

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

DESENVOLVIMENTO DE ELETRÓLITOS NANOCOMPÓSITOS DE NAFION  
E NANOCRISTAIS DE CELULOSE PARA USO EM CÉLULAS  
ELETROLÍTICAS COM MEMBRANA TROCADORA DE PRÓTONS (PEMECs).

Jéssica de Aguiar

São Carlos-SP

2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

DESENVOLVIMENTO DE ELETRÓLITOS NANOCOMPÓSITOS DE NAFION  
E NANOCRISTAIS DE CELULOSE PARA USO EM CÉLULAS  
ELETROLÍTICAS COM MEMBRANA TROCADORA DE PRÓTONS (PEMECs).

Jéssica de Aguiar

Tese apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e Engenharia  
de Materiais como requisito parcial à  
obtenção do título de DOUTORA EM  
CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

Orientador: Dr. José Manoel Marconcini

Coorientador: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso

Agência Financiadora: (CAPES - Processo: 88882.332728/2019-01)

São Carlos-SP

2022



## DEDICATÓRIA

A todos que nunca deixaram de acreditar na ciência.

## VITAE

Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade do Estado de Santa Catarina (2017), Bacharel em Engenharia de Produção e Sistemas pela Universidade do Estado de Santa Catarina (2015).





**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

---

**Folha de Aprovação**

---

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Jéssica de Aguiar, realizada em 20/04/2022.

**Comissão Julgadora:**

Prof. Dr. José Manoel Marconcini (EMBRAPA)

Prof. Dr. Carlos Henrique Scuracchio (UFSCar)

Prof. Dr. Francys Kley Vieira Moreira (UFSCar)

Profa. Dra. Maria Alice Martins (EMBRAPA)

Profa. Dra. Morsyleide de Freitas Rosa (EMBRAPA)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.



## AGRADECIMENTOS

Ao meu noivo e melhor amigo Diego Gomes Tomé, por sempre acreditar no meu potencial, seu apoio foi o que tornou tudo possível.

A minha família, pela minha formação como pessoa e apoio incondicional.

Ao meu orientador Dr. José Manoel Marconcini, pela paciência, apoio e oportunidade de amadurecimento científico.

Ao meu coorientador Dr. Luiz Mattoso, pelo suporte acadêmico.

Ao Dr. Marcelo Carmo, pela orientação e hospitalidade em me receber no Forschungszentrum Jülich durante o doutorado sanduíche.

À Dra. Cristiane Sanchez Farinas, pela atenção e dedicação ao meu trabalho.

Ao Dr. Cauê Ribeiro de Oliveira e à Dra. Tatiana Santana Ribeiro, por sua amizade e apoio.

Aos professores Dr. Francys kley Vieira Moreira e Dr. Marcello Rubens Barsi Andreetta, pelo conhecimento adquirido sobre o processo de ensino e aprendizagem obtido durante o Programa de Estágio Supervisionado de Capacitação Docente (PESCD).

Aos amigos Jhony e Wagner, pela amizade e suporte emocional ao longo desses anos que moramos juntos.

A minha parceira de laboratório Dra. Thalita Jessika Bondancia, por tantas conversas, todo auxílio e paciência.

Aos colegas de Embrapa, pelo suporte e troca de experiências.

Aos analistas, pesquisadores e funcionários da Embrapa Instrumentação, por todo suporte e dedicação.

Ao Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) e seus funcionários pelo auxílio para a realização das análises de Microscopia de força atômica (AFM).

À equipe técnica do Forschungszentrum Jülich, principalmente ao Daniel Holtz e à Stefanie Fischer, pelo auxílio na preparação e caracterização dos MEAs.

À Embrapa Instrumentação, pela estrutura de pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação Ciência e Engenharia de Matérias (PPGCEM) e à Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), pela formação.

Às agências de fomento: CAPES, DAAD, CNPq e FAPESP pelos recursos concedidas durante o período de doutorado e doutorado sanduíche.

À Bolsa Alemã Co-funded Research Grants – Short-Term Grants (Serviço Alemão de Intercâmbio Acadêmico-DAAD), Processo 91752074.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo apoio financeiro para realização desse trabalho com bolsa de estudos, processo nº 88882.332728/2019-01.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho.

## RESUMO

Células eletrolíticas com membrana trocadora de prótons (PEMECs) são dispositivos que realizam a eletrólise da água para a produção de hidrogênio. O eletrólito mais empregado em PEMECs é a membrana comercial Nafion, um material de elevado custo e difícil reciclagem. A substituição parcial do Nafion por nanocristais de celulose (CNCs) através da produção de membranas nanocompósitos pode aumentar propriedades elétricas, mecânicas e biodegradabilidade. Neste sentido, o objetivo deste trabalho é estudar a elaboração de nanocompósitos (Nafion-CNC) visando o desenvolvimento de eletrólitos de alto desempenho (mecânico e elétrico) para aplicação em PEMEC. Na primeira etapa do trabalho foi avaliado o potencial de aproveitamento de resíduos agroindustriais (bagaço e palha de cana-de-açúcar) para a obtenção de CNCs via hidrólise enzimática. Os CNCs obtidos a partir de ambas as biomassas apresentaram elevado índice de cristalinidade ( $> 70\%$ ) e alta estabilidade térmica ( $T_{\text{onset}} > 300\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Na segunda etapa foram avaliados os efeitos da adição de CNCs ao Nafion. Foram produzidas membranas de nafion com dois tipos de CNCs, um obtido por hidrólise enzimática e outro com CNCs comercial, obtidos por hidrólise ácida. A adição de ambos os CNCs acarretam efeitos similares nas propriedades das membranas. Para as amostras tanto com CNC comercial quanto CNC enzimático foi observado aumento no módulo de elasticidade (respectivamente 10% e 40%) e tensão máxima (respectivamente 10% e 13%). Os dois nanocompósitos apresentaram redução na temperatura de início de degradação térmica, contudo ainda apresentaram estabilidade suficiente ( $T_{\text{onset}} > 170\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) para aplicação em PEMECs (temperatura padrão de operação  $< 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Ainda, houve aumento significativo na capacidade de umidificação e elevação da condutividade. Por fim, as membranas nanocompósitos foram testadas em PEMEC obtendo-se uma performance comparável ao apresentado pelas membranas contendo apenas Nafion.

**Palavras-chave:** Células eletrolíticas com membrana trocadora de prótons (PEMECs), Nanocristais de celulose (CNCs); Nafion; Biomassa de cana-de-açúcar; hidrólise enzimática.



**ABSTRACT**  
**DEVELOPMENT OF NAFION AND CELLULOSE NANOCRYSTALS**  
**NANOCOMPOSITE ELECTROLYTES FOR USE IN PROTON EXCHANGE**  
**MEMBRANE WATER ELECTROLYSIS (PEMWE).**

Proton exchange membrane water electrolysis (PEMWE) performs the electrolysis of water to produce hydrogen, a source of clean and renewable energy. The most used commercial electrolyte in PEMWE is the Nafion membrane, a material that is expensive and difficult to recycle. The partial replacement of Nafion with cellulose nanocrystals (CNCs) can produce composite membranes can increased electrical, mechanical and biodegradability properties. In this sense, the objective of this work is to study the elaboration of nanocomposites (Nafion-CNC) aiming at developing high-performance electrolytes for application in PEMWE. In the first stage of the work, the potential of using agro-industrial residues (bagasse and sugarcane straw) to obtain CNCs via enzymatic hydrolysis was evaluated. CNCs obtained from both biomasses showed high crystallinity index ( $> 70\%$ ) and high thermal stability ( $T_{\text{onset}} > 300$  °C). In the second stage, the effects of adding CNCs to Nafion were evaluated. Nafion membranes were produced with two types of CNCs, one obtained by enzymatic hydrolysis and the other by acid hydrolysis (commercial). The addition of both CNCs has similar effects on Nafion's properties. For samples with both commercial and enzymatic CNC, an increase in the modulus of elasticity (10% and 40% respectively) and maximum stress (10% and 13% respectively) was observed. The two nanocomposites showed lower initial thermal degradation temperatures, however, they still showed sufficient stability ( $T_{\text{onset}} > 170$  °C) for application in PEMWE (standard operating temperature  $< 100$  °C). Furthermore, there was a significant increase in the humidification capacity and increase in conductivity. Composite membranes were tested in PEMWE and their usability was proven.

**Keywords:** Proton Exchange Membrane Water Electrolysis (PEMWE), Cellulose Nanocrystals (CNCs); Nafion; Sugarcane biomass; enzymatic hydrolysis



## PUBLICAÇÕES

- AGUIAR, J. CARMO, M.; MATTOSO, L. H. C.; MARCONCINI, J. M. Cellulose nanocrystals as additives in Nafion membranes for water electrolysis applications, 2022 (Preprint SciELO)
- AGUIAR, J.; BONDANCIA, T.J.; CLARO, P.I.C.; MATTOSO, L.H.C.; FARINAS, C.S.; MARCONCINI, J.M. Enzyme deconstruction of sugarcane bagasse and straw to obtain cellulose nanomaterials. ACS Sustainable Chemistry and Engineering, v8, p. 2287-2299, 2020.
- BONDANCIA, T.J.; AGUIAR, J.; BATISTA, G.; CRUZ, A.J.G.; MARCONCINI, J.M.; MATTOSO, L.H.C.; FARINAS, C.S. Production of nanocellulose using citric acid in a biorefinery concept: effect of the hydrolysis reaction time and techno-economic analysis. Industrial and Engineering Chemistry Research. v.59, p.11505-11516, 2020.
- BONDANCIA, T.J.; DE AGUIAR, J.; MATTOSO, L.H.C.; MARCONCINI, J. M.; FARINAS, C.S. Produção de nanocelulose integrada a obtenção de etanol 2g a partir do bagaço de cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA. São Carlos - SP. Dezembro, 2019.
- AGUIAR, J.; BONDANCIA, T. J.; CLARO, P. I. C.; FARINAS, C. S.; MATTOSO, L. H. C.; MARCONCINI, J. M. Nanocellulose from sugarcane bagasse by enzymatic hydrolysis. In: 8th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NATURAL POLYMERS AND COMPOSITES, São Pedro – SP. Maio, 2018.



## ÍNDICE DE ASSUNTOS

	Pág.
FOLHA DE APROVAÇÃO.....	i
AGRADECIMENTOS .....	iii
RESUMO.....	v
ABSTRACT .....	vii
PUBLICAÇÕES.....	ix
SUMÁRIO.....	xi
ÍNDICE DE TABELAS .....	xv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xvii
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xxi
1 INTRODUÇÃO .....	1
1.1 Objetivo geral.....	4
1.2 Objetivos específicos .....	4
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1 Nanofibras de celulose.....	5
2.1.1 Fibras vegetais.....	5
2.1.2 Celulose .....	6
2.1.3 Hemiceluloses.....	8
2.1.4 Lignina .....	9
2.1.5 Biomassa de cana-de-açúcar.....	9
2.1.6 Nanocelulose .....	11
2.1.7 Nanocelulose a partir da biomassa de cana-de-açúcar .....	15
<b>2.2 Eletrólise da água .....</b>	<b>17</b>
2.2.1 Economia do hidrogênio .....	17
2.2.2 Célula eletrolítica.....	20
2.2.3 Termodinâmica aplicada em célula eletrolítica.....	20
2.2.4 Célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC).....	21
2.2.5 Caracterização eletroquímica de uma PEMEC .....	25
2.2.6 Membrana eletrolítica de Nafion .....	26
2.3 Nanocompósitos poliméricos .....	28
2.4 Aditivos em membranas eletrolíticas.....	30

3	MATERIAIS E MÉTODOS .....	33
3.1	Etapa 1: Obtenção e caracterização de nanocelulose a partir de bagaço e palha de cana-de-açúcar via rota enzimática .....	33
3.1.1	Purificação da biomassa lignocelulósica .....	34
3.1.2	Hidrólise enzimática .....	35
3.1.3	Caracterização química .....	36
3.1.3.1	<i>Determinação do teor de umidade</i> .....	36
3.1.3.2	<i>Determinação do teor de cinzas</i> .....	37
3.1.3.3	<i>Determinação do teor de extrativos</i> .....	37
3.1.3.4	<i>Determinação do teor de lignina</i> .....	38
3.1.3.5	<i>Determinação do teor de holocelulose</i> .....	40
3.1.3.6	<i>Determinação do teor de alfacelulose e hemicelulose</i> .....	41
3.1.4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) .....	41
3.1.5	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	41
3.1.6	Difratometria de Raios X (DR-X) .....	42
3.1.7	Microscopia de força atômica (AFM) .....	42
3.1.8	Espalhamento dinâmico de luz (DLS) e potencial zeta .....	43
3.1.9	Termogravimetria (TG/DTG) .....	44
3.2	Etapa 2: Produção e caracterização das membranas de Nafion com e sem CNC .....	44
3.2.1	Preparação das membranas .....	44
3.2.2	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) .....	47
3.2.3	Difratometria de Raios X (DR-X) .....	48
3.2.4	Microscopia de força atômica (AFM) .....	48
3.2.5	Termogravimetria (TG/DTG) .....	48
3.2.6	Calorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	48
3.2.7	Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA) .....	49
3.2.8	Capacidade de absorção de água .....	49
3.2.9	Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) .....	50
3.2.10	Preparação das membranas revestidas com catalisador (CCM) .....	50
3.2.11	Teste em célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC) .....	53

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.1	Etapa 1: Obtenção e caracterização de nanocelulose a partir de bagaço e palha de cana-de-açúcar via rota enzimática	55
4.1.1	Purificação e composição química	55
4.1.2	Hidrólise enzimática	58
4.1.3	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	60
4.1.4	Difratometria de Raios X (DR-X)	63
4.1.5	Microscopia de força atômica (AFM)	67
4.1.6	Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	71
4.1.7	Termogravimetria (TG/DTG)	74
4.2	Etapa 2: Produção e caracterização de eletrólitos nanocompósitos Nafion – CNC	78
4.2.1	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	79
4.2.2	Difratometria de Raios X (DR-X)	82
4.2.3	Microscopia de força atômica (AFM)	84
4.2.4	Termogravimetria (TG/DTG)	86
4.2.5	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	88
4.2.6	Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA)	90
4.2.7	Ensaio de Mecânico de tração	92
4.2.8	Capacidade de absorção de água	94
4.2.9	Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE)	96
4.2.10	Teste em célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC)	99
5	CONCLUSÕES	103
6	SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS	105
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107



## ÍNDICE DE TABELAS

	Pág.
Tabela 4.1 - Composição química das fibras de cana-de-açúcar (bagaço e palha) antes e depois do processo de purificação. ....	55
Tabela 4.2 - Principais bandas de absorção características dos materiais lignocelulósicos [66,122]. ....	62
Tabela 4.3 - Dimensões dos nanocristais de celulose obtidas por microscopia de força atômica (AFM).....	71
Tabela 4.4 - Tamanhos de partículas aparentes ( $Z_D$ ), índices de polidispersidade (PDI) e potencial zeta aparente para as amostras de bagaço e palha de cana-de-açúcar, obtidos após diferentes tempos de hidrólise enzimática. ....	72
Tabela 4.5 – Propriedades térmicas do bagaço e palha de cana-de-açúcar <i>in natura</i> , após o processo de purificação e após diferentes tempos de hidrólise enzimática. ....	76
Tabela 4.6 - Principais bandas de absorção características do Nafion [28,138] .....	81
Tabela 4.7 – Dados obtidos por TG/DTG para as amostras de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC_C) e nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC_ENZ). ....	87
Tabela 4.8 - Propriedades mecânicas de engenharia das membranas com e sem nanocristais de celulose. ....	93
Tabela 4.9 - Capacidade de absorção de água nas membranas de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC_C) e nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC_ENZ). ....	95
Tabela 4.10 – Condutividade protônica estimada a partir dos gráficos de Nyquist das membranas úmidas e secas. ....	98
Tabela 4.11 – Potenciais apresentados pela célula eletrolítica durante a aplicação de diferentes densidades de correntes. ....	101



## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 2.1 - Representação esquemática da estrutura das fibras vegetais.....	6
Figura 2.2 - Estrutura molecular da celulose .....	7
Figura 2.3 - Estrutura molecular dos monossacarídeos comumente encontrados na hemicelulose .....	8
Figura 2.4 - Estrutura molecular dos álcoois precursores da lignina .....	9
Figura 2.5 - Representação esquemática de uma planta de cana-de-açúcar ..	10
Figura 2.6 - Esquema de rotas para obtenção de nanofibrilas e nanocristais de celulose .....	12
Figura 2.7 - Representação da ação enzimática durante a hidrólise.....	15
Figura 2.8 - Rede de integração usando hidrogênio como armazenador de energia .....	19
Figura 2.9 - Representação esquemática de uma PEMEC.....	23
Figura 2.10 – Curva de polarização de uma célula eletrolítica operando a 80 °C dividida em três regiões: polarização por ativação (I), por queda ôhmica (II) e por transporte de massa (III). Linha vermelha representa o potencial reversível teórico para a reação. ....	25
Figura 2.11 - Representação da unidade repetitiva do Nafion e representação da estrutura micelar invertida .....	27
Figura 2.12 – Representação da evolução morfológica do Nafion em função da hidratação.....	28
Figura 3.1 - Diagrama esquemático da sequência experimental para obtenção da nanocelulose a partir de bagaço e palha de cana-de-açúcar via rota enzimática .....	34
Figura 3.2 - Diagrama esquemático da sequência experimental de preparação das membranas.....	46
Figura 3.3 - Componentes de uma membrana revestida com catalizador (CCM) .....	51
Figura 3.4 Preparação de uma membrana revestida com catalizador (CCM) através do método Decal. ....	52

