenta a disponibilidade de grupos ionizáveis, refletindo a contribuição de grupos funcionais provenientes da lignina e possíveis resíduos remanescentes do processo de purificação. Esses resultados estão em conformidade com valores reportados na literatura para sistemas lignocelulósicos modificados.

A análise por FTIR confirmou a incorporação da lignina na matriz de nanocelulose, evidenciada pelo aumento das bandas associadas a estruturas aromáticas e grupos fenólicos, além de variações nas regiões de hidroxilas e ligações C–O–C, indicando interações intermoleculares e reorganização da rede polissacarídica. De forma complementar, as curvas de TG/DTG demonstraram comportamento térmico típico de materiais lignocelulósicos, com alargamento das etapas de degradação e aumento do resíduo final nas amostras modificadas, atribuído à presença de estruturas aromáticas mais estáveis.

Os resultados de DRX indicaram redução do índice de cristalinidade e aumento da fração amorfa nas membranas contendo lignina, em concordância com o comportamento observado na análise térmica, evidenciando a relação entre desordem estrutural e estabilidade térmica. Essa correlação reforça a dependência entre organização supramolecular e desempenho térmico dos materiais.

Por fim, os ensaios mecânicos mostraram que a incorporação de lignina altera significativamente o comportamento mecânico das membranas, influenciando a rigidez e a integridade da rede polimérica. Os resultados também indicam que os tratamentos de purificação afetam diretamente a composição final e as propriedades globais das membranas.

REFERÊNCIAS

ABOURICHA, Souhaib *et al.* Biopolymers-Based Proton Exchange Membranes For Fuel Cell Applications: A Comprehensive Review. **ChemElectroChem**, v. 11, n. 9, p. e202300648, 2024.

AKÇAY, Gizem Hazan. BIOELECTRICITY GENERATION BY SACCHAROMYCES CEREVISIAE USING METHYLENE BLUE MEDIATOR IN VARIOUS MICROBIAL FUEL CELL DESIGNS. **Mugla Journal of Science and Technology**, v. 11, n. 2, p. 49–55, 31 dez. 2025.

AMR, Ahmed; IBRAHIM, Hassan. Bacterial Cellulose: Biosynthesis and Applications. *In*: IBRAHIM, Hassan (Org.). **Next-Generation Textiles**. Rijeka: IntechOpen, 2022.

ASGHAR, Muhammad Rehman *et al.* A review of proton exchange membranes modified with inorganic nanomaterials for fuel cells. **Energy Adv.**, v. 4, n. 2, p. 185–223, 2025.

ASTM INTERNATIONAL. **Standard Test Method for Tensile Properties of Polymer Matrix Composite Materials D3039**. Annual Book of ASTM Standards, 2014.

BALAKSHIN, Mikhail Yu. *et al.* New Opportunities in the Valorization of Technical Lignins. **ChemSusChem**, v. 14, n. 4, p. 1016–1036, 2021.

CALLISTER, William D. , Jr; RETHWISCH, David G. **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução**. 9. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2016.

CALVO-FLORES, Francisco García; DOBADO, José A. Lignin as Renewable Raw Material. **ChemSusChem**, v. 3, n. 11, p. 1227–1235, 22 nov. 2010.

CHAKRABORTY, Indrajit *et al.* Novel low cost proton exchange membrane made from sulphonated biochar for application in microbial fuel cells. **Materials Chemistry and Physics**, v. 239, p. 122025, 1 jan. 2020.

CHAVEZ, Bitia K. *et al.* Thermochemical isolation and characterization of nanofibrillated cellulose from *Stipa obtusa* fibers. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 6, p. 100344, 2023.

CUI, Yang; LAI, Bin; TANG, Xinhua. Microbial Fuel Cell-Based Biosensors. **Biosensors**, v. 9, n. 3, 2019.

DE OLIVEIRA BARUD, Hélida Gomes *et al.* A multipurpose natural and renewable polymer in medical applications: Bacterial cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 153, p. 406–420, nov. 2016.

DONGRE, Aman *et al.* Development of microbial desalination cells for the treatment of reverse osmosis reject water: A new benchtop approach. **Environmental Technology & Innovation**, v. 35, p. 103664, 2024.

DOS SANTOS, Fernanda Brito *et al.* Proton Exchange Membranes from Sulfonated Lignin Nanocomposites for Redox Flow Battery Applications. **Small**, v. 20, n. 24, p. 2309459, 2024.

DUFRESNE, Alain. Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial. **Materials Today**, v. 16, n. 6, p. 220–227, 1 jun. 2013.