Figura 3.5 - Arranjo experimental para teste em célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC) .....	53
Figura 4.1 - Micrografias de microscopia eletrônica de varredura e imagens do aspecto visual do bagaço e da palha de cana-de-açúcar <i>in natura</i> e após o processo de purificação. ....	57
Figura 4.2 - Perfis temporais de (a) conversão de celulose e (b) concentração de açúcar para as reações de hidrólise enzimática do bagaço e palha de cana-de-açúcar purificados. ....	58
Figura 4.3 - Perfil temporal da produção de nanocristais de celulose (CNCs) após hidrólise enzimática do bagaço e palha de cana-de-açúcar purificados. ....	59
Figura 4.4 - Espectros de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para (a e b) bagaço de cana-de-açúcar <i>in natura</i> (B_IN), purificado (B_PUR) e após diferentes tempos de hidrólise enzimática (B_HE24h, B_HE48h, B_HE72h, B_HE96h); (c e d) palha de cana-de-açúcar <i>in natura</i> (P_IN), purificada (P_PUR) e após diferentes tempos de hidrólise enzimática (P_HE24h, P_HE48h, P_HE72h, P_HE96h).....	61
Figura 4.5 - Difractogramas de raios-X ajustados por deconvolução do bagaço de cana-de-açúcar (a) <i>in natura</i> , (b) purificado e após hidrólise enzimática com duração de (c) 24h, (d) 48h, (e) 72h, e (f) 96h. ....	65
Figura 4.6 Difractogramas de raios-X ajustados por deconvolução da palha de cana-de-açúcar (a) <i>in natura</i> , (b) purificada e após hidrólise enzimática com duração de (c) 24h, (d) 48h, (e) 72h, e (f) 96h. ....	66
Figura 4.7 - Imagens obtidas por microscopia de força atômica (AFM) e as distribuições de comprimento e diâmetro dos nanocristais de celulose obtidos a partir do bagaço de cana-de-açúcar após hidrólise enzimática de 24h (a - c), 48h (d - f), 72h (g - i) e 96h (j - l). ....	69
Figura 4.8 - Imagens obtidas por microscopia de força atômica (AFM) e as distribuições de comprimento e diâmetro dos nanocristais de celulose obtidos a partir da palha de cana-de-açúcar após hidrólise enzimática de 24h (a - c), 48h (d - f), 72h (g - i) e 96h (j - l). ....	70

- Figura 4.9 - Curvas TG / DTG para os diferentes materiais (brutos, tratados e após hidrólise enzimática): bagaço de cana-de-açúcar e (a e b) e palha de cana-de-açúcar (c e d). ..... 75
- Figura 4.10 - Membranas produzidas com Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ)..... 79
- Figura 4.11 – (a) Espectros de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para membrana de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNCs comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNCs obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ); (b) ampliações dos mesmos espectros na faixa espectral de 1600 a 800  $\text{cm}^{-1}$ ..... 80
- Figura 4.12 Difrátogramas de raios-X para membrana de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNCs comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNCs obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ)..... 83
- Figura 4.13 - Imagens obtidas por microscopia de força atômica (AFM) da superfície da (a) membrana de Nafion comercial (N115), (b) Nafion obtido por casting (Ncast), (c-d) nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e (e-f) nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ). ..... 85
- Figura 4.14 - Curvas de termogravimetria TG/DTG para (a) membrana de Nafion comercial (N115), (b) Nafion obtido por casting (Ncast), (c) nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e (d) nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ). . 86
- Figura 4.15 – Curvas de calorimetria diferencial de varredura das membranas de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ). . 89
- Figura 4.16 – Análise térmica dinâmico-mecânica (a) módulo de armazenamento e (b) fator de amortecimento em função da temperatura das membranas de

Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC_C) e nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC_ENZ). .	91
Figura 4.17 - Curvas representativas de tensão em função da deformação das membranas com e sem nanocristais de celulose.....	93
Figura 4.18 - Gráficos de Nyquist obtidos por espectroscopia de impedância eletroquímica a 200 mV obtidos a partir das membranas (a) úmidas e (b) secas. ....	97
Figura 4.19 – Curva de polarização da célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons. ....	100

## SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

<b>A</b>	Área da seção transversal da membrana
<b>AFC</b>	Célula combustível alcalina
<b>AFM</b>	Microscopia de força atômica
<b>B_HE24h</b>	Bagaço após 24 h de hidrólise enzimática
<b>B_HE48h</b>	Bagaço após 48 h de hidrólise enzimática
<b>B_HE72h</b>	Bagaço após 72 h de hidrólise enzimática
<b>B_HE96h</b>	Bagaço após 96 h de hidrólise enzimática
<b>B_IN</b>	Bagaço de cana-de-açúcar in natura
<b>B_PUR</b>	Bagaço purificado
<b>BNC</b>	Nanocelulose bacteriana
<b>BP</b>	Bagaço purificado
<b>C%</b>	Conversão enzimática de celulose
<b>CCM</b>	Membranas revestidas com catalisador
<b>CLS</b>	Concentração de lignina solúvel
<b>CNCs</b>	Nanocristais de celulose
<b>CNFs</b>	Nanofibrilas de celulose
<b>DLS</b>	Espalhamento dinâmico de luz
<b>DMA</b>	Análise mecânica dinâmica
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DMTA</b>	Análise térmica dinâmico-mecânica
<b>DR-X</b>	Difratometria de Raios X
<b>DSC</b>	Calorimetria exploratória diferencial
<b>DTG</b>	Termogravimetria derivada
<b>EIE</b>	Espectroscopia de impedância eletroquímica
<b>FTIR</b>	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
<b>IC (%)</b>	Índice de cristalinidade
<b>L</b>	Espessura da membrana
<b>M<sub>A</sub></b>	Massa inicial de amostra
<b>M<sub>C</sub></b>	Massa cadinho calcinado sem amostra

<b>M<sub>CC</sub></b>	Massa do conjunto cadinho e cinzas
<b>M<sub>CNCs</sub></b>	Massa de nanocristais de celulose
<b>MEV</b>	Microscopia eletrônica de varredura
<b>M<sub>F</sub></b>	Massa do funil calcinado sem amostra
<b>M<sub>FA</sub></b>	Massa do funil seco com sólido remanescente
<b>MFC</b>	Celulose microfibrilada
<b>M<sup>F</sup><sub>glicose</sub></b>	Massa de glicose após a hidrólise enzimática
<b>M<sub>FP</sub></b>	Massa das fibras purificadas utilizadas na hidrólise enzimática
<b>M<sup>I</sup><sub>celulose</sub></b>	Massa da celulose utilizada na hidrólise enzimática
<b>M<sup>I</sup><sub>glicose</sub></b>	Massa de glicose antes da hidrólise enzimática
<b>M<sub>LS</sub></b>	Massa de lignina solúvel
<b>M<sub>s</sub></b>	Massa da membrana seca
<b>M<sub>u</sub></b>	Massa da membrana úmida
<b>N/CNC_C</b>	Membrana de Nafion contendo nanocristais de celulose comercial
<b>N/CNC_ENZ</b>	Membrana de Nafion contendo nanocristais de celulose enzimáticos
<b>N115</b>	Membrana de Nafion 115 ou Nafion comercial
<b>Ncast</b>	Membrana de Nafion produzida por conformação
<b>NFC</b>	Celulose nanofibrilada
<b>P_HE24h</b>	Palha após 24 h de hidrólise enzimática
<b>P_HE48h</b>	Palha após 48 h de hidrólise enzimática
<b>P_HE72h</b>	Palha após 72 h de hidrólise enzimática
<b>P_HE96h</b>	Palha após 96 h de hidrólise enzimática
<b>P_IN</b>	Palha de cana-de-açúcar in natura
<b>P_PUR</b>	Palha purificada
<b>PDI</b>	Índice de polidispersidade
<b>PEM</b>	Membrana sólida trocadora de prótons
<b>PEMEC</b>	Célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons
<b>PEMFC</b>	Célula a combustível com membrana polimérica trocadora de prótons

<b>PP</b>	Palha purificada
<b>PTL</b>	Camadas de transporte poroso
<b>R</b>	Resistencia elétrica da amostra
<b>R<sub>CNC</sub></b>	Rendimento de nanocristais de celulose
<b>RHE</b>	Resíduo da hidrólise enzimática
<b>SOFC</b>	Célula combustível de Óxidos sólidos
<b>TA (%)</b>	Teor de alfacelulose
<b>TC (%)</b>	Teor de cinzas
<b>T<sub>g</sub></b>	Transição vítrea
<b>TG</b>	Termogravimetria
<b>TH (%)</b>	Teor de holocelulose
<b>TL (%)</b>	Teor total de lignina
<b>TLI (%)</b>	Teor de lignina insolúvel
<b>TLS (%)</b>	Teor de lignina solúvel
<b>T<sub>onset</sub></b>	Temperatura de início de degradação térmica
<b>V<sub>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></sub></b>	Volume de ácido sulfúrico
<b>Z<sub>D</sub></b>	Tamanho médio de partícula
<b>ΔM</b>	Capacidade de absorção de água das membranas
<b>ε</b>	Deformação
<b>σ</b>	Condutividade protônica



## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a necessidade pela conservação do meio ambiente tem se tornado cada vez mais evidente, resultando em uma crescente busca por materiais ambientalmente corretos como por exemplo, aqueles produzidos a partir de fontes renováveis [1]. Neste sentido, pesquisas voltadas ao desenvolvimento de novos materiais têm demonstrado a importância de resíduos agroindustriais como matéria-prima para a elaboração de produtos com maior valor agregado. O aproveitamento destes resíduos além de poder ser economicamente viável, também é capaz de minimizar problemas ambientais relacionados ao seu descarte [2].

Entre os diversos setores agrícolas, a cana-de-açúcar é conhecida não apenas por seu volume de produção, mas também por sua vasta capacidade de geração de resíduos [3]. Atualmente o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo com produção entre 650 e 700 milhões toneladas por ano, seguido pela Índia (340 milhões) e China (115 milhões) [4]. O bagaço de cana-de-açúcar, um resíduo da produção de álcool e açúcar, tem sido utilizado na produção de etanol de segunda geração (2G) e tem potencial para ser utilizado na obtenção de produtos de maior valor agregado, como nanocelulose [5]. Em estudos recentes [6–8] a extração de CNCs tem sido explorada dentro do conceito de biorrefinaria, uma vez que materiais lignocelulósicos como a biomassa de cana de açúcar podem ser utilizados numa diversidade de compostos (açúcares solúveis), estruturas (micro e nanofibras) [9], biocombustíveis e outros produtos de base biológica [10].

Outro material proveniente da produção de cana-de-açúcar é a palha, um resíduo do processo de colheita, constituído por folhas secas e topos verdes, mantidos no campo para proteção do solo ou colhidos para produção de bioenergia [11]. As propriedades químicas e morfológicas das fibras da palha, são similares as apresentadas pelo bagaço, tornando-as outra potencial matéria-prima para a produção de nanocelulose [12]. No entanto, até o presente momento não foram encontrados na literatura estudos sobre a utilização de palha de cana-de-açúcar para a obtenção de nanocelulose.

Existem diferentes estudos que investigam a extração de nanocelulose do bagaço de cana-de-açúcar. As rotas para a obtenção destas nanoestruturas incluem principalmente métodos químicos [3,13–19], mecânicos [20,21] ou uma associação de métodos, tais como mecânico e enzimático [22–24]. A nanocelulose apresenta características como alta resistência e rigidez, baixa densidade, boa capacidade de modificação química e biodegradabilidade [24,25]. A nanocelulose pode ser empregada na fabricação de nanocompósitos, embalagens, cosméticos, produtos médicos e farmacêuticos, dispositivos eletrônicos [24,26] e recentemente na produção de nanocompósitos baseados em Nafion e CNCs para aplicação em células a combustível [27,28].

A presença de grande quantidade de grupos hidroxilas na superfície das nanocelulose é capaz de garantir uma alta capacidade de absorção de água, fácil funcionalização e considerável habilidade de estabelecer ligações de hidrogênio com substratos poliméricos polares. Na literatura, a nanocelulose vem sendo investigada para aplicações onde essas propriedades são desejadas como filmes fotônicos, membranas eletrolíticas, células a combustível e outros sistemas relacionados [29]. Por exemplo, Jiang e colaboradores [30] estudaram a produção de filmes a partir de celulose bacteriana (BC) e Nafion (através do método de conformação por evaporação de solvente) e observaram que os materiais produzidos exibiram aumento na condutividade iônica e mantiveram estabilidade térmica aceitável para aplicações abaixo de 100 °C. Em outro estudo, Gadim e colaboradores [28] obtiveram membranas de Nafion com celulose bacteriana (BC) que apresentaram incrementos na propriedades mecânicas bem como na condutividade iônica. Além disso, no trabalho de Hasani-Sadrabad e colaboradores [31] CNCs foram incluídos com sucesso na membrana Nafion para maximizar o desempenho da célula de combustível. A análise da impedância eletroquímica mostrou que a adição de 5% (m/m) de CNCs pode afetar positivamente a condutividade protônica.

No entanto, todos esses estudos têm concentrado seus esforços para produzir membranas de nafion e nanocelulose para aplicação em células a combustível. Contudo as propriedades apresentadas por esses nanocompósitos

são promissoras para a inclusão em outros dispositivos como é o caso das células eletrolíticas com membrana trocadora de prótons (PEMECs).

As PEMECs são dispositivos eletroquímicos que realizam a eletrólise da água para a produção de hidrogênio. Esses dispositivos têm potencial para revolucionar o setor energético e ajudar a sociedade a superar a necessidade de utilizar combustíveis fósseis. As PEMECs utilizam água e corrente elétrica para produção de hidrogênio sem emitir gases do efeito estufa e possuem eficiência relativamente alta [27,32,33].

A estrutura básica de uma PEMEC compreende dois eletrodos porosos, cuja composição depende do tipo de célula, separados por um eletrólito e conectados por meio de um circuito externo. A membrana mais comumente utilizada é a de Nafion, que possui alta condutividade de prótons ( $> 100 \text{ mS cm}^{-1}$ ), boa resistência mecânica e estabilidade química. No entanto o Nafion é um material caro, difícil de reciclar no final de vida, tem condutividade de prótons que depende fortemente da umidificação e sua estabilidade mecânica é comprometida em temperaturas maiores que  $100^\circ\text{C}$  [32–34].

Diante do exposto, torna-se claro o potencial de exploração das propriedades de eletrólitos nanocompósitos baseados em Nafion-CNCs para aplicação em PEMEC. Sendo possível ainda a utilização de CNCs obtidos a partir do aproveitamento de resíduos agroindustriais e produzidos através de processos mais verdes como a hidrólise enzimática.

## 1.1 Objetivo geral

Estudo da correlação propriedade-estrutura de nanocompósitos Nafion-nanocristais de celulose visando o desenvolvimento de eletrólitos de alto desempenho para células eletrolíticas com membrana trocadora de prótons (PEMECs).

## 1.2 Objetivos específicos

- Estudar condições para a obtenção de CNCs via hidrólise enzimática utilizando como matéria-prima bagaço e palha de cana-de-açúcar visando a geração de nanoestruturas uniformes com maiores razões de aspecto, índice de cristalinidade e estabilidade térmica;
- Investigar métodos para a produção de membranas utilizando como matriz o Nafion com adição de CNCs comercial e obtidos via hidrólise enzimática.
- Estudar a influência da adição dos diferentes CNCs nas propriedades morfológicas, químicas, físicas e elétricas das membranas produzidas;
- Avaliar a performance das membranas em uma célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC).

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Nanofibras de celulose**

#### **2.1.1 Fibras vegetais**

A maior fonte de carboidratos do mundo provem das fibras vegetais [35]. Uma das possíveis aplicações para este material é como reforço de compósitos poliméricos em substituição às fibras sintéticas. Além de apresentarem baixo custo, as fibras vegetais também possuem vantagens em relação a preservação dos recursos naturais, uma vez que as mesmas são biodegradáveis, atóxicas e de fonte renovável [36,37]. No entanto, a conversão dessa matéria-prima em estruturas capazes de atuar como reforço pode exigir técnicas específicas devido às suas características químicas e morfológicas [38]. A composição química, bem como a morfologia e as propriedades das fibras vegetais dependem da espécie vegetal, do cultivo, do local de extração, da idade da planta, da parte da planta escolhida e das condições do solo onde foram cultivadas [39]. Como ilustra a Figura 2.1, as paredes da fibra vegetal são compostas por microfibrilas, que são cadeias de celulose envoltas por uma matriz amorfa formada principalmente por lignina e hemicelulose [36]. Em geral, as microfibrilas são compostas por 35-50% de celulose, 20-35% de hemicelulose, 10-25% de lignina e uma pequena quantidade de cinzas e extrativos [29].

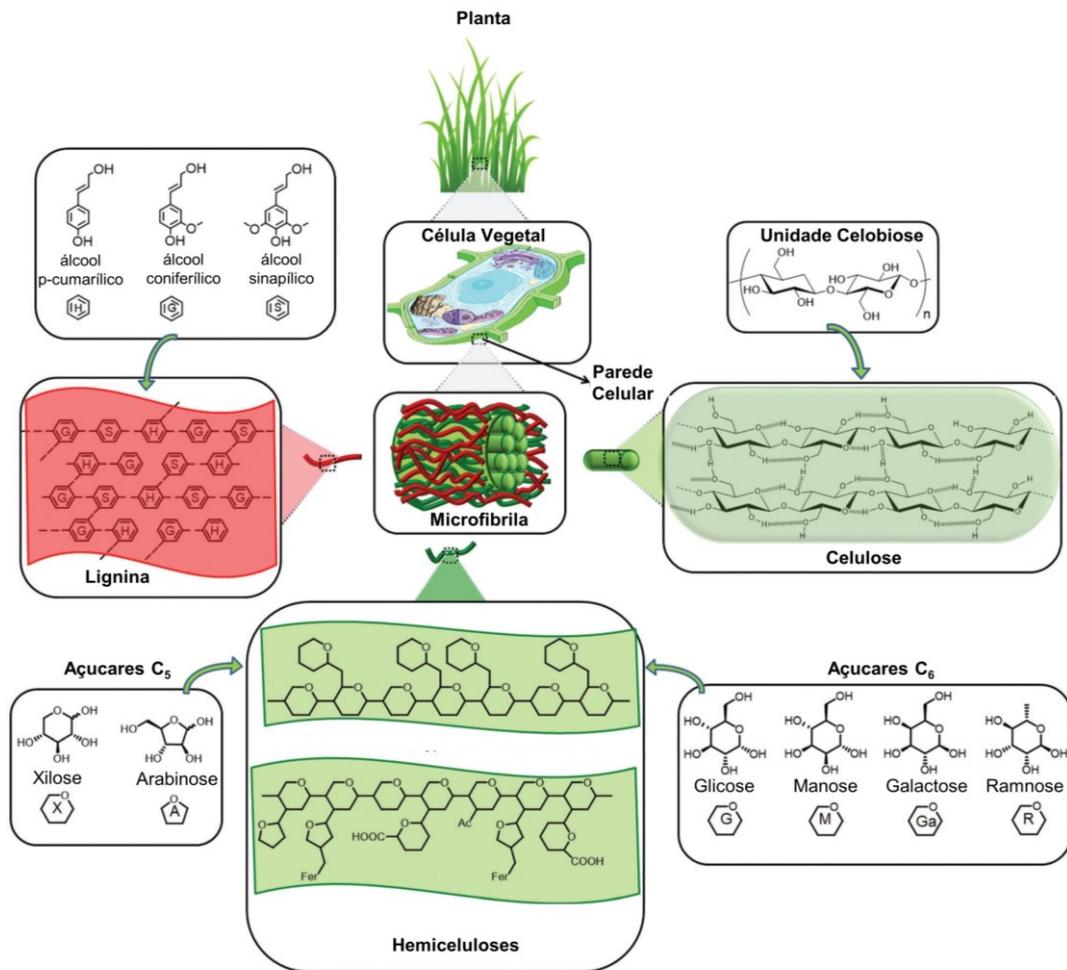


Figura 2.1 - Representação esquemática da estrutura das fibras vegetais  
 Fonte: Adaptado de ref. [40]

### 2.1.2 Celulose

A celulose é um homopolímero classificado como polissacarídeo de fórmula geral  $(C_6 H_{10}O_5)_n$ , constituída por uma cadeia linear variando de centenas a mais de 10.000 unidades de glucose conectadas por ligações  $\beta$ -1,4 glicosídicas [35]. Na Figura 2.2 está representada a estrutura molecular da celulose.

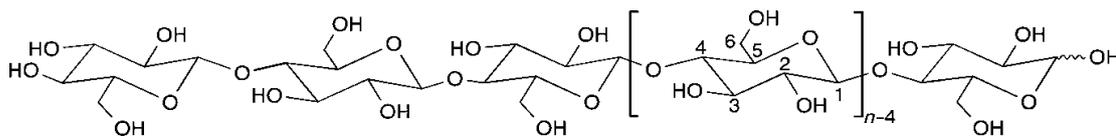


Figura 2.2 - Estrutura molecular da celulose

Fonte: Adaptado de ref. [41]

A união de duas moléculas de glucose eterificadas por ligações  $\beta$ -1,4-glucosídicas, com um ângulo de  $180^\circ$  em relação a um mesmo plano, formam a unidade repetitiva de celulose denominada celobiose. Cada unidade de celobiose possui seis grupos hidroxilas livres. Assim, devido à disponibilidade destes grupos funcionais, a celulose forma ligações de hidrogênio intra e intermoleculares que são importantes na definição das propriedades químicas e físicas da celulose. As ligações intramoleculares conferem rigidez à cadeia de celulose. Por outro lado, as ligações intermoleculares geram uma tendência da celulose formar uma estrutura semicristalina que a torna completamente insolúvel em água [41,42].

A celulose pode apresentar estruturas polimorfas: celulose I, celulose II, celulose III<sub>1</sub>, celulose III<sub>2</sub>, celulose IV<sub>1</sub> e celulose IV<sub>2</sub>. A celulose I também conhecida como celulose nativa é o polimorfo encontrado na natureza e apresenta duas formas cristalinas distintas, I <sub>$\alpha$</sub>  e I <sub>$\beta$</sub> . A forma I <sub>$\alpha$</sub>  é encontrada em celulose proveniente de algas e bactérias e possui estrutura cristalina triclinica com apenas uma cadeia por cela unitária. Por outro lado, a forma I <sub>$\beta$</sub>  é dominante em plantas superiores e possui estrutura cristalina monoclinica com duas cadeias paralelas de celulose por cela unitária [43]. Dentre as diferentes formas polimorfas da celulose, a celulose II é a que possui a estrutura termodinamicamente mais estável. Esta estrutura pode ser obtida a partir da celulose I tanto por tratamento com solução de hidróxido de sódio (mercerização) ou por processos similares ao utilizados na produção de filmes e fibras de celulose onde é realizada a dissolução da celulose e posterior precipitação/regeneração [41]. Assim como a celulose I <sub>$\beta$</sub> , a celulose II também apresenta célula unitária monoclinica composta por duas cadeias de celulose,

no entanto nesta estrutura as cadeias de celulose estão em posições antiparalelas, gerando um sistema de ligações de hidrogênio distinto.

### 2.1.3 Hemiceluloses

As hemicelulose ou polioses são polímeros ramificados de baixa massa molar (GP na faixa de 100 a 200) compostos de diferentes monossacarídeos. As unidades de açúcares que comumente compõem as hemiceluloses podem ser observadas na Figura 2.3 [44]. As hemiceluloses atuam como material ligante entre celulose e a lignina e têm significativa ação no controle do crescimento das estruturas vegetais [45].

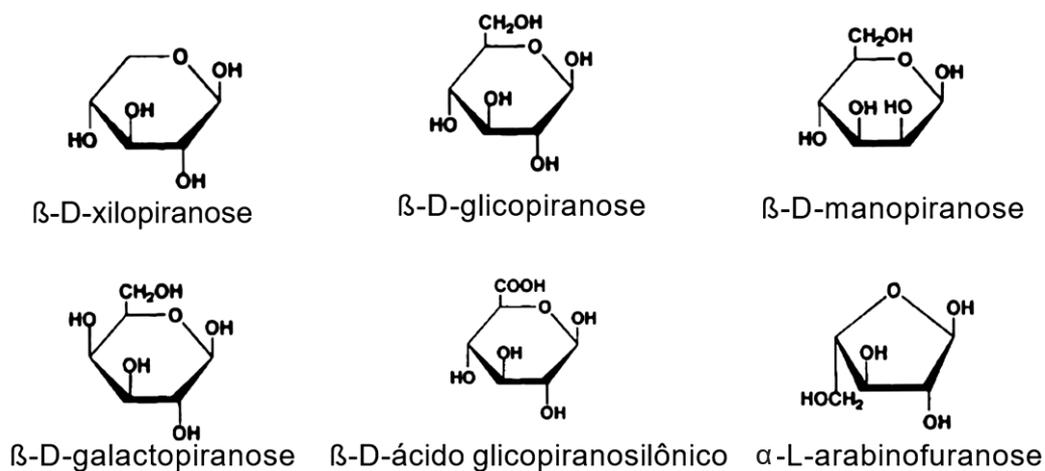


Figura 2.3 - Estrutura molecular dos monossacarídeos comumente encontrados na hemicelulose

Fonte: Adaptado de ref. [46]

Em comparação com a celulose, as hemiceluloses apresentam maior susceptibilidade à hidrólise devido ao seu caráter amorfo, pois oferecem uma maior acessibilidade aos agentes utilizados para promover a reação. Por esse motivo, a hemicelulose tem significativa relevância para processos industriais como a produção de açúcares fermentáveis e combustíveis [42].

### 2.1.4 Lignina

A lignina é uma macromolécula complexa, amorfa e formada principalmente a partir da polimerização desidrogenativa das unidades de álcoois cumarílico (unidade p-hidroxifenila), coniferílico (unidade guaiacila) e sinapílico (unidade siringila) [47]. As estruturas dos principais álcoois precursores podem ser observadas na Figura 2.4.

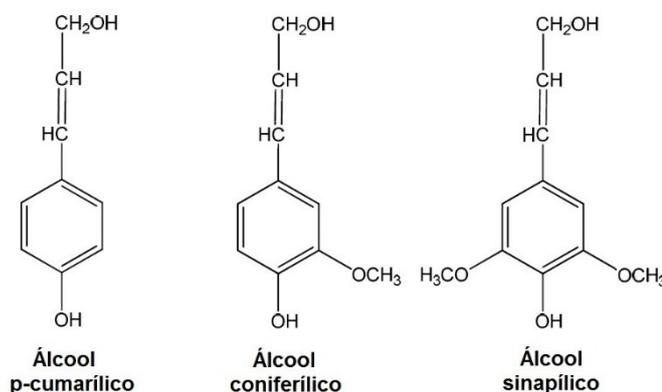


Figura 2.4 - Estrutura molecular dos álcoois precursores da lignina

Fonte: Adaptado de ref. [48]

A lignina atua como um agente de ligação das cadeias de celulose, resultando no fortalecimento e enrijecimento das paredes celulares. Este tipo de estrutura também é responsável por tornar a parede celular hidrofóbica, apresentando assim, papel relevante no armazenamento no interior da célula de água, nutrientes e metabólitos. Ainda, a lignina tem função de proteção da planta, pois dificulta a penetração de enzimas degradadoras dos polissacarídeos [49].

### 2.1.5 Biomassa de cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta herbácea, alógama, pertencente à família *Poaceae*, tribo *Andropogoneae* e gênero *Saccharum*. Um dos principais componentes da cana-de-açúcar é o caule. O caule é composto pela epiderme, uma capa fina que protege e impermeabiliza o talo; a casca que fornece sustentação a planta e o tecido parenquimatoso, cuja função é armazenar açúcares. Dentro desse tecido existem feixes de fibras e vasos que têm a

finalidade de transportar nutrientes e outras substâncias produzidos pela planta [50]. Outro componente presente na cana-de-açúcar é a palha que é constituída por ponteiros (topos verdes) e folhas secas [11]. Uma representação esquemática dos principais componentes da cana-de-açúcar pode ser observada na Figura 2.5.

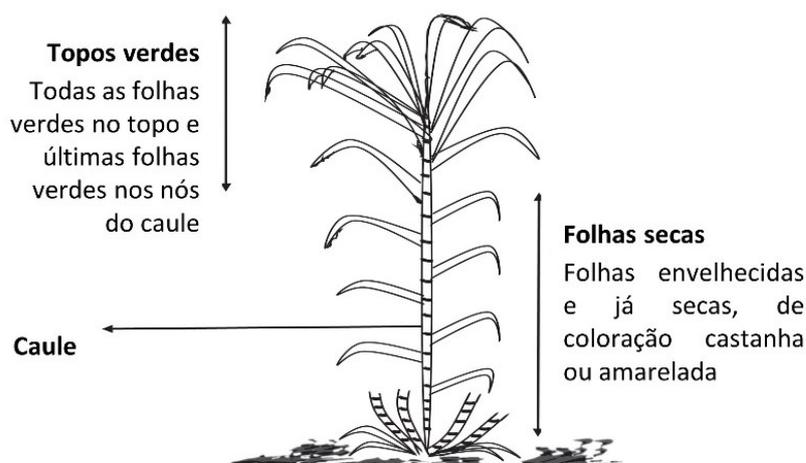


Figura 2.5 - Representação esquemática de uma planta de cana-de-açúcar

Fonte: Adaptado de ref. [11]

Na safra 2018/2019, a área cultivada com cana-de-açúcar no Brasil ocupou aproximadamente 8,6 milhões de hectares, sendo o estado de São Paulo o maior produtor nacional, com participação equivalente a 51% da área plantada [51]. Para cada tonelada de cana processada no Brasil são gerados cerca de 140 kg de bagaço e 140 kg de palha seca [42].

O bagaço de cana-de-açúcar é um material lignocelulósico fibroso obtido durante o processamento industrial do caule onde é feita a extração do caldo rico em sacarose utilizado para a produção de açúcar e de etanol. O bagaço é composto por um conjunto de tecidos heterogêneo com dimensões que variam de 1 a 25 mm. A granulometria do bagaço varia com a técnica de moagem e características da cana[50]. A celulose é o principal componente do bagaço e representa 34% a 45% do material, a lignina representa de 17% a 23%, as polioses representam 26% a 32% e o restante, cerca de 10%, são componentes

minoritários de baixa massa molar, extrativos e substâncias minerais [52,53]. O bagaço de cana-de-açúcar além de ser queimado para geração de energia na própria usina também apresenta uma versatilidade de aplicações podendo ser utilizado na produção de papelão, ração animal e biocombustíveis como o etanol de segunda geração (2G) [54]. Além disso, a composição química do bagaço evidencia o potencial de suas fibras para utilização como reforços em materiais compósitos [55].

Outro importante resíduo oriundo da produção de cana-de-açúcar é a palha. Sua composição química é similar à do bagaço, apresentando 33% a 41% de celulose, 26% a 31% de hemicelulose e 19% a 26% de lignina [52]. O aumento da mecanização das colheitas de cana-de-açúcar no Brasil nas últimas décadas, impulsionada pela legislação que visa proibir a queima e reduzir a colheita manual, resultou em maiores volumes de palha de cana-de-açúcar retidos no campo. A palha quando mantida na superfície do solo pode proporcionar benefícios para a qualidade do solo, aumentar a produtividade e reduzir a necessidade de fertilizantes e adubos. Contudo, está prática também pode gerar consequências negativas como causar proliferação de pragas, causar incêndios e elevar as emissões de gases do efeito estufa [11]. Uma alternativa para o reaproveitamento da palha é a sua utilização para a geração bioenergia [11,12,42], ou ainda na obtenção de produtos com maior valor agregado como é o caso da nanocelulose.

### **2.1.6 Nanocelulose**

A nanocelulose é um material que além de ser biodegradável e obtido de fontes renováveis, também apresenta propriedades interessantes como elevada área específica, alta transparência, alta resistência, baixa densidade, ampla capacidade de modificação química e biocompatibilidade [56,57]. Os usos mais comuns para este tipo de material são na produção de nanocompósitos, componentes eletrônicos, embalagens, encapsulamento de fármacos e materiais para uso na biomedicina. Dentre estas aplicações, a mais estudada é o desenvolvimento de materiais nanocompósitos. A elevada razão de aspecto permite efetiva transferência de tensão entre a celulose e a matriz. Já a elevada

área específica permite que pequenas concentrações de partículas produzam um eficiente reforço [58].

A nanocelulose pode ser extraída de diferentes fontes naturais através de rotas química, física e enzimática (método *top-down*) ou por meio da síntese a partir de glucose por bactérias (método *bottom-up*). Dependendo do método de extração e da morfologia do material obtido a nanocelulose pode ser classificada em três categorias principais: (i) nanofibrila de celulose (CNF), igualmente conhecida como celulose nanofibrilada (NFC) ou celulose microfibrilada (MFC); (ii) nanocristal de celulose (CNC) ou *nanowhisker* e (iii) celulose bacteriana (BNC)[59,60]. Na Figura 2.6 são apresentadas algumas rotas para a obtenção de CNCs e CNFs.

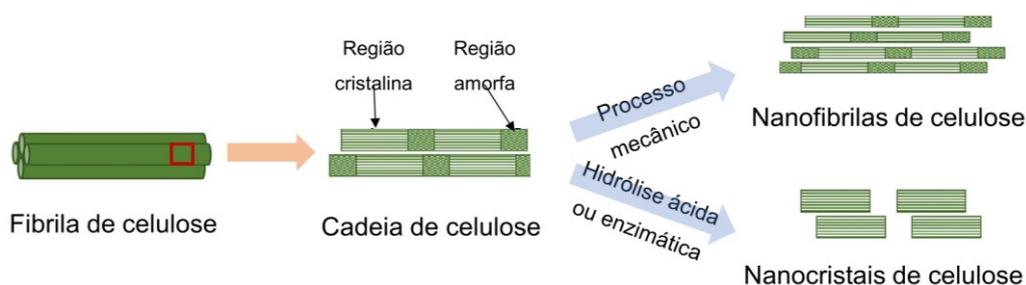


Figura 2.6 - Esquema de rotas para obtenção de nanofibrilas e nanocristais de celulose

Fonte: Adaptado de ref. [61]

As CNFs são estruturas alongadas e flexíveis, com domínios cristalinos e amorfos. O diâmetro destas estruturas varia entre 5 e 50 nm podendo o comprimento chegar a alguns microns. As CNFs podem ser obtidas por rotas que causam principalmente o desemaranhamento das microfibrilas, como por exemplo, o cisalhamento mecânico ou cisalhamento mecânico com auxílio de ação enzimática. Os CNCs são estruturas finas e alongadas com predomínio cristalino, possuem diâmetro entre 3 e 35nm e comprimento entre 200 e 500 nm. Estas estruturas podem ser obtidas via hidrólise ácida ou por tratamento enzimático. Já a BNC é obtida a partir de açúcares com baixa massa molar e

álcoois, gerando estruturas com diâmetro de 3-140 nm e comprimento com mais de 2  $\mu\text{m}$  [60,62].

Em geral, nos processos de extração da nanocelulose, a biomassa lignocelulósica é submetida a uma série de pré-tratamentos para remover materiais não celulósicos tais como lignina, hemicelulose, lipídios, cera e pectina. Com base no tipo de pré-tratamento a purificação da celulose pode ser dividida em três categorias: física, química e biológica.

O pré-tratamento químico é uma das técnicas mais estudadas devido a sua eficiência na remoção dos constituintes não celulósicos associado a um relativo baixo custo. Este método foi originalmente desenvolvido, e ainda têm sido amplamente utilizados, na indústria de papel para deslignificação de materiais celulósicos, visando a obtenção de produtos de alta qualidade[63]. Durante a deslignificação ocorre a separação da celulose dos demais constituintes. Neste tratamento ocorre elevada degradação da lignina das fibras além de haver solubilização da hemicelulose[64]. Existem diferentes técnicas de pré-tratamento químico, contudo, uma das mais utilizadas é através de reações realizadas em meio alcalino (mercerização). Para isso podem ser empregadas diferentes bases, como por exemplo, o hidróxido de sódio, hidróxido de cálcio, hidróxido de potássio, amônia aquosa, entre outras[63]. Os pré-tratamentos alcalinos oxidativos utilizam agentes oxidantes (por exemplo, NaOH) para realizar a oxidação seletiva dos compostos aromáticos presentes na lignina. Essa oxidação ocorre devido à quebra das ligações dos grupos hidrofílicos, extraíndo principalmente a lignina e uma parte hemicelulose [65].

Após a deslignificação, uma etapa que pode ser adicionada ao processo de purificação da celulose é o branqueamento. Esse processo consiste na eliminação por hidrólise e oxidação dos grupos cromóforos da lignina residual gerando assim aumento da alvura e clareza do material [66].

Quando as fibras vegetais alcançam considerável teor de celulose são aplicados métodos de extração da nanocelulose [67]. A obtenção de nanocelulose pela rota química utilizando ácidos fortes é amplamente estudada, destacando-se o uso de ácido sulfúrico. Contudo, esse método apresenta algumas limitações, por exemplo, a dificuldade de recuperação do ácido e da

neutralização do material obtido após o processo. Além disso, quando comparado a outras formas de extração, o CNC obtido por rota ácida apresenta baixa estabilidade térmica e difícil capacidade de funcionalização devido a presença de grupos sulfatos[68].