DWIVEDI, Kavya Arun *et al.* Fundamental understanding of microbial fuel cell technology: Recent development and challenges. **Chemosphere**, v. 288, p. 132446, 2022.

EFREMENKO, Elena *et al.* Changed Characteristics of Bacterial Cellulose Due to Its In Situ Biosynthesis as a Part of Composite Materials. **Polysaccharides**, v. 6, n. 4, p. 114, 14 dez. 2025.

EYLEY, Samuel; THIELEMANS, Wim. Surface modification of cellulose nanocrystals. **Nanoscale**, v. 6, n. 14, p. 7764–7779, 21 jul. 2014.

FARZIN, Seefat *et al.* Ionomers From Kraft Lignin for Renewable Energy Applications. **Frontiers in Chemistry**, v. Volume 8-2020, 2020.

FAZELI, Mahyar *et al.* Lignin beyond the status quo: recent and emerging composite applications. **Green Chem.**, v. 26, n. 2, p. 593–630, 2024.

GADIM, Tiago D. O. *et al.* Protonic conductivity and fuel cell tests of nanocomposite membranes based on bacterial cellulose. **Electrochimica Acta**, v. 233, p. 52–61, 10 abr. 2017.

GEA, S. *et al.* Bacterial cellulose-poly(vinyl alcohol) nanocomposites prepared by an in-situ process. **Materials Letters**, v. 64, n. 8, p. 901–904, 30 abr. 2010.

GENG, Yanzi *et al.* Water harvesting from air by MOF-801/PES porous composite membranes. **Desalination and Water Treatment**, v. 160, p. 57–64, 2019.

GIRARD, Vincent-Daniel; CHAUSSEÉ, Jérémie; VERMETTE, Patrick. Bacterial cellulose: A comprehensive review. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 141, n. 15, p. e55163, 2024.

GÓMEZ-ORDÓÑEZ, Eva; RUPÉREZ, Pilar. FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1514–1520, 1 ago. 2011.

GOPI, S. *et al.* **General scenarios of cellulose and its use in the biomedical field. Materials Today Chemistry** Elsevier Ltd, , 1 set. 2019.

GORGIEVA, Selestina; TRČEK, Janja. Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications. **Nanomaterials**, v. 9, n. 10, p. 1352, 20 set. 2019.

GOUGH, Christopher R. *et al.* Biopolymer-Based Filtration Materials. **ACS Omega**, v. 6, n. 18, p. 11804–11812, 2021.

GUADARRAMA-PÉREZ, Oscar *et al.* Recent advances in constructed wetland-microbial fuel cells for simultaneous bioelectricity production and wastewater treatment: A review. **International Journal of Energy Research**, v. 43, n. 10, p. 5106–5127, 2019.

GUCCINI, Valentina *et al.* Highly proton conductive membranes based on carboxylated cellulose nanofibres and their performance in proton exchange membrane fuel cells. **J. Mater. Chem. A**, v. 7, n. 43, p. 25032–25039, 2019.

GUO, Yajing *et al.* Simultaneous wastewater treatment and energy harvesting in microbial fuel cells: an update on the biocatalysts. **RSC Adv.**, v. 10, n. 43, p. 25874–25887, 2020.

HABIBI, Youssef. Key advances in the chemical modification of nanocelluloses. **Chem. Soc. Rev.**, v. 43, n. 5, p. 1519–1542, 2014.

HU, Liang; LI, Tianchun; JING, Yu. Thermal Pyrolysis Behavior and Decomposition Mechanism of Lignin Revealed by Stochastic Cluster Dynamics Simulations. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 128, n. 9, p. 3832–3838, 7 mar. 2024.

JAIN, Mahak *et al.* Development of microbial fuel cell integrated constructed wetland (CMFC) for removal of paracetamol and diclofenac in hospital wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 344, p. 118686, 2023.

JALILI, Payam *et al.* A comprehensive review of microbial fuel cells considering materials, methods, structures, and microorganisms. **Heliyon**, v. 10, n. 3, 15 fev. 2024.

JARDIM, Juliana M. *et al.* Insights into the Potential of Hardwood Kraft Lignin to Be a Green Platform Material for Emergence of the Biorefinery. **Polymers**, v. 12, n. 8, 2020.

KACZMAREK, Monika; BIAŁKOWSKA, Aneta Monika. Enzymatic functionalization of bacterial nanocellulose: current approaches and future prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 23, n. 1, p. 82, 2025.