Assim, devido a estas limitações, outros métodos de obtenção da nanocelulose tem recebido atenção, dentre os quais pode-se destacar a hidrólise enzimática. Esta rota além de ser uma metodologia verde, também apresenta vantagens como custo relativamente inferior dos equipamentos utilizados no processamento (por exemplo reator), obtenção de estruturas com alta estabilidade térmica e fácil funcionalização [65,69]. A hidrólise enzimática da celulose ocorre por ação de enzimas que catalisam a reação de hidrólise das cadeias celulósicas sob condições amenas de temperatura e pH (Figura 2.7). As enzimas utilizadas na hidrólise podem ser classificadas em dois grupos: celulasas (endoglicanases e exoglicanases) e  $\beta$ -glicosidases [70]. As endoglicanases iniciam a reação, promovendo a hidrólise de forma aleatória das regiões internas da estrutura amorfa da celulose, liberando oligossacarídeos e produzindo pontas de cadeia redutoras e não-redutoras. Sua ação ocasiona um decréscimo significativo do grau de polimerização. As exoglicanases clivam as ligações  $\beta$ -1.4-glicosídicas externas das cadeias liberando celo-oligossacarídeos pequenos como os dissacarídeos (celobiose). As  $\beta$ -glicosidases, são enzimas que finalizam a hidrólise, pois têm a capacidade de hidrolisar celobiose e oligossacarídeos solúveis em glicose[70].

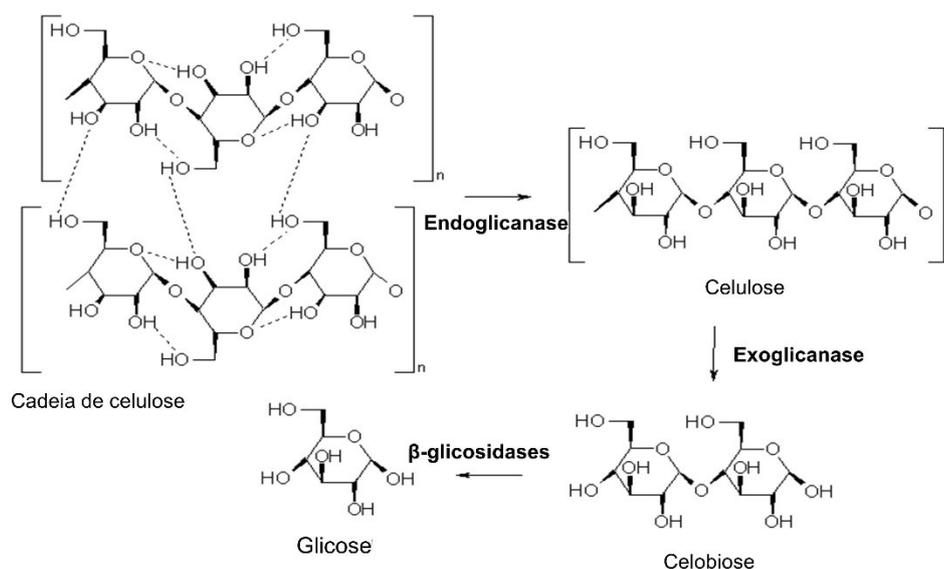


Figura 2.7 - Representação da ação enzimática durante a hidrólise

Fonte: Adaptado de ref. [71]

### 2.1.7 Nanocelulose a partir da biomassa de cana-de-açúcar

As biorrefinarias de cana-de-açúcar têm acesso a enormes quantidades de biomassas lignocelulósicas na forma de bagaço e palha. Embora a utilização convencional envolva combustão em caldeiras para produzir energia, uma fração desse material pode ser destinada para outras aplicações com maior valor agregado. Um exemplo deste tipo de aplicação inclui a produção de nanoestruturas de celulose como as nanofibrilas de celulose (CNF) e o nanocristais de celulose (CNC) [55].

Devido ao potencial destas biomassas em serem utilizadas na obtenção de nanocelulose, são encontrados na literatura uma considerável quantidade de estudos que investigam metodologias de extração de nanocelulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar, sendo a rota mais comumente abordada a hidrólise ácida realizada com ácido sulfúrico[3,15–18,72,73]. No entanto, estudos utilizando outras metodologias de extração de nanocelulose têm recebido a atenção, dentre as quais pode-se destacar a rota enzimática. A via enzimática é uma alternativa promissora quando comparada com a ácida, onde o uso de enzimas apresenta vantagens relacionadas as condições mais brandas de reação (temperatura, pH, menor periculosidade e eliminação de problemas com

corrosão de equipamentos), além da especificidade dos biocatalisadores. Desse modo, estudos têm sido conduzidos de forma a avaliar tanto a influência de tratamentos de purificação da biomassa quanto variáveis do processo de hidrólise, como tempo de reação, tipo de coquetel utilizado e carga enzimática[74].

De Campos e colaboradores [23] produziram nanocelulose a partir de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por meio de hidrólise enzimática seguida de sonicação. A hidrólise foi realizada com uma combinação de dois tipos de enzimas (Endoglucanase e uma mistura de hemicelulases e pectinases) durante 72 horas. A metodologia aplicada pelos autores resultou em nanoestruturas com diâmetros médios de 30 nm e comprimentos que variaram de 250 a 900 nm dependendo da combinação de enzimas utilizadas. O índice de cristalinidade das amostras passou de aproximadamente 65% das fibras *in natura* para 70% da nanocelulose obtida, comprovando assim a viabilidade da utilização da hidrólise enzimática para a produção de materiais altamente cristalinos.

Teixeira e colaboradores [22] obtiveram nanocelulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar, por meio de cisalhamento mecânico utilizando moinho microfibrilador (*Grinder*) seguido de hidrólise enzimática utilizando endoglucanase/ $\beta$ -glucosidase. Através do uso do microfibrilador foram obtidas longas cadeias emaranhadas de microfibras com comprimentos entre 500 e 3500 nm e diâmetros de 4 a 15 nm e índice de cristalinidade de aproximadamente 60%. Após 72h de hidrólise enzimática foram obtidas estruturas com comprimentos entre 250 e 1000 nm e diâmetro de 4 a 8 nm e índice de cristalinidade de 64%.

Santucci e colaboradores [24] estudaram diferentes pré-tratamentos aplicados ao bagaço de cana-de-açúcar para obtenção de nanocelulose por rota enzimática seguida de sonicação. Os autores avaliaram combinações de tratamentos químicos (organosolv e hidrotérmico) seguidos de tratamentos mecânicos onde foram comparados dois tipos de moinhos microfibriladores (*Grinder*). A utilização de diferentes tratamentos químicos gerou nanofibrilas com diferentes teores de lignina. Filmes preparados com suspensões aquosas de nanofibrilas com maiores teores de lignina apresentaram maior hidrofobicidade

e maiores propriedades mecânicas (módulo de elasticidade, alongamento na ruptura e resistência à tração). No entanto foi observado que independentemente da composição química e do processo de microfibrilação, foram obtidas nanofibrilas com semelhantes morfologias (diâmetros médios de 30nm), cristalinidades (entre 70 e 75%) e estabilidade térmica ( $T_{onset}$  de 300°C).

A rota enzimática de obtenção de nanocelulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar também foi utilizada por Simplicio [74]. Antes da hidrólise, a autora realizou tratamentos de purificação com solução de  $\text{NaClO}_2/\text{KOH}$  e por autohidrólise com  $\text{NaClO}_2$ . As extrações da nanocelulose foram realizadas por hidrólises enzimáticas com coquetel de celulases de *Trichoderma reesei* por 24, 48 e 72 horas. Os melhores resultados foram obtidos para as nanoestruturas extraídas a partir da biomassa purificada por autohidrólise a 200 °C por 10 minutos. Nestas condições foram observadas nanoestruturas finas e alongadas com diâmetros médios de 9,81 e 7,08 nm para 24 e 72 h de hidrólise, respectivamente. Além disso, em virtude da degradação da celulose pelas enzimas em um maior tempo de hidrólise, foi observado um decréscimo da cristalinidade (63% e 50% após 24 e 72 h de hidrólise respectivamente). Foi observado também a diminuição na estabilidade térmica em função da redução da cristalinidade com o aumento do tempo de hidrólise, tendo o início da degradação entre 186 e 220 °C.

## **2.2 Eletrólise da água**

### **2.2.1 Economia do hidrogênio**

O uso de combustíveis fósseis, além de provocar impactos ambientais como a emissão de gases do efeito estufa também apresenta problemas relacionados ao esgotamento de suas fontes. Essa combinação de fatos tem impulsionado a transição para sistemas que utilizam fontes renováveis de energia, como por exemplo, a eólica e solar. No entanto, devido a forma intermitente que estas fontes são capazes de gerar energia, se torna relevante a criação de dispositivos capazes de armazenar energia em larga escala para suprir de forma eficiente a demanda [75].

Visando suprir essa necessidade de gerenciamento de recursos energéticos, foi desenvolvido um sistema chamado economia de hidrogênio, onde o hidrogênio é utilizado como um armazenador de energia. Um diagrama esquemático do funcionamento desse sistema pode ser observado na Figura 2.8. Neste sistema, a energia excedente de fontes renováveis é utilizada para a produção de hidrogênio, sendo armazenada como energia química e conforme a demanda, o hidrogênio pode ser utilizado na produção de energia elétrica [75]. Algumas vantagens desse sistema é a capacidade de produção de energia limpa em larga escala, utilizando instalações já existentes (infraestrutura para gás natural) que pode ser utilizada tanto pela indústria quanto em usos domésticos [76].

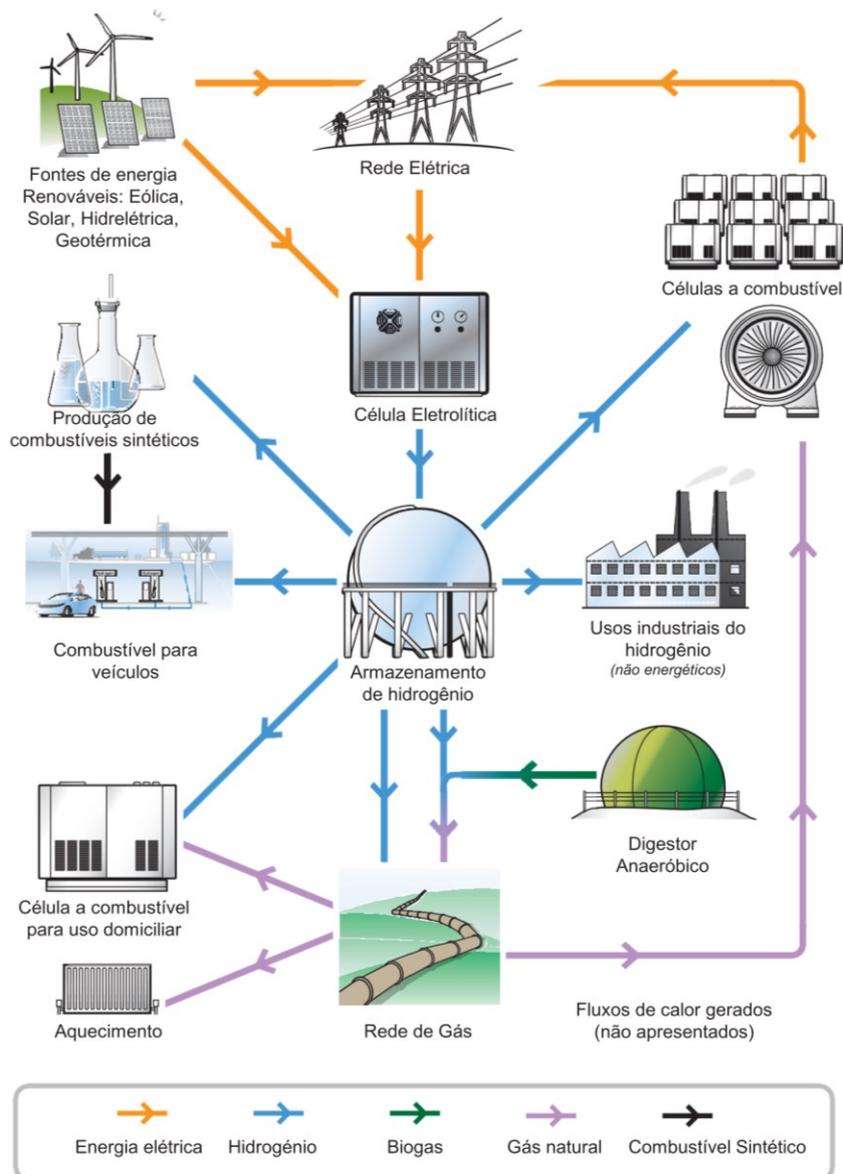


Figura 2.8 - Rede de integração usando hidrogênio como armazenador de energia

Fonte: Adaptado de ref. [77]

Nos últimos anos, várias plantas pilotos para produção de hidrogênio têm sido desenvolvidas. Em fevereiro de 2021, a Energix Energy anunciou um investimento de cerca de US\$5,4 bilhões para a construção da maior usina de hidrogênio verde do mundo. A unidade chamada *Base One* será construída no estado do Ceará e tem previsão de produzir 600 milhões de quilogramas de

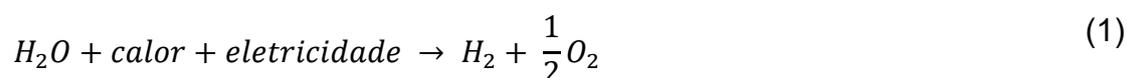
hidrogênio por ano utilizando eletricidade gerada por energia eólica e solar. A unidade será localizada próxima ao Porto do Pecém, para facilitar a exportação da produção.

### 2.2.2 Célula eletrolítica

Entre as diferentes estratégias desenvolvidas para realizar a conversão de hidrogênio em energia e vice-versa, as células eletrolíticas e células a combustível são dispositivos que ganham destaque pela capacidade de realizar esses processos sem a emissão de gases do efeito estufa. As células eletrolíticas são dispositivos que utilizam energia para realizar a quebra de moléculas de água e produzir gás hidrogênio. Já as células a combustível realizam o processo inverso, utilizando gás hidrogênio para a produção de energia [75].

### 2.2.3 Termodinâmica aplicada em célula eletrolítica

Em uma célula eletrolítica calor e eletricidade são necessários para induzir a reação de quebra das moléculas de água para a formação de gás hidrogênio ( $H_2$ ) e gás oxigênio ( $O_2$ ), assim, a equação geral dessa reação é dada por:



A eletricidade e o calor são absorvidos nas reações devido a uma variação na entalpia do sistema ( $\Delta H$ ). A mudança de entalpia de um sistema é descrita principalmente pela diferença nas energias de ligação, além das mudanças na pressão e no volume. Para simplificar, a entalpia é dada em condições padrão que são 25 °C e 1 atm. Nessas condições, o hidrogênio e oxigênio existem no estado gasoso, enquanto a água está na forma líquida. Comparando as energias dos reagentes e produtos, é possível observar um aumento na variação de

entalpia do sistema de  $286,02 \text{ kJ mol}^{-1}$ , o que indica a absorção de energia. Essa energia pode ser fornecida tanto na forma de eletricidade quanto calor.

A energia térmica utilizada pela reação é dada pela temperatura multiplicada pela variação de entropia do sistema ( $T \cdot \Delta S$ ). Para um sistema a  $25^\circ\text{C}$  e  $\Delta S = 0,163 \text{ kJ mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ , a quantidade de energia térmica é  $49 \text{ kJ mol}^{-1}$ . Com isso, a energia elétrica que precisa ser providenciada para a reação é dada pela energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = 286 \text{ KJ} \cdot \text{mol}^{-1} - 49 \text{ KJ} \cdot \text{mol}^{-1} = 237 \text{ KJ} \cdot \text{mol}^{-1} \quad (2)$$

O sinal positivo para a  $\Delta G$  indica que a reação não é espontânea e refere-se à necessidade de absorção de energia elétrica para a reação de quebra das moléculas de água ocorrerem. O potencial reversível  $V_{re}(T)$  para o sistema é dado por:

$$V_{re}(25^\circ\text{C}) = \frac{\Delta G}{z \cdot F} = \frac{237 \text{ KJ} \cdot \text{mol}^{-1}}{2 \cdot 96,485 \cdot \text{s} \cdot \text{mol}^{-1}} = 1,23 \text{ V} \quad (3)$$

Onde  $z$  é o número de elétrons transferidos durante a reação e  $F$  é a constante de Faraday. Como foi possível observar o potencial necessário para a reação ocorrer é dependente da temperatura do sistema. Por exemplo, para uma célula eletrolítica operar a  $80^\circ\text{C}$  (temperatura padrão do sistema), o potencial reversível do sistema é de  $1,167 \text{ V}$ . Enquanto que a temperaturas acima de  $2000^\circ\text{C}$  a energia livre de Gibbs muda seu sinal e a quebra de moléculas de água se torna um processo espontâneo [78].

#### 2.2.4 Célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC)

Existem diferentes tipos de células eletrolíticas, sendo que a principal diferença entre elas reside na natureza do eletrólito utilizado. Em geral, elas podem ser classificadas em duas categorias: célula de eletrólise alcalina, onde

o eletrólito é alcalino e célula de eletrólise ácida, onde o eletrólito é uma membrana polimérica trocadora de prótons (PEM) [79].

As células que utilizam eletrólito polimérico (PEM) são chamadas de células eletrolíticas com membrana trocadora de prótons (PEMECs). Este tipo de célula é caracterizada por um sistema compacto que opera em elevadas densidades de corrente (0,6 a 2,0 mA.cm<sup>-2</sup>) e baixas temperaturas (50 a 80°C), condições que reduzem os custos operacionais da eletrólise [80]. A temperatura de operação desse tipo de célula é limitada porque os eletrólitos poliméricos atualmente disponíveis dependem de absorção de água para adquirir razoável condutividade [33].

A Figura 2.9 apresenta esquematicamente os principais componentes e o funcionamento de uma PEMEC. A estrutura básica de uma PEMEC compreende por uma membrana eletrolítica (eletrólito) com espessura entre 10 e 200 µm produzida com um polímero sólido trocador de prótons (por exemplo Nafion). Esta membrana é comprimida entre duas camadas de eletrodos (catodo e anodo), este conjunto de eletrólito e eletrodos é chamado de membrana revestidas com catalisador (CCM). Por fim, o CCM é posicionado entre duas placas conhecidas como camadas de transporte poroso (PTL) [80].

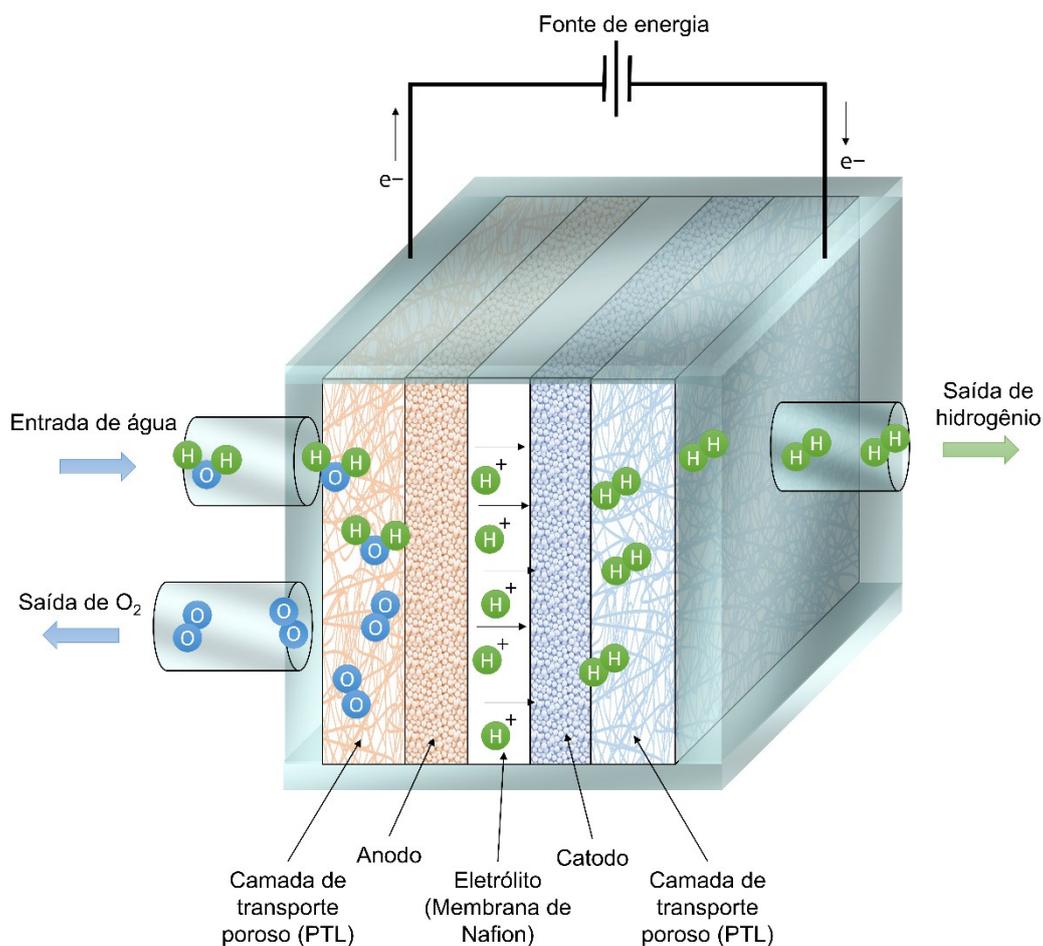


Figura 2.9 - Representação esquemática de uma PEMEC

Fonte: Adaptado de ref. [80]

Como eletrodo para o lado anódino da célula, são usados mais comumente catalisadores à base de irídio. As partículas de irídio catalisam a reação de evolução de oxigênio e garante a condutividade elétrica. Já no catodo geralmente são usadas partículas de platina como material catalítico para a evolução do hidrogênio.

Devido às altas tensões necessárias para a quebra das moléculas da água, nenhum material à base de carbono pode ser utilizado no anodo, uma vez que a corrosão do carbono se torna severa. Portanto, no anodo, a PTL é produzida à base de titânio. Essa PTL fornece transporte uniforme de água para toda a área da célula. Além disso, a PTL permite a remoção do oxigênio evoluído e proporciona o contato elétrico da tensão aplicada ao eletrodo anódino. No

catodo, que não é exposto a altos potenciais, podem ser usados materiais à base de carbono. Normalmente, o papel carbono serve como PTL e permite a remoção do hidrogênio produzido e proporciona condutividade elétrica ao eletrodo catódico.

A equação geral do processo de eletrólise que ocorre em uma PEMEC é dada pela Equação (1). Através do fornecimento de energia, a água é oxidada e são produzidas moléculas de hidrogênio e oxigênio. Essa equação geral pode ser dividida em semirreações, que representam a oxidação e redução que ocorrem na célula eletrolítica. Como pode ser observado na Figura 2.9, no anodo a água é oxidado para produzir oxigênio, prótons ( $H^+$ ) e elétrons de acordo com a reação de evolução de oxigênio (equação 4) [81]:



Os prótons são transferidos do ânodo para o cátodo através da membrana. Os elétrons são transferidos por um circuito externo com potencial aplicado ao cátodo, onde reagem com os prótons para produzir hidrogênio de acordo com a reação de evolução de hidrogênio (equação 5) [81]:



### 2.2.5 Caracterização eletroquímica de uma PEMEC

A curva de polarização é a técnica mais comum para avaliar o desempenho de um sistema PEMEC. Para a medição, os eletrodos de anodo e catodo são conectados a uma fonte de corrente elétrica e o potencial resultante através da aplicação de diferentes densidades de correntes é medido. Na Figura 2.10 é apresentado uma curva de polarização típica para uma PEMEC operanda a 80 °C.

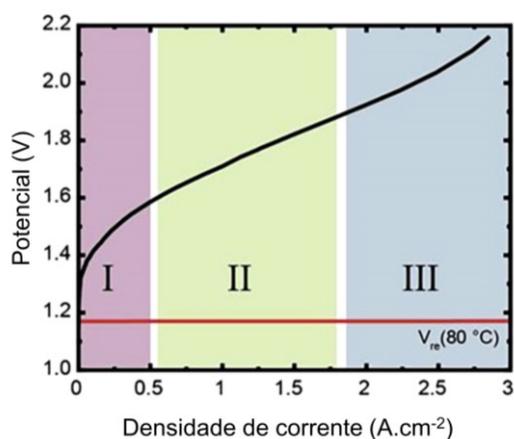


Figura 2.10 – Curva de polarização de uma célula eletrolítica operando a 80 °C dividida em três regiões: polarização por ativação (I), por queda ôhmica (II) e por transporte de massa (III). Linha vermelha representa o potencial reversível teórico para a reação.

Fonte: Adaptado de ref. [82]

De acordo com o que foi apresentado no item 2.2.3, o potencial reversível para célula eletrolítica operando a 80 °C é de 1,167 V. No entanto, como pode ser observado na Figura 2.10, a voltagem observada experimentalmente é diferente da voltagem reversível teórica. Essa diferença de potencial observada é ocasionada por diferentes fenômenos e implicam em uma queda da performance da PEMEC, ou seja, a célula requer mais energia do que o esperado termodinamicamente para conduzir uma reação.

O potencial observado na ausência de corrente elétrica é chamado de potencial de circuito aberto. Esse potencial pode ser maior que o potencial reversível teórico devido a permeação indesejada de hidrogênio pela membrana, bem como pela presença de curtos-circuitos. Assim que uma corrente é aplicada à célula, ocorrem perdas adicionais. Essas perdas dão origem a formação de 3 regiões específicas da curva de polarização. Para baixas densidades de corrente (região I), a queda de performance decorre principalmente das perdas cinéticas da reação. Essa região é chamada de polarização por ativação e as perdas observadas nessa região causam aumento exponencial no potencial da célula. Na região II o potencial da célula aumenta linearmente devido as quedas ôhmicas do sistema. Uma das principais causas desse fenômeno é devido à resistência elétrica proveniente de diferentes componentes da célula. Além disso, esse fenômeno também é aumentado devido à resistência da membrana em relação a passagem dos prótons ( $H^+$ ). A resistência protônica da membrana depende sua espessura, material e das condições de funcionamento do sistema, como a temperatura e a umidificação. Em altas densidades de corrente (região III), o potencial da célula sobe acentuadamente saindo da relação linear com a densidade de corrente, como resultado da polarização pelo transporte de massa. A região de transporte de massa normalmente não aparece em uma curva de polarização devido ao baixo desempenho apresentado nessa região[83].

### **2.2.6 Membrana eletrolítica de Nafion**

Nas PEMECs uma membrana polimérica trocadora de prótons (PEM) é necessária para realizar o transporte dos prótons ( $H^+$ ) e assegurar a conclusão da reação para produção de hidrogênio. Uma das PEMs mais utilizadas em PEMEC é a membrana de Nafion. O Nafion é um polímero composto por uma cadeia principal alifática perfluorada com grupos sulfônicos ligados às cadeias laterais [84–86]. A representação da unidade repetitiva do Nafion pode ser observada na Figura 2.11.

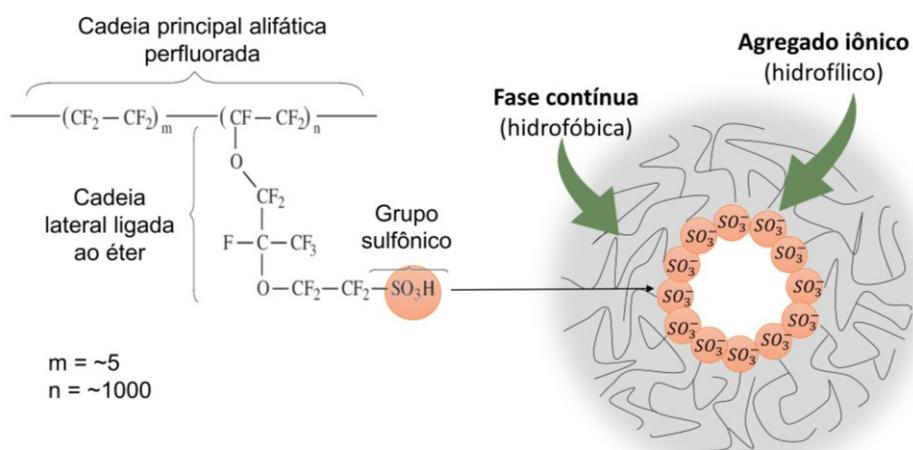


Figura 2.11 - Representação da unidade repetitiva do Nafion e representação da estrutura micelar invertida

Fonte: Adaptado de ref. [87]

O Nafion apresenta elevada estabilidade química devido a estrutura de sua cadeia principal, já a presença dos grupos sulfônicos das cadeias laterais são responsáveis pela condutividade de prótons[86]. A estrutura química do Nafion combina domínios hidrofóbicos relacionados a cadeia principal perfluorada, com uma elevada hidrofiliicidade induzida pelos grupos funcionais de ácido sulfônico[85]. Como pode ser observado na Figura 2.11 o Nafion forma agregados iônicos, aproximadamente esféricos, com estrutura do tipo micelar invertida. Estes agregados são dispersos em uma fase contínua de tetrafluoroetileno.

Como pode ser observado na Figura 2.12, a morfologia do Nafion é dependente da umidade ao qual o polímero é exposto. Na ausência de água, o interior dos agregados forma poros com cerca de 1,4 nm, na superfície dos quais estão distribuídos os grupos sulfônicos (cerca de 26 grupos  $-\text{SO}_3^-$  por agregado). Com a umidificação do material, ocorre o inchamento destes poros chegando a apresentar diâmetros médios de 4 nm. À medida que o diâmetro destes poros aumenta, ocorre a aproximação dos agregados até que se forme uma rede de percolação. Nesta rede, os agregados estão conectados entre si por estreitos canais tubulares hidrofílicos com até 1 nm de diâmetro[88,89]. Tais canais formam uma via que possibilita a difusão de prótons. Dessa forma, a

condutividade do Nafion é dependente da umidificação do material, limitando-o em relação ao uso em aplicações que geram aquecimentos acima de 100 °C[27,32,33].

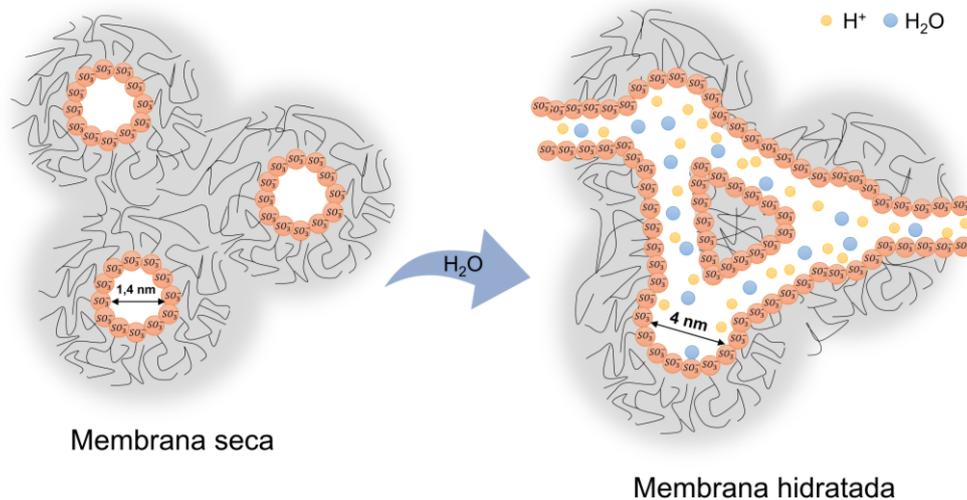


Figura 2.12 – Representação da evolução morfológica do Nafion em função da hidratação

Fonte: Adaptado de ref. [90]

### 2.3 Nanocompósitos poliméricos

Nanocompósitos podem ser definidos como materiais multifásicos nos quais pelo menos uma das fases constituintes tem uma ou mais dimensões em escala nanométrica (<100 nm). Este tipo de formulação é desenvolvida com o objetivo de se obter um novo material, com características mais adequadas a uma determinada aplicação quando comparadas aos seus constituintes de forma isolada [91].

Um aspecto relevante para a definição das propriedades dos nanocompósitos é a região de interface que pode ser definida como a área entre as nanopartículas e a matriz polimérica. A interfase é uma região de sinergia das propriedades das diferentes fases sendo uma área que apresenta variações na mobilidade, no grau de cura e na cristalinidade do material. Neste sentido, a utilização de cargas em escala nanométrica, que possuem maior área específica

em comparação a partículas micrométricas, se torna uma maneira eficiente de aumentar a região de interfase. Além disso, as propriedades dos nanocompósitos também dependem das propriedades individuais das fases, das frações mássicas dos materiais utilizados, da morfologia da matriz e da fase dispersa e das condições de processamento[92].

O desenvolvimento de nanocompósitos tem despertado grande interesse devido ao fato de que a incorporação de pequenas quantidades (menores que 5% (m/m)) de nanopartículas pode resultar em alterações significativas em diferentes propriedades do material como mecânicas, térmicas, elétrica e de barreira[91].

Em relação as propriedades mecânicas, um dos principais mecanismos de reforço dos nanocompósitos é através da transferência de tensão entre as nanopartículas e a matriz polimérica[92]. A transferência de tensão é relacionada com a força de atração entre as nanopartículas e a matriz polimérica. Quanto maior esta força atrativa, maior a energia necessária para promover o desacoplamento entre as duas fases. Assim, para o desenvolvimento de nanocompósitos com propriedades mecânicas adequadas é preciso haver afinidade química entre as partes constituintes de um nanocompósito [92].

A presença de nanopartículas nos nanocompósitos também pode causar restrição do movimento das cadeias poliméricas alterando a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), e o módulo de elasticidade. Além disso, a presença das nanopartículas pode ainda atuar como sítios de nucleação, alterando a morfologia de cristalização, o que tende a aumentar o módulo de elasticidade. Além disso, resistência ao impacto e fluência do material também são alterados. As nanopartículas podem também exercer papel de barreira física, dificultando a passagem de gases e vapor da água diminuindo assim a permeabilidade dos materiais. Este efeito de barreira pode também alterar a estabilidade térmica nos nanocompósitos. A dificuldade de difusão do oxigênio no nanocompósito (agente de degradação) auxilia na maior estabilidade térmica destes materiais assim como a restrição da saída dos voláteis formados pela decomposição[92].

## 2.4 Aditivos em membranas eletrolíticas

Membranas eletrolíticas baseadas em Nafion são o estado da arte no que diz respeito a PEMEC. Além disso, as membranas de Nafion também são muito utilizadas como eletrólitos em células a combustível (PEMFC), dispositivos que fazem o processo contrário as PEMEC, utilizando hidrogênio para produzir energia elétrica. No entanto, o Nafion além de ser um material caro e difícil de reciclar também apresenta diminuição da resistência mecânica após longos períodos de utilização e baixa condutividade de prótons a temperaturas elevadas (acima de 100°C) devido à desidratação da membrana. Para superar esses problemas, pesquisadores vem desenvolvendo variadas soluções que incluem a fabricação de membranas eletrolíticas usando diferentes materiais poliméricos, tais como compostos do quitosana ou através da incorporação de aditivos ao Nafion[85].

Neste sentido existe uma gama de estudos sobre o desenvolvimento de membranas eletrolíticas baseadas em materiais biocompatíveis, que têm vantagens como baixo custo, abundante disponibilidade e biodegradabilidade. O desenvolvimento de membranas para o uso em PEMFCs baseadas em nanocelulose bacteriana (BNC) e Nafion foi relatado por Jiang e colaboradores [30]. As membranas foram produzidas por casting a partir da mistura em solução de Nafion com diferentes proporções de nanocelulose bacteriana. Posteriormente, as membranas BNC/Nafion foram secas à temperatura ambiente e metade delas foram tratadas termicamente a 110°C por 1h. Verificou-se que o processo de recozimento não interferiu nas propriedades térmica e mecânicas das amostras. Para a amostra com uma razão de massa de BNC para Nafion igual a 9:1, a condutividade de prótons (30°C e 100% de umidade) das membranas com e sem recozimento foi de 0,056 e 0,071 S cm<sup>-1</sup>. Os autores observaram que quanto maior a proporção de Nafion nas membranas BNC / Nafion, menor a estabilidade térmica das amostras. Fato que foi associado a reação de desidratação entre os grupos sulfoácidos de Nafion e os hidroxílicos de BNC, ou a catálise ácida do Nafion que causa degradação da celulose.

Em outro estudo, Gadim e colaboradores [28] produziram nanocompósitos de Nafion/BNC preparados por impregnação de uma

membrana de BNC com uma solução de Nafion. A condutividade protônica obtida a 94 °C e 98% de umidade foi de 0,14 S cm<sup>-1</sup>, que é menor do que para Nafion puro, porém ainda sendo uma condutividade aceitável para o uso em PEMFC. A estabilidade térmica dos nanocompósitos também foi menor da aquela observada nos materiais puros. Este fenômeno foi atribuído ao efeito catalítico dos grupos sulfônicos do Nafion. Embora o nanocompósito comece a se decompor em temperaturas inferiores, o material obtido ainda é termicamente estável sob a temperatura operacional padrão do PEMFC (<100°C). A análise dinâmico-mecânica (DMA) revelou que o módulo de armazenamento da membrana Nafion/BNC é mais de uma ordem de magnitude superior a do Nafion puro em toda a faixa de temperatura, confirmando o papel da NBC na redução da deformação da membrana após o aquecimento.



### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente trabalho de doutorado foi dividido em duas etapas correlacionadas, sendo que os resultados obtidos durante a primeira etapa definem a segunda. Durante a primeira etapa (item 3.1) foi avaliado o potencial da utilização do bagaço e palha de cana-de-açúcar como fonte de celulose para a obtenção de nanocelulose via hidrólise enzimática. A segunda etapa (item 3.2) refere-se à seleção de condições e metodologias para a obtenção das membranas eletrolíticas de Nafion reforçadas com CNC.

#### **3.1 Etapa 1: Obtenção e caracterização de nanocelulose a partir de bagaço e palha de cana-de-açúcar via rota enzimática**

Nesta etapa do trabalho foi investigado o potencial da utilização de bagaço e palha de cana-de-açúcar como matérias-primas para a obtenção de nanocelulose utilizando a rota enzimática. A palha e o bagaço de cana-de-açúcar utilizados neste trabalho foram cedidos pela Usina Ipiranga Agroindustrial S.A, localizada em Descalvado, São Paulo, Brasil.

Os principais procedimentos empregados para a obtenção da nanocelulose são apresentados na Figura 3.1. Inicialmente as fibras foram submetidas a um processo de purificação para remoção dos componentes não celulósicos e em seguida foi realizada a extração da nanocelulose via hidrólise enzimática utilizando coquetel comercial de enzimas. Por fim, os nanocristais de celulose foram isolados do resíduo da hidrólise através de um processo de repetidos ciclos de centrifugação e resuspensão com a coleta do sobrenadante.



Figura 3.1 - Diagrama esquemático da sequência experimental para obtenção da nanocelulose a partir de bagaço e palha de cana-de-açúcar via rota enzimática

### 3.1.1 Purificação da biomassa lignocelulósica

A purificação é um procedimento essencial para assegurar uma remoção eficiente dos componentes não celulósicos presentes na biomassa, especialmente lignina, a qual dificulta o acesso das enzimas a celulose, prejudicando a viabilidade da rota enzimática [93].

Inicialmente, o bagaço e a palha de cana-de-açúcar foram lavados com água à temperatura ambiente, secos a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 h em uma estufa de circulação de ar e moídos em um moinho de facas Wiley (Solab) até atingir tamanho do grânulo menor que 2 mm. O procedimento de purificação seguiu uma adaptação de metodologia proposta por Neto e colaboradores [66]. Uma massa de 5 g de fibras foi tratada em 100 mL de solução aquosa de hidróxido de sódio a 10% (m/m) por 1h a  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  sob agitação mecânica e lavadas com água destilada até pH neutro, e finalmente secas a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24h. Após este tratamento alcalino, as fibras foram branqueadas com uma solução composta de partes iguais (v:v) de tampão acetato (27 g de  $\text{NaOH}$  e 75 mL de ácido acético glacial, adicionados em 1 L de água destilada) e solução 1,7% (m/m) de clorito

de sódio. A proporção utilizada neste tratamento de branqueamento foi de 1 g de fibra mercerizada para cada 50 mL de solução. O branqueamento foi realizado a 80 °C por 4h sob agitação mecânica. As fibras branqueadas foram lavadas em água destilada até atingir o pH neutro e posteriormente secas a 50 °C por 24h. Após o processo de purificação, os materiais resultantes foram denominados bagaço purificado (BP) e palha purificada (PP).

### 3.1.2 Hidrólise enzimática

A fibras purificadas (BP e PP) foram submetidas à hidrólise enzimática em tampão citrato de sódio (0,1 M, pH 5), com carga sólida de 10% (m/v) e carga enzimática de 10 mg de proteína por grama de fibra tratada. As enzimas utilizadas foram o complexo enzimático comercial Cellic Cetc 3® (Novozymes, Dinamarca). Os experimentos foram realizados em incubadora Shaker a 50 °C e 200 rpm por 24 h, 48h, 72h e 96h. Três hidrólises independentes foram realizadas para cada biomassa e tempo de reação. A concentração de glicose liberada foi monitorada usando o kit de análise enzimática GOOD-PAD (Labtest®, Brasil) de acordo com o procedimento fornecido pelo fabricante. A conversão enzimática de celulose (C%) foi calculada utilizando a Equação (6).

$$C = \left[ \frac{(M_{glicose}^F - M_{glicose}^I)}{(M_{celulose}^I) * 1,11} \right] * 100 \quad (6)$$

onde  $M_{glicose}^F$  e  $M_{glicose}^I$  são respectivamente as massas (g) de glicose após e antes da hidrólise enzimática, já  $M_{celulose}^I$  é a massa (g) da celulose utilizada na hidrólise enzimática. O valor de 1,11 corresponde ao fator de correção da conversão de celulose para glicose [94].

Após a etapa de hidrólise enzimática, o material resultante foi submetido a um processo de lavagem. As amostras foram centrifugadas a 2603 G por 10min, a fase aquosa obtida nesta primeira etapa foi utilizada para medição de glicose, e o precipitado foi resuspendido com água destilada e depois centrifugado novamente. Este procedimento de lavagem foi repetido até que o

sobrenadante após a centrifugação adquirisse um aspecto turvo, indicando a presença de nanocristais de celulose no líquido.

Para realizar separação do CNC foi utilizada uma adaptação do método descrito por Chen e colaboradores [95]. O resíduo da hidrólise enzimática foi centrifugado a 2603 G por 10 min, gerando uma separação entre o sobrenadante (suspensão turva com CNCs) e o precipitado. Após a centrifugação o sobrenadante foi armazenado e o precipitado foi resuspenso em água deionizada e centrifugado novamente. Este processo foi repetido até que o líquido obtido após a centrifugação adquirisse aspecto visual transparente, indicando que todo CNC contido no RHE foi separado da amostra.

Após esse processo, todo o sobrenadante armazenado foi liofilizado e sua massa determinada ( $M_{CNC}$ ). O rendimento de nanocristais de celulose ( $R_{CNC}$ ) foi obtido através da Equação (7).

$$R_{CNC} = \left( \frac{M_{CNC}}{M_{FP}} \right) \times 100 \quad (7)$$

onde  $M_{FP}$  é massa das fibras purificadas utilizadas na hidrólise enzimática.

### 3.1.3 Caracterização química

As fibras (bagaço e palha) *in natura* e purificadas foram caracterizadas quanto aos constituintes umidade, cinzas, extrativos, lignina,  $\alpha$ -celulose e holocelulose segundo as metodologias estabelecidas pelas normas TAPPI [96–100]. Todos os resultados apresentados foram obtidos através de caracterizações realizadas em triplicatas. Antes das caracterizações, as amostras foram processadas um moinho de facas Wiley (Solab) até atingir tamanho do grânulo menor que 2 mm.

#### 3.1.3.1 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade foi determinado utilizando uma balança determinadora de umidade (Top Ray, Bel Engineering). Para a análise de cada amostra, cerca

de 2,0 g de fibra foi colocado na balança e aquecida a 105 °C até que seja observada massa constante. A balança fornece a porcentagem de perda de massa que é relativa ao teor de umidade da fração.

### 3.1.3.2 Determinação do teor de cinzas

Os teores de cinzas das amostras foram determinados pelo teor de resíduos resultantes da queima completa do material seguindo uma adaptação da norma TAPPI T 211 om-16 [96]. Para isso foram utilizados cadinhos previamente calcinados em uma mufla com rampa de aquecimento de 10 °C/min até 600 °C e mantida a temperatura por 30 minutos. Após o resfriamento completo dos cadinhos a massa dos mesmos foi aferida e em seguida foi adicionado cerca de 2,0 g de amostra. Os cadinhos com as amostras foram aquecidos em mufla com rampa de 10 °C/ min até 600 °C e a temperatura foi mantida por 3 h. Após esse processo, os cadinhos contendo as cinzas das amostras foram mantidos em um dessecador até adquirir temperatura ambiente e posteriormente a massa de cada conjunto (cadinho e cinzas) foi verificada. O teor de cinzas TC (%) de cada amostra foi determinado com base na equação (8).

$$TC (\%) = \frac{M_{CC} - M_C}{M_A} \times 100 \quad (8)$$

onde  $M_C$  é a massa do cadinho calcinado sem amostra,  $M_{CC}$  a massa do conjunto cadinho e cinzas e  $M_A$  a massa inicial de amostra.

### 3.1.3.3 Determinação do teor de extrativos

O teor de extrativos das fibras foi determinado conforme norma TAPPI T 204 cm-17 [97] utilizando um extrator Soxhlet. Segundo esta norma não existe um solvente universal que consiga retirar todos os extrativos (óleos, resinas, gorduras, graxas, taninos, gomas e amidos) das fibras. Assim, neste trabalho a extração foi realizada em duas etapas. Inicialmente cerca de 6 g de material

vegetal seco foram envolvidos em papel de filtro e colocados no extrator contendo acetona durante 6h. Em uma segunda etapa, a amostra foi mantida durante 6h no extrator contendo uma mistura 1:1 hexano-etanol.

Ao final a amostra foi colocada em uma estufa a 105 °C por 1h e em seguida armazenada em dessecador. Quando a amostra adquiriu temperatura ambiente a massa foi verificada e o teor de extrativos foi determinado de acordo com Equação (9).

$$TE (\%) = \frac{M_{AExt}}{M_A} \times 100 \quad (9)$$

onde  $M_A$  é a massa inicial da amostra e  $M_{AExt}$  é a massa da amostra após a extração.

O processo de remoção dos extrativos além de servir para a determinação do teor de extrativos também teve a função de preparar as amostras para a caracterização de outros componentes. Segundo ASTM D1106 [101] a presença dos extrativos nas fibras pode interferir nos resultados obtidos durante a determinação de outros componentes como por exemplo lignina, holocelulose e alfacelulose.

#### 3.1.3.4 Determinação do teor de lignina

O teor de lignina contido nas amostras foi determinado pelo isolamento da lignina por hidrólise ácida dos polissacarídeos, conforme norma TAPPI T 222 om-15 [98] e TAPPI T 13 os-54 [99]. Amostras com aproximadamente 1,0 g de fibra sem extrativos, foram adicionadas a um almofariz contendo 17 mL de ácido sulfúrico 72% (m/m) e maceradas por 15 min a temperatura ambiente. Em seguida, o material foi mantido em digestão por 24 h. Após esse período, o conteúdo do almofariz foi transferido para um balão de fundo redondo e adicionou-se 306 mL de água destilada diminuindo a concentração do ácido para 4 % (m/m). O sistema foi mantido sob refluxo por 4h e em seguida a suspensão do balão foi filtrada em um funil de placa sinterizada de abertura de poro de 10

a 16  $\mu\text{m}$  previamente seco e com massa determinada. Durante a filtração, a primeira alíquota do filtrado foi armazenada para a determinação da lignina solúvel.

O sólido remanescente no funil foi lavado até pH neutro e seco em estufa à 105 °C por 8h. Após seco o conjunto (funil + sólido) foi deixado em dessecador por 30min para resfriar e a massa aferida em uma balança de precisão analítica. O teor de lignina insolúvel TLI (%) foi determinado através da Equação (10)

$$TLI (\%) = \frac{M_{FA} - M_F}{M_A} \times 100 - TC(\%) \quad (10)$$

onde  $M_{FA}$  é a massa do funil seco com sólido remanescente,  $M_F$  a massa do funil,  $M_A$  a massa inicial de fibra e TC (%) o teor de cinzas.

A alíquota do líquido filtrado foi caracterizada por espectroscopia ultravioleta, utilizando como referência uma alíquota de uma solução  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 4% (m/m). Foram feitas medidas de absorvância do filtrado nos comprimentos de onda de 280 nm e 215 nm. A concentração de lignina solúvel CLS (g/L) foi calculada conforme Equação (11).

$$CLS \left( \frac{g}{L} \right) = \frac{4,53 \times A_{215} - A_{280}}{300} \quad (11)$$

onde  $A_{215}$  é a absorvância em 215 nm e  $A_{280}$  a absorvância em 280 nm.

Através da multiplicação da CLS pelo volume de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 4% (m/m) utilizado para a hidrólise ácida das fibras foi obtida a massa de lignina solúvel  $M_{LS}$  (g). E então este valor foi utilizado para a obtenção do teor de lignina solúvel TLS (%) através da Equação (12).

$$TLS (\%) = \frac{CLS \times V_{H_2SO_4}}{M_A} \times 100 = \frac{M_{LS}}{M_A} \times 100 \quad (12)$$

Por fim, o teor total da lignina TL (%) das amostras foi obtido através da soma do teor de lignina insolúvel TLI (%) e teor de lignina solúvel TLS (%).

### 3.1.3.5 Determinação do teor de holocelulose

O teor de holocelulose (carboidratos totais:  $\alpha$ -celulose e hemicelulose) foi obtido conforme norma TAPPI T 9 wd-75 [100], no qual a lignina é oxidada com cloro em meio ácido. Cerca de 3,0 g de fibras secas e sem extrativos foram adicionadas em um erlenmeyer contendo 120 ml de água destilada, 1,0 ml de ácido acético glacial (pureza  $\geq 99,85\%$ ) e 2,5 g de clorito de sódio (80% pureza). O erlenmeyer foi vedado e mantido em um banho de óleo a 70 °C sob agitação magnética. Após uma hora do início da agitação, adicionou-se mais 1,0 ml de ácido acético glacial e 2,5 g de clorito de sódio. Com 2h do início da agitação, novamente adicionou-se 1,0 ml de ácido acético glacial e 2,5 g de clorito de sódio. Manteve-se agitando e aquecido por mais 3h.

Ao final das 5h do início da reação o erlenmeyer foi resfriado em banho de gelo e o seu conteúdo foi transferido para um funil de vidro com placa sinterizada com 40 a 60  $\mu\text{m}$  de porosidade, previamente lavado e seco em estufa a 105 °C e com massa conhecida. O material retido no funil foi lavado com água destilada até a neutralização do pH e por fim foi realizada uma lavagem com metanol. O funil com material retido (holocelulose) foi seco em estufa a 50°C por 8h. O teor de holocelulose TH (%) contido nas amostras foi determinado através da Equação (13).

$$TH (\%) = \frac{M_{FA} - M_F}{M_A} \times 100 \quad (13)$$

onde  $M_{FA}$  é a massa do funil seco com sólido remanescente,  $M_F$  a massa do funil,  $M_A$  a massa inicial de fibra.

### 3.1.3.6 Determinação do teor de alfacelulose e hemicelulose

Para a determinação do teor da alfacelulose, foram seguidos os procedimentos da norma TAPPI T 9 wd-75 [100]. Em um almofariz foi adicionado 1 g da holocelulose seca e 15 ml de solução aquosa de NaOH 17,5% (m/v). O material foi mantido na solução por 2min e em seguida macerado por 8 min. Após esse processo, a amostra foi transferida para um funil sinterizado com 40 a 60  $\mu\text{m}$  de porosidade previamente seco em estufa a 105 °C e massa determinada. A amostra foi lavada com água destilada até obter pH neutro. O funil e o material retido foram secos em estufa a 50 °C por 8h. O teor de alfa TA (%) foi calculado pela Equação (14).

$$TA (\%) = \frac{M_{FA} - M_F}{M_A} \times 100 \quad (14)$$

onde  $M_{FA}$  é a massa do funil seco com solido remanescente,  $M_F$  a massa do funil,  $M_A$  a massa inicial de holocelulose utilizada para a caracterização.

Por fim, o teor de hemicelulose foi obtido pela diferença entre o teor de holocelulose e alfacelulose.

### 3.1.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As características morfológicas das fibras (bagaço e palha) *in natura* e purificadas foram avaliadas por Microscopia eletrônica de varredura (MEV) em um microscópio JEOL JSM-6510 com um filamento de tungstênio operando a 10 kV. As fibras foram depositadas sobre uma fita de carbono e revestidas com ouro. As micrografias foram registradas em diferentes magnificações.

### 3.1.5 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Foram realizadas análises de Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das amostras (bagaço e palha) *in natura*,

purificadas e após a hidrólise enzimática. As caracterizações foram realizadas em um equipamento espectrofotômetro de infravermelho marca Bruker, modelo Vertex 70 com acessório ATR (*Attenuated Total Reflectance*). Os ensaios foram realizados com variação do número de onda de 4000 até 400  $\text{cm}^{-1}$ , resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$  e 32 acumulações espectrais por amostra. Todos os espectros foram normalizados utilizando o programa OriginPro®.

### 3.1.6 Difratomia de Raios X (DR-X)

A cristalinidade das amostras (bagaço e palha) *in natura*, purificadas e após a hidrólise enzimática foi analisada utilizando-se a técnica de difratometria de Raios X (DR-X) em um equipamento Shimadzu 6000 com radiação de  $\text{Cu K}\alpha$  ( $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ ). As análises foram realizadas no modo de varredura contínuo com velocidade de  $2^\circ \text{ min}^{-1}$ , intervalo de ângulo de Bragg ( $2\theta$ ) de 5 a  $45^\circ$ , voltagem de 30 KV e corrente de 30 mA.

Os índices de cristalinidade (IC) foram estimados através da deconvolução dos picos cristalinos e halo amorfo presentes nos difratogramas. O software Origin 7,5 foi utilizado para deconvolução dos picos, assumindo funções gaussianas para cada pico e um pico largo em torno de  $21,5^\circ$  atribuído à contribuição amorfa [102]. Para o cálculo do índice de cristalinidade utilizou-se a Equação (15), onde  $A_a$  corresponde a área abaixo da curva do halo amorfo e  $A_t$  é a soma das áreas de todos os picos, incluindo a curva do halo amorfo.

$$\text{IC (\%)} = \left[ 1 - \frac{A_a}{A_t} \right] \times 100 \quad (15)$$

### 3.1.7 Microscopia de força atômica (AFM)

Imagens de microscopia de força atômica (AFM) foram obtidas em um microscópio Dimension V (Veeco). Para esta análise foram utilizados os resíduos das hidrólises enzimáticas após a separação dos nanocristais de celulose por centrifugação. Suspensões contendo água deionizada e 0,001 % (m/m) de CNC foram dispersas em um sonicador (Branson 450D) operando com amplitude de

10% por 3 min sobre banho de gelo. Uma gota de aproximadamente 10  $\mu\text{L}$  das suspensões foram depositadas em um substrato de mica e secado em estufa a 50 °C por 2 h. As imagens foram obtidas em modo *tapping* a 1 Hz, utilizando agulhas de silício (BudgetSens Tap 190-AI G) com um raio de curvatura de 15 nm e uma inclinação de 12°.