KLEMM, Dieter *et al.* Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 44, n. 22, p. 3358–3393, 2005.

KLEMM, Dieter *et al.* Nanocellulose as a natural source for groundbreaking applications in materials science: Today's state. **Materials Today**, v. 21, n. 7, p. 720–748, 1 set. 2018.

LI, Shilong *et al.* Self-Aerated Osmotic Microbial Fuel Cell System Based on Siphon Principle: Performance Investigation and Application Significance. **ACS ES&T Water**, v. 4, n. 8, p. 3265–3273, 9 ago. 2024.

LI, Songtao *et al.* Sustainable Plant-Based Biopolymer Membranes for PEM Fuel Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 23, 2022.

LI, Zhongliang *et al.* A review of the applications of fuel cells in microgrids: opportunities and challenges. **BMC Energy**, v. 1, n. 1, p. 8, 2019.

LIANG, Dingxiang *et al.* Preparation of a novel lignin-based flame retardant for epoxy resin. **Materials Chemistry and Physics**, v. 259, p. 124101, 2021.

LIN, Ning; DUFRESNE, Alain. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. **European Polymer Journal**, v. 59, p. 302–325, 1 out. 2014.

LIU, Cheng; CHENG, Liang; JIA, Hui. Application of microbial fuel cell-based biosensor in environmental monitoring – A critical review. **Electroanalysis**, v. 36, n. 10, p. e202400100, 2024.

LIU, Yucheng *et al.* Application Potential of Novel Natural Cellulosic Fibers in Sustainable Composites: A Short Review of Research Progress from 2020 to 2024. **Journal of Natural Fibers**, v. 22, n. 1, 31 dez. 2025.

LOGAN, Bruce E. *et al.* Microbial fuel cells: Methodology and technology. **Environmental Science and Technology**, 2006.

LOGAN, Bruce E.; REGAN, John M. Microbial Fuel Cells—Challenges and Applications. **Environmental Science & Technology**, 2006.

LÖSER, Neiva. **Desenvolvimento de membranas mistas a base de poli(indeno) sulfonado e PVA reticulado com objetivo de aplicação em célula a combustível tipo PEM**. Dissertação—Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 22 nov. 2011.

LUKOVA, Paolina; KATSAROV, Plamen; PILICHEVA, Bissera. Application of Starch, Cellulose, and Their Derivatives in the Development of Microparticle Drug-Delivery Systems. **Polymers**, v. 15, n. 17, 2023.

LUZ, Erika Patrícia Chagas Gomes *et al.* Bacteria-Derived Cellulose Membranes Modified with Graphene Oxide-Silver Nanoparticles for Accelerating Wound Healing. **ACS Applied Bio Materials**, v. 7, n. 8, p. 5530–5540, 19 ago. 2024.

MD SALIM, Rafidah; ASIK, Jahimin; SARJADI, Mohd Sani. Chemical functional groups of extractives, cellulose and lignin extracted from native *Leucaena leucocephala* bark. **Wood Science and Technology**, v. 55, n. 2, p. 295–313, 23 mar. 2021.

MOON, Robert J. *et al.* Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chem. Soc. Rev.**, v. 40, n. 7, p. 3941–3994, 2011.

MUDDASAR, Muhammad *et al.* **Cellulose: Characteristics and applications for rechargeable batteries.** **International Journal of Biological Macromolecules** Elsevier B.V., , 31 out. 2022.

MYRZAKHMETOV, Bauyrzhan *et al.* Review: chitosan-based biopolymers for anion-exchange membrane fuel cell application. **Royal Society Open Science**, v. 10, n. 11, p. 230843, 2023.

NAM, Sunghyun *et al.* Segal crystallinity index revisited by the simulation of X-ray diffraction patterns of cotton cellulose I β and cellulose II. **Carbohydrate Polymers**, v. 135, p. 1–9, jan. 2016.

O'HAYRE, Ryan *et al.* Chapter 1: Introduction. *In*: **Fuel Cell Fundamentals**. [S.l.: S.n.]. p. 1–24.

PANDEY, Ritu *et al.* Physico-Chemical Characterization of Lignocellulosic Seed Microfibers. **Journal of Natural Fibers**, v. 21, n. 1, 31 dez. 2024.

PARK, Sunkyu *et al.* Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. **Biotechnology for Biofuels**, v. 3, n. 1, p. 10, 24 dez. 2010.

PEI, Ying *et al.* Biopolymer Nanoscale Assemblies as Building Blocks for New Materials: A Review. **Advanced Functional Materials**, v. 31, n. 15, p. 2008552, 2021.