Os diâmetros e o comprimento dos nanocristais foram determinados por meio de medições das imagens utilizando o software Gwyddion. Para eliminar o efeito do raio de ponta nas medições do diâmetro, assumira-se que os nanocristais têm uma seção transversal circular, o que permite a determinação do diâmetro dos nanocristais medindo sua altura [103]. Foram realizadas de 50 a 200 medidas de cada dimensão para cada amostra.

### **3.1.8 Espalhamento dinâmico de luz (DLS) e potencial zeta**

A técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) baseia-se na intensidade do espalhamento da luz causado por partículas em movimento browniano, sendo o tamanho aparente das partículas  $Z_D$  determinado pela relação de Stokes-Einstein. Esta relação considera um coeficiente de difusão constante, enquanto para CNC (nanopartículas alongadas), as constantes de difusão diferem de acordo com o eixo da partícula, portanto os valores médios do tamanho de partícula não são absolutos [104]. No entanto, o  $Z_D$  pode ser usado como uma medida relativa, embora uma análise precisa de tamanho e forma só possa ser alcançada por técnicas de microscopia como o AFM [43].

As medições DLS foram realizadas com as mesmas suspensões de nanocristais de celulose usadas nas análises de AFM. Os tamanhos das nanopartículas foram estimados por DLS, usando um instrumento Malvern Zetasizer Nano ZS. Este sistema emprega espalhamento de luz dinâmico para medir a difusão de partículas que se movem sob o movimento browniano, fornecendo o tamanho médio de partícula ( $Z_D$ ) e o índice de polidispersidade (PDI).

O potencial zeta das suspensões de CNCs do bagaço e da palha (0,25% em massa) foi determinado também no equipamento Malvern 3000 Zetasizer logo após a sonicação.

### 3.1.9 Termogravimetria (TG/DTG)

A estabilidade térmica das fibras (bagaço e palha) *in natura*, purificadas e após a hidrólise enzimática foram avaliadas por meio da análise de curvas termogravimétrica (TG) e termogravimétrica derivada (DTG). Para este estudo foi utilizado um equipamento TA Instruments, modelo Q500. A razão de aquecimento foi de 10 °C/min, partindo da temperatura ambiente até 600 °C, com fluxo de nitrogênio de 60 mLmin<sup>-1</sup>. As temperaturas de início de degradação térmica ( $T_{\text{onset}}$ ) foram determinadas através da curva TG, como sendo a intersecção da linha de extrapolação do início do evento térmico com a tangente à curva na temperatura de máxima taxa de degradação térmica (obtida pela DTG) do material.

## 3.2 Etapa 2: Produção e caracterização das membranas de Nafion com e sem CNC

Nesta etapa do presente estudo, os CNCs obtidos pela melhor rota enzimática de extração (definida de acordo com os resultados da etapa 1) foram utilizados na produção de membranas de Nafion. As membranas foram produzidas a fim de investigar suas propriedades e identificar seu potencial de uso como membranas trocadoras de prótons em células eletrolíticas. Para complementar esse estudo, também foram produzidas membranas contendo CNCs comercial bem como membranas sem nanopartículas. Além disso, a membrana comercial Nafion 115 (N115, Chemours, USA) também foi utilizada como referência para as propriedades estudadas.

### 3.2.1 Preparação das membranas

Para a elaboração das membranas eletrolíticas foram utilizados nanocristais de celulose obtidos por rota enzimática a partir de resíduos da produção de cana-de-açúcar. O protocolo para a produção dos CNCs foi definido com base nos resultados observados na primeira etapa deste estudo (item 3.1). O método selecionado é o que emprega a hidrólise enzimática com duração de

72h em fibras tratadas de palha de cana-de-açúcar. Este protocolo mostrou-se dentre os métodos estudados o mais promissor pois apresentou maior equilíbrio de propriedades em relação a razão de aspecto, índice de cristalinidade e estabilidade térmica.

Para a investigação das propriedades apresentadas por membranas produzidas com nanopartículas quimicamente e morfologicamente diferentes, também foram produzidas membranas com nanocristais de celulose adquiridos da Universidade de Maine. Segundo o fabricante este CNC comercial apresenta 0,94 % (m/m) de enxofre, diâmetros entre 5 e 20 nm e comprimento entre 150 e 200 nm, densidade de  $1,5 \text{ g cm}^{-3}$  e superfície hidrofílica[105].

Foram produzidas membranas poliméricas (100% Nafion) e nanocompósitos de Nafion contendo CNCs (enzimático ou comercial) através da técnica de conformação por evaporação em molde (*casting*). As membranas foram preparadas a partir da solução de Nafion 10% (m/m) em água (D1021, DuPont). O solvente utilizado na preparação dos filmes poliméricos foi o dimetilsulfóxido (DMSO, Aldrich, PA).

A produção de membranas de Nafion por casting já foi estudada evidenciando-se a necessidade de utilização de solventes de alto ponto de ebulição, como o dimetilsulfóxido (DMSO). O uso desses solventes possibilita o processamento dos materiais em temperaturas mais elevadas, promovendo um efeito plastificante permitindo assim a obtenção de filmes com propriedades semelhantes as membranas comerciais [106]. Além disso, nanocristais de celulose apresentam considerável capacidade de dispersão em misturas em solventes orgânicos com altas constantes dielétricas, como o DMSO [59,107].

A preparação das membranas poliméricas foi realizada conforme a sequência experimental apresentada na Figura 3.2.

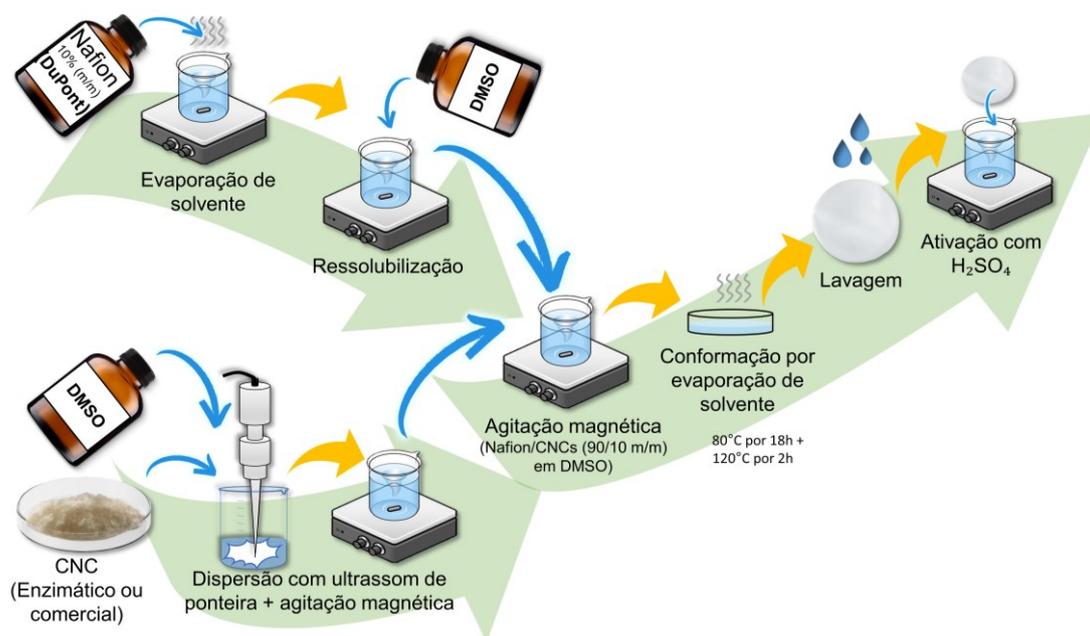


Figura 3.2 - Diagrama esquemático da sequência experimental de preparação das membranas.

Devido à necessidade de um solvente de alto ponto de ebulição, a água utilizada como solvente do Nafion comercial foi substituída através da evaporação seguida de ressolubilização do polímero em DMSO. Para isso, a solução de Nafion foi mantida a  $80^\circ C$  em um béquer sobre um agitador magnético até se obter um resíduo viscoso. A seguir, esse resíduo foi redissolvido em DMSO, obtendo novamente uma solução de 10% (m/m) de Nafion. A solução foi mantida sob agitação magnética por 24h. Esta solução foi utilizada na confecção dos filmes poliméricos de Nafion sem adição de nanocargas (Ncast) e membranas nanocompósitos contendo Nafion e 10% (m/m) de CNC comercial (N/CNC\_C) e Nafion e 10% (m/m) de CNC enzimático (N/CNC\_ENZ).

Como o objetivo do trabalho era realizar uma substituição parcial do nafion por um material biodegradável, optou-se por trabalhar com amostras contendo altas concentrações de CNCs. Foram produzidas então membranas contendo diferentes concentrações de CNCs (10, 15, 25, 50%

m/m). No entanto, as amostras com concentrações de CNCs acima de 10% (m/m) apresentaram alta fragilidade, não sendo adequadas para a aplicação.

Para a preparação dos nanocompósitos, além da preparação da solução de Nafion em DMSO obtida pelo procedimento descrito acima, dispersões de CNC com a porcentagem em massa desejada foram preparadas usando DMSO como dispersante. Os CNCs foram dispersos no DMSO usando um ultrassom de ponteira operando a 10% de amplitude por 15min, com resfriamento para evitar superaquecimento. Em seguida, as dispersões foram mantidas 24h sob agitação mecânica. Após esse processo, a solução de Nafion e as dispersões de CNCs foram misturadas e mantidas sob agitação mecânica por 24h.

A conformação das membranas foi realizada pela deposição das dispersões de CNC/Nafion em placas de petri para a evaporação do DMSO em forno resistivo. O processo de evaporação foi realizado em duas etapas, inicialmente as amostras foram mantidas a 80 °C durante 18h e em seguida a temperatura do forno foi aumentada para 120 °C e mantida por duas horas.

Depois de confeccionadas, as membranas foram lavadas com água deionizada para a limpeza de impurezas superficiais e diluição do solvente residual. A seguir, foi realizada a ativação dos grupos sulfônicos pela imersão das membranas em uma solução de ácido sulfúrico (0,5 M) 80 °C por 1h. Por fim, as membranas foram lavadas com água deionizada e secas a temperatura ambiente.

### **3.2.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

As análises de espectroscopia no infravermelho com transformada de fourier (FTIR) das membranas foram realizadas em um equipamento espectrofotômetro de infravermelho marca Bruker, modelo Vertex 70, com acessório ATR (*Attenuated Total Reflectance*). As medidas de refletância total

atenuada foram realizadas com variação do número de onda de 4000 até 650  $\text{cm}^{-1}$ , resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 32 acumulações espectrais por amostra.

### 3.2.3 Difratometria de Raios X (DR-X)

A análise de difratometria de Raios X foi realizada em um difratômetro Shimadzu 6000 usando radiação  $\text{Cu K}\alpha$  ( $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ ) no modo de varredura contínuo com velocidade de  $2^\circ \cdot \text{min}^{-1}$  no intervalo de ângulo de Bragg ( $2\theta$ ) de 5 a  $45^\circ$ . As amostras foram recortadas em quadrados e fixadas com fita dupla face sob uma lâmina de vidro.

### 3.2.4 Microscopia de força atômica (AFM)

Imagens de microscopia de força atômica (AFM) da superfície das membranas foram obtidas em um microscópio Dimension V (Veeco) (CNPEM-Campinas/SP). As imagens foram obtidas em modo *tapping* a 1 Hz, utilizando agulhas de silício com um raio de curvatura de 15 nm e uma inclinação de  $12^\circ$ .

### 3.2.5 Termogravimetria (TG/DTG)

As membranas foram analisadas por termogravimetria em um equipamento TGA Instruments, modelo Q500. As amostras foram aquecidas a uma razão de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  na faixa de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $900 \text{ }^\circ\text{C}$ , sob o fluxo de gás nitrogênio de  $20 \text{ mL min}^{-1}$ . As temperaturas de início de degradação térmica ( $T_{\text{onset}}$ ) foram determinadas através das análises das curvas de termogravimétrica (TG) e termogravimétrica derivada (DTG). A  $T_{\text{onset}}$  foi calculada através da intersecção da linha de extrapolação do início do evento térmico com a tangente à curva na temperatura da máxima taxa de degradação térmica do material (observada na curva DTG).

### 3.2.6 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As medidas de Calorimetria exploratória diferencial (DSC) das membranas foram realizadas em um equipamento da TA Instruments, modelo

DSC Q-100. Os ensaios foram realizados em atmosfera de nitrogênio sob uma taxa de aquecimento de 20 °C min<sup>-1</sup> no intervalo de -50 °C a 300 °C.

### 3.2.7 Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA)

Para o ensaio de análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA) as membranas foram recortadas com o auxílio de um molde e um bisturi com lâmina de aço inox para a confecção de corpos de prova retangulares (5 x 30 mm<sup>2</sup>). Os ensaios foram realizados em um equipamento DMA Q800 da TA Instruments operando em modo de tração a 1 Hz e com amplitude de 0,005 mm. A temperatura foi variada de -30 a 180 °C com uma taxa de aquecimento constante de 2 °C min<sup>-1</sup>.

No mesmo equipamento e com os mesmo padrão de corpos de prova foram realizados ensaios mecânicos sob tração para a obtenção de curvas tensão – deformação de acordo com a norma ASTM D882-18 com modificações [108]. O ensaio foi realizado a temperatura ambiente e velocidade de ensaio de 1 N min<sup>-1</sup>. A partir das curvas  $\sigma - \epsilon$  foram determinados os valores de tensão máxima (MPa), deformação na ruptura (%) e módulo elástico (MPa). Para estes ensaios, foram testados pelo menos 6 corpos de prova de cada amostra.

### 3.2.8 Capacidade de absorção de água

Para analisar a capacidade de absorção de água, as massas umedecidas e secas das membranas foram obtidas em uma balança analítica. A capacidade de absorção de água das membranas ( $\Delta M$ ), foi calculada a partir da Equação (16):

$$\Delta M = \frac{M_u - M_s}{M_s} \quad (16)$$

onde  $M_u$  é a massa membrana úmida e  $M_s$  é a massa seca. A massa seca ( $M_s$ ) foi obtida após tratamento térmico da amostra em estufa a 60 °C por 24h. Para medição da massa úmida ( $M_u$ ) as membranas foram

mantidas em água deionizada a 80 °C por 1h. Antes da verificação da massa a água excedente da superfície da membrana foi removida cuidadosamente com papel de filtro.

### 3.2.9 Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE)

A condutividade protônica ( $\sigma$ ) das membranas foi determinada por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) utilizando um analisador de frequência Solartron 1260 e um porta amostras de teflon equipado com dois terminais de conexão elétrica. As medidas foram realizadas em temperatura ambiente com as amostras secas e úmidas.

Para essa análise utilizou-se uma excitação ac de 200 mV na faixa de frequência de 30 MHz a 10 MHz, com dez pontos por década de frequência. Os diagramas de Nyquist resultantes foram tratados através do software Zahner's THALES para determinação dos valores das resistências das amostras (R). A condutividade ( $\sigma$ ) foi calculada utilizando a Equação (17), utilizando a espessura da membrana L (cm), a resistência da membrana R ( $\Omega$ ) e a área da seção transversal da membrana A (cm<sup>2</sup>) [27].

$$\sigma = \frac{L}{R \cdot A} \quad (17)$$

### 3.2.10 Preparação das membranas revestidas com catalisador (CCM)

As membranas fabricadas e a membrana de Nafion comercial foram utilizadas para testes em uma célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC). Para a realização destes testes foram fabricadas membranas revestidas com catalisador (CCM). O CCM é composto por um eletrólito (membrana) posicionado entre dois eletrodos (anodo e catodo), conforme Figura 3.3.

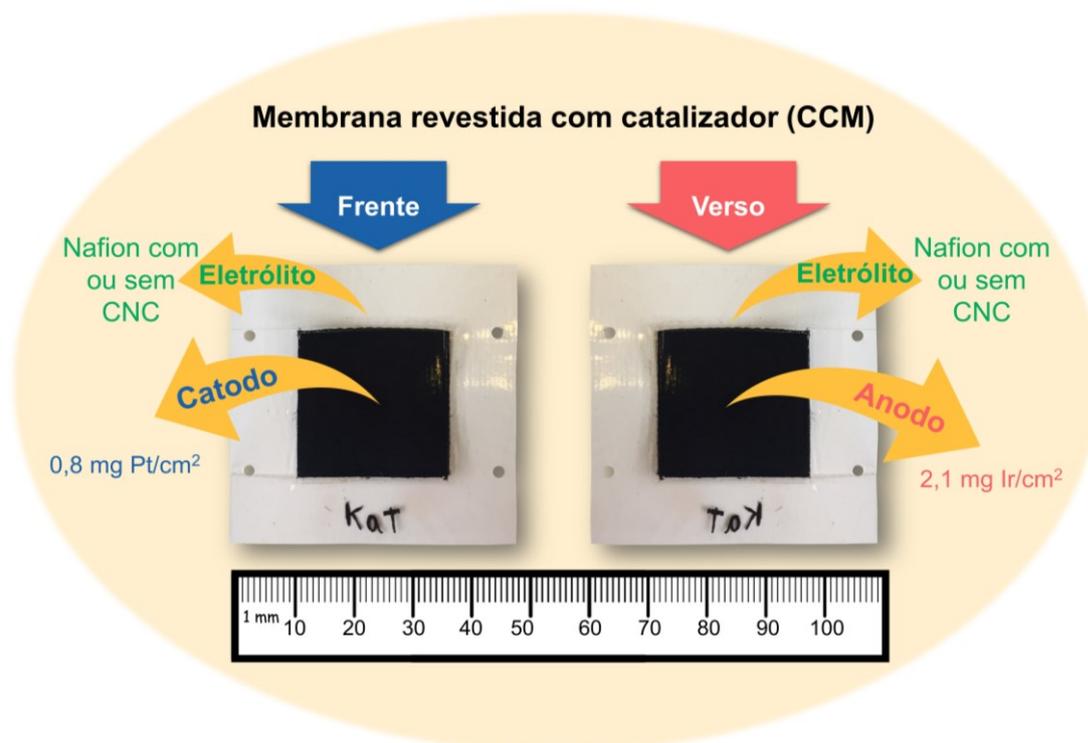


Figura 3.3 - Componentes de uma membrana revestida com catalizador (CCM)

Os CCMs com área ativa de  $3,98 \text{ cm}^2$  foram preparados usando o método Decal (também chamado de método de transferência) onde os eletrodos (catodo e anodo) são inicialmente depositados sobre substratos de teflon inertes e então transferidos para a membrana através de prensagem a quente [80]. Uma representação esquemática deste método é apresentada na Figura 3.4.