PEIGHAMBARDoust, S. J.; ROWSHANZAMIR, S.; AMJADI, M. Review of the proton exchange membranes for fuel cell applications. *In*: Pergamon, 2010.

PERLES, Carlos E. Propriedades físico-químicas relacionadas ao desenvolvimento de membranas de Nafion® para aplicações em células a combustível do tipo PEMFC. **Polímeros**, v. 18, n. 4, p. 281–288, 2008.

POLETTTO, Matheus; PISTOR, Vincios; J., Ademir. Structural Characteristics and Thermal Properties of Native Cellulose. *In: Cellulose - Fundamental Aspects. [S.l.]: InTech, 2013.*

PONTILLO, Antonella Rozaria Nefeli *et al.* Fabricating lignocellulosic films as potential biobased plastics. **RSC Sustainability**, v. 3, n. 5, p. 2301–2310, 2025.

QASEM, Naef A. A.; ABDULRAHMAN, Gubran A. Q. A Recent Comprehensive Review of Fuel Cells: History, Types, and Applications. **International Journal of Energy Research**, v. 2024, n. 1, p. 7271748, 2024.

R. REBELO, Ana *et al.* Dehydration of bacterial cellulose and the water content effects on its viscoelastic and electrochemical properties. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 19, n. 1, p. 203–211, 31 dez. 2018.

RAGHAVULU, S. Veer *et al.* Saccharomyces cerevisiae as anodic biocatalyst for power generation in biofuel cell: Influence of redox condition and substrate load. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 2751–2757, fev. 2011.

RAHIMNEJAD, Mostafa *et al.* A review on the role of proton exchange membrane on the performance of microbial fuel cell. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 25, n. 12, p. 1426–1432, 2014.

RIDHO, Muhammad Rasyidur *et al.* Lignin as Green Filler in Polymer Composites: Development Methods, Characteristics, and Potential Applications. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2022, p. 1–33, 30 abr. 2022.

SALEH, Ahmed K. *et al.* Functionalization of bacterial cellulose: Exploring diverse applications and biomedical innovations: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 264, p. 130454, 2024.

SALEM, Khandoker Samaher *et al.* Comparison and assessment of methods for cellulose crystallinity determination. **Chemical Society Reviews**, v. 52, n. 18, p. 6417–6446, 2023.

SAMANIEGO, Angelo Jacob; ESPIRITU, Richard. **Prospects on utilization of biopolymer materials for ion exchange membranes in fuel cells. Green Chemistry Letters and Reviews** Taylor and Francis Ltd., 2022.

SANTORO, Carlo *et al.* Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. **Journal of Power Sources**, v. 356, p. 225–244, 2017.

SEIFERT, Marit *et al.* Controlling the water content of never dried and reswollen bacterial cellulose by the addition of water-soluble polymers to the culture medium. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 42, n. 3, p. 463–470, 2004.

SHAH, Syed Waqas Ali *et al.* Lignin-based additive materials: A review of current status, challenges, and future perspectives. **Additive Manufacturing**, v. 74, p. 103711, 2023.

SHARMA, Poonam *et al.* Development of bacterial cellulose-based nanocomposites incorporated with lignin and MgO as a novel antimicrobial wound-dressing material. **Iranian Polymer Journal**, 2025.

SHI, Zhengjun *et al.* Structural characterization of lignin from *D. sinicus* by FTIR and NMR techniques. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 12, n. 3, p. 235–243, 3 jul. 2019.

SHOREY, Rohan *et al.* Valorization of lignin for advanced material applications: a review. **RSC Sustainability**, v. 2, n. 4, p. 804–831, 2024.

SIKARWAR, Divyanshu *et al.* Microbial electrolysis cells: Fuelling the future with biohydrogen – A review. **Sustainable Chemistry for the Environment**, v. 9, p. 100224, 2025.

SOUZA, Letícia *et al.* Lignin-incorporated bacterial nanocellulose for proton exchange membranes in microbial fuel cells. **Materials Chemistry and Physics**, v. 293, p. 126963, 2023.

SUBHADARSHINI, Suchismita *et al.* Sulfonated Polybenzimidazole as a PEM in a Microbial Fuel Cell: An Efficient Strategy for Green Energy Generation and Wastewater Cleaning. **ACS Applied Energy Materials**, v. 6, n. 3, p. 1422–1438, 13 fev. 2023.

SUZANO S.A. **Environmental Product Declaration: Suzano Ecolig 101**. <https://envirodec.com/library/epd22580>The International EPD System, , 2025.

TAPPI. Standard Terms and Their Definition for Cellulose Nanomaterial WI3021. 2012.

THAMBILIYAGODAGE, Charitha *et al.* Recent Advances in Chitosan-Based Applications—A Review. **Materials**, v. 16, n. 5, 2023.

THOMAS, Bejoy *et al.* Nanocellulose, a Versatile Green Platform: From Biosources to Materials and Their Applications. **Chemical Reviews**, v. 118, n. 24, p. 11575–11625, 26 dez. 2018.

TIAN, D. *et al.* Bacterial cellulose/lignin nanoparticles composite films with retarded biodegradability. **Carbohydrate Polymers**, v. 274, 2021.

VANHOLME, Ruben *et al.* Lignin biosynthesis and structure. **Plant Physiology**, v. 153, n. 3, p. 895–905, 2010.

VILELA, Carla *et al.* Nanocellulose-based materials as components of polymer electrolyte fuel cells. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 7, n. 35, p. 20045–20074, 2019.

WALKOWIAK-KULIKOWSKA, Justyna; WOLSKA, Joanna; KORONIAK, Henryk. **Polymers application in proton exchange membranes for fuel cells (PEMFCs). Physical Sciences Reviews**De Gruyter, , 1 ago. 2017.

WANG, Chao *et al.* Cellulose as an adhesion agent for the synthesis of lignin aerogel with strong mechanical performance, Sound-absorption and thermal Insulation. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 32383, 26 ago. 2016.

WANG, Jing; TAVAKOLI, Javad; TANG, Youhong. Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 219, 2019.

WANG, Xueting *et al.* Superior proton conductivity and selectivity in sulfonated ionomer biocomposites containing renewably processed and fractionated lignin. **RSC Sustainability**, v. 3, n. 5, p. 2333–2351, 2025.

WASIM, Muhammad *et al.* **Extraction of cellulose to progress in cellulosic nanocomposites for their potential applications in supercapacitors and energy storage devices. Journal of Materials Science**Springer, , 1 set. 2021.

XU, Yixin *et al.* Development and properties of bacterial cellulose, curcumin, and chitosan composite biodegradable films for active packaging materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 260, p. 117778, 2021.

XUE, Yifan; ALNAJIDEEN, Mohammad; NAVARATNE, Rukshan. Evolution of Proton Exchange Membrane Fuel Cell Technology for Aviation Applications: A Review. **Energy & Fuels**, v. 39, n. 49, p. 22839–22887, 11 dez. 2025.

YANG, Haiping *et al.* Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. **Fuel**, v. 86, n. 12–13, p. 1781–1788, ago. 2007.

YANG, Jian *et al.* Lignin: A multi-faceted role/function in 3D printing inks. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 267, p. 131364, 2024a.

YANG, Xiaozhen *et al.* A Sustainable and Eco-Friendly Membrane for PEM Fuel Cells Using Bacterial Cellulose. **Polymers**, v. 16, n. 21, 2024b.

YE, Jiaye *et al.* Ion Selectivity and Stability Enhancement of SPEEK/Lignin Membrane for Vanadium Redox Flow Battery: The Degree of Sulfonation Effect. **Frontiers in Chemistry**, v. Volume 6-2018, 2018.

YI, Yanjie *et al.* Emerging Lignin-Based Materials in Electrochemical Energy Systems. **Energies**, v. 15, n. 24, p. 9450, 13 dez. 2022.

YUAN, Zhizhang *et al.* Highly stable aromatic poly (ether sulfone) composite ion exchange membrane for vanadium flow battery. **Journal of Membrane Science**, v. 541, p. 465–473, 1 nov. 2017.

ZHANG, Heng *et al.* In situ controllable fabrication of porous bacterial cellulose. **Materials Letters**, v. 249, p. 104–107, 15 ago. 2019.

ZHANG, P. *et al.* Enhanced performance of microbial fuel cell with a bacteria/multi-walled carbon nanotube hybrid biofilm. **J. Power Sources**, v. 361, p. 318, 2017.

ZHANG, Sufeng *et al.* Nanocellulose-Based Proton Exchange Membranes with Excellent Dimensional Stability, Superior Mechanical Properties, and High Proton Conductivity via Composite MOF@CNT. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 17, n. 10, p. 15555–15569, 12 mar. 2025.

ZHAO, Chunxia *et al.* High-performance proton exchange membranes for direct methanol fuel cells based on a SPEEK/polybenzoxazine crosslinked structure. **RSC Advances**, v. 5, n. 59, p. 47284–47293, 2015.