Figura 3.4 Preparação de uma membrana revestida com catalizador (CCM) através do método Decal.

Inicialmente para a preparação dos eletrodos foram produzidas tintas contendo pó catalizador, solução de Nafion 10% (m/m) em água (D1021, DuPont) e álcool orgânico. Os pós catalizadores utilizados na produção dos eletrodos anódicos e catódicos foram  $\text{IrO}_2$  (Alfa Aesar, Premion, 99.99%) e 60% Pt/C (HiSPEC 9100, Johnson & Matthey), respectivamente.

As tintas foram dispersadas em um homogeneizador ultrassônico (Bandelin Sonopuls HD 3200) e depositadas sobre substratos de teflon inertes com o auxílio de uma lâmina dosadora (Coatmaster 509 MCI, Erichsen GmbH & Co. KG). Os eletrodos foram secos em forno resistivo a  $60^\circ\text{C}$  por 3h.

Por fim, os eletrodos secos foram posicionados um de cada lado das membranas e prensados a quente a  $100^\circ\text{C}$  sob pressão de  $200\text{ kgf cm}^{-2}$  por

3min. As camadas catalíticas do anodo e catodo obtiveram cargas finais de  $2,1 \text{ mg Ir cm}^{-2}$  e  $0,8 \text{ mg Pt cm}^{-2}$ , respectivamente.

### 3.2.11 Teste em célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC)

As membranas revestidas com catalisador (CCMs) fabricadas foram testadas em célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC) para a obtenção de curvas de polarização. Os testes foram realizados usando uma estação de teste E60 da Greenlight. O aparato experimental para a operação da célula de eletrólise PEMEC é apresentado na Figura 3.5.

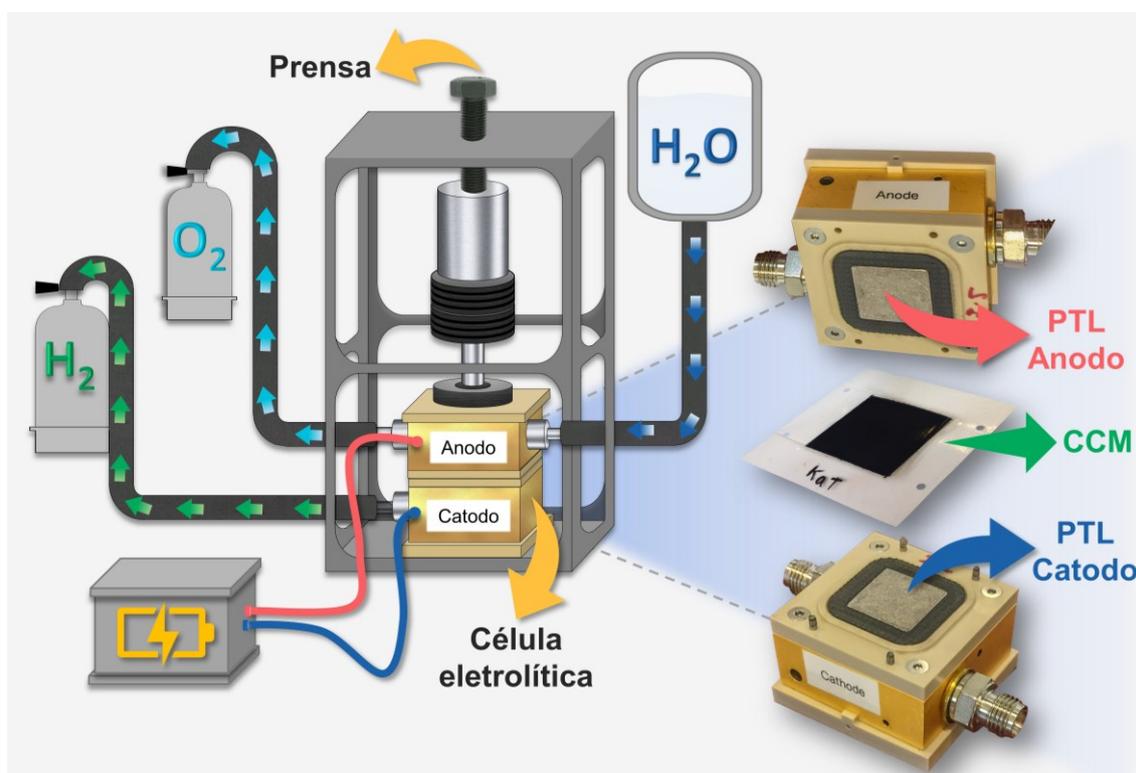


Figura 3.5 - Arranjo experimental para teste em célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC)

As camadas de transporte poroso (PTLs) utilizadas no catodo e anodo foram fabricadas a partir de placas de titanium (Bekaert) com 68% de porosidade e 350  $\mu\text{m}$  de espessura da Bekaert. Os PTLs anódico e catódico foram revestidos com iridium criando camadas superficiais 0,5  $\text{mg cm}^{-2}$ .

Para a realização dos testes cada CCM foi posicionado entre os PTL e então o conjunto foi colocado dentro da célula eletrolítica. A célula foi então comprimida utilizando uma prensa e em seguida posiciona na estação de teste onde foram conectadas todas as entradas e saídas.

O início do teste se deu com o aquecimento da célula eletrolítica até 80 °C. Água ultra-pura foi pré-aquecida à mesma temperatura da célula e fornecida a uma taxa de fluxo de 50  $\text{mL min}^{-1}$  para o compartimento referente ao anodo. Antes do início da geração da curva de polarização, a célula eletrolítica foi pré-condicionada as densidades de corrente de 0,2 e 1  $\text{A cm}^{-2}$  durante 1h. Após essa etapa, a curva de polarização foi feita através aplicação de pré-determinados valores de corrente, cada corrente aplicada foi mantida por 5min para a verificação da voltagem obtida. A corrente foi aumentada até atingir um máximo de 2,0 V. Os resultados apresentados são o resultado de uma média de pelo menos três curvas de polarização.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Etapa 1: Obtenção e caracterização de nanocelulose a partir de bagaço e palha de cana-de-açúcar via rota enzimática

#### 4.1.1 Purificação e composição química

A composição química das fibras de cana-de-açúcar (bagaço e palha) *in natura* e após o processo de purificação são mostradas na Tabela 4.1. As composições químicas obtidas para as biomassas *in natura* estavam de acordo com os dados relatados na literatura tanto para o bagaço [16,53,109–111] quanto para a palha [53,111–113].

Tabela 4.1 - Composição química das fibras de cana-de-açúcar (bagaço e palha) antes e depois do processo de purificação.

Fibra	$\alpha$ -Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Umidade (%)	Cinzas (%)	Extrativos (%)
Bagaço <i>in natura</i>	42,0 $\pm$ 2,5	34,4 $\pm$ 0,6	21,8 $\pm$ 0,3	2,6 $\pm$ 0,0	1,9 $\pm$ 0,1	2,9 $\pm$ 0,9
Bagaço purificado	81,3 $\pm$ 1,1	12,2 $\pm$ 1,2	2,5 $\pm$ 0,4	3,0 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,0	2,3 $\pm$ 0,1
Palha <i>in natura</i>	36,9 $\pm$ 0,6	30,7 $\pm$ 1,2	22,1 $\pm$ 0,1	4,4 $\pm$ 0,0	5,1 $\pm$ 0,0	4,3 $\pm$ 0,5
Palha purificada	81,2 $\pm$ 0,6	9,5 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,4	2,9 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,0	4,1 $\pm$ 0,4

Após o processo de purificação do bagaço, o teor de  $\alpha$ -celulose quase dobrou, enquanto os teores de hemicelulose e lignina diminuíram em 65% e aproximadamente 89%, respectivamente. Da mesma forma, o processo de purificação removeu a maior parte das hemiceluloses e lignina da palha da cana. Nesse caso, as frações de lignina e hemicelulose diminuíram 93% e 69%, respectivamente, enquanto o conteúdo de  $\alpha$ -celulose dobrou. Essa redução no percentual de componentes não celulósicos era esperada devido ao tipo de tratamento adotado para purificação da fibra. O processo de purificação da fibra consistiu em um tratamento alcalino que solubilizou a lignina, pectinas, hemiceluloses, proteínas e açúcares de baixo peso molecular seguido por um processo de branqueamento que removeu os resíduos de lignina [66]. A remoção

de parte da hemicelulose e da lignina é necessária para facilitar as reações de hidrólise enzimática, uma vez que esses componentes constituem uma barreira natural da parede celular às fibras de celulose [114,115]. A relação existente entre a remoção de lignina e a digestibilidade da celulose por ação enzimática foi demonstrada anteriormente [93,116,117]. Após o processo de purificação do bagaço, o teor de  $\alpha$ -celulose quase dobrou, enquanto os teores de hemicelulose e lignina diminuíram em aproximadamente 89% e 65%, respectivamente.

A análise das composições químicas das amostras após o processo de purificação mostrou que o tratamento utilizado foi mais eficiente para a remoção da lignina, em comparação com outros pré-tratamentos aplicados ao bagaço, como a explosão a vapor [5], tratamento hidrotérmico [5] e branqueamento com solução de peróxido [15,93], ou pré-tratamentos aplicados à palha, como os tratamentos hidrotérmicos [113,118].

O rendimento do processo de purificação da fibra foi calculado dividindo o valor da massa da fibra tratada obtida após o processo de purificação pela massa da fibra bruta utilizada neste processo. Os rendimentos de purificação foram 46% e 32% para o bagaço e a palha, respectivamente. Essa diferença entre os valores pode ser explicada tanto pela maior concentração inicial de celulose presente nas fibras do bagaço quanto pelos maiores percentuais de lignina e hemicelulose extraídos na purificação das fibras da palha, em comparação com as fibras do bagaço. O menor percentual de materiais celulósicos na composição da fibra faz com que o rendimento do processo de purificação seja menor, pois há uma maior redução na massa final das amostras devido às reações que degradam o material não celulósico.

Além de mudanças na composição química das fibras, o processo de purificação pode causar mudanças estruturais nas superfícies das fibras. A Figura 4.1 mostra fotografias e micrografias de MEV das biomassas da cana-de-açúcar em cada etapa do processo de purificação. Pôde-se observar visualmente que tanto o bagaço quanto a palha adquiriram maior grau de alvura após a purificação, indicando uma modificação das composições químicas [109].

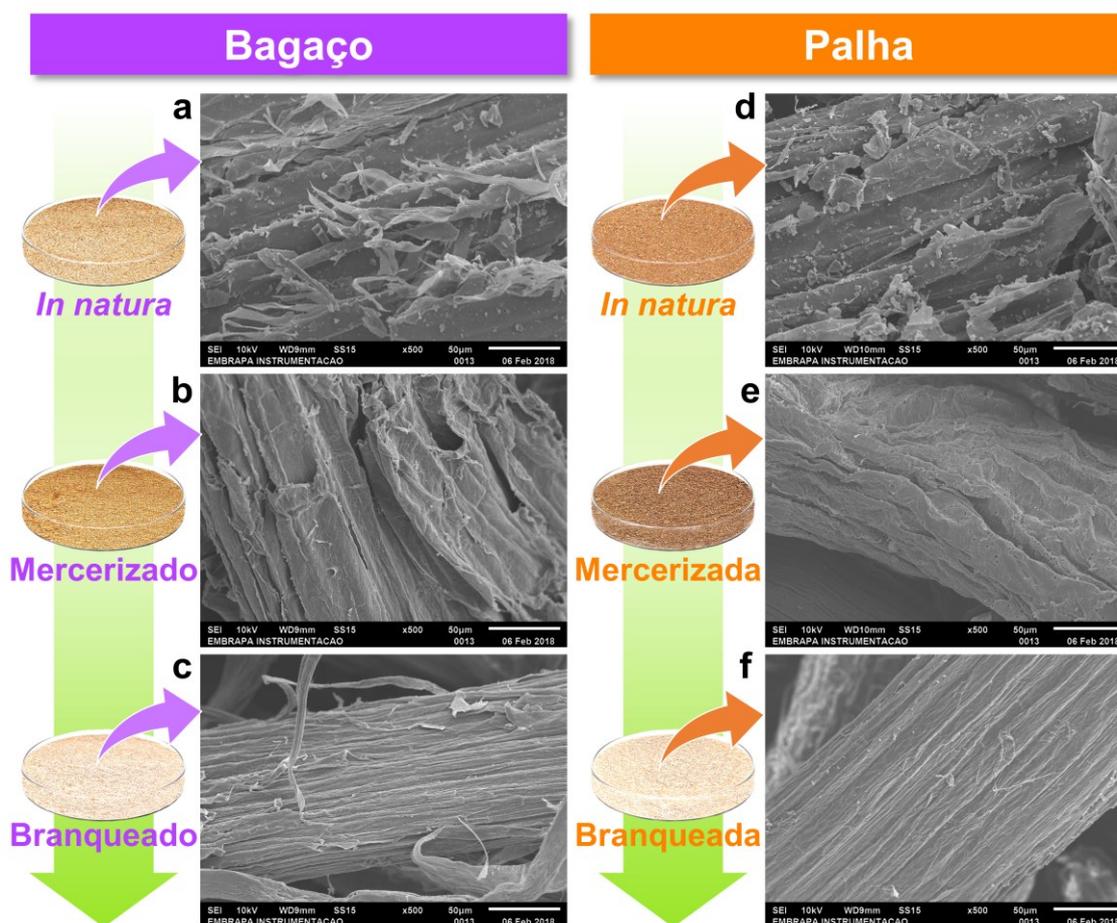


Figura 4.1 - Micrografias de microscopia eletrônica de varredura e imagens do aspecto visual do bagaço e da palha de cana-de-açúcar *in natura* e após o processo de purificação.

Semelhante à literatura, as micrografias das fibras não tratadas (Figura 4.1a e 4.1d) sugerem a presença de partículas de cera globular, pectinas e extrativos, além de constituintes amorfos como lignina e hemicelulose [16]. O processo de tratamento alcalino (mercerização) gerou um certo grau de desintegração das fibras (Figura 4.1b e 4.1e), provavelmente devido à remoção parcial da hemicelulose e lignina que intercalam as fibrilas de celulose. Além disso, esse processo tornou mais homogênea a superfície das fibras com a remoção das partículas de cera globular. As micrografias das fibras branqueadas (Figura 4.1c e 4.1f) mostraram claramente a presença de microfibrilas celulósicas com superfícies ainda mais lisas. Na literatura, estudos anteriores constataram que os tratamentos clareadores são responsáveis pela eliminação da lignina

residual, consequentemente expondo a estrutura uniforme das microfibrilas presentes nas paredes secundárias das células vegetais [16,119].

#### 4.1.2 Hidrólise enzimática

As reações de hidrólise enzimática aplicadas às fibras purificadas (palha e bagaço) foram monitoradas durante um período total de 96 horas. A Figura 4.2 apresenta perfis temporais referentes a conversão de celulose e a liberação de glicose observados durante a hidrólise enzimática.

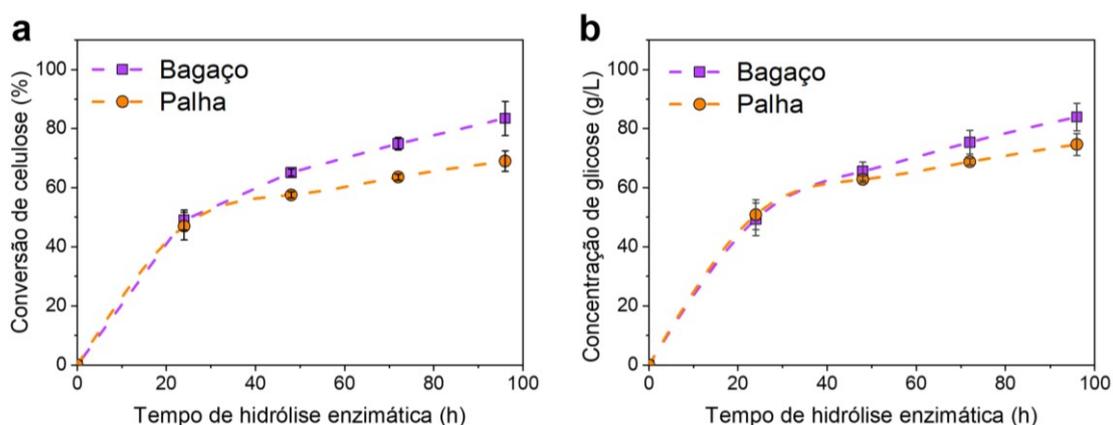


Figura 4.2 - Perfis temporais de (a) conversão de celulose e (b) concentração de açúcar para as reações de hidrólise enzimática do bagaço e palha de cana-de-açúcar purificados.

Os perfis temporais apresentaram comportamento semelhante para os dois materiais. A concentração de glicose obtida do bagaço variou de aproximadamente 49 a 84 g L<sup>-1</sup>, com conversão máxima de celulose de 83% após 96h de reação. Para a palha, a concentração de glicose variou de aproximadamente 50 a 75 g L<sup>-1</sup>, com conversão máxima de 69% após 96h de reação. Devido à remoção de grande parte dos constituintes não celulósicos pelo processo de purificação (Tabela 4.1), uma maior liberação de glicose foi observada para ambas as fibras, em comparação com estudos anteriores usando fibras, sólidos e cargas enzimáticas semelhantes, mas com outros pré-tratamentos como explosão de vapor [5] e processos hidrotérmicos [5,118].

Estes resultados evidenciam a eficácia do procedimento utilizado para facilitar o acesso das enzimas às nanoestruturas celulósicas.

A maior concentração de glicose proveniente da reação de hidrólise enzimática pode ser considerada um indicativo de uma maior eficiência do processo de extração da nanocelulose, uma vez que as enzimas atuarão preferencialmente na fração amorfa da celulose. Além disso, a glicose liberada pode ser utilizada como matéria-prima em diferentes processos de fermentação microbiana para a obtenção de uma variedade de produtos de base biológica, como o bioetanol[69].

Após a reação de hidrólise enzimática, o material residual foi centrifugado para separação dos CNCs e análise de rendimento (Figura 4.3). O rendimento de CNC foi semelhante para as duas fibras, atingindo a estabilização após aproximadamente 72h de reação. Os rendimentos máximos do CNC obtidos após 96h de hidrólise foram de 11,3% para o bagaço e 12% para a palha.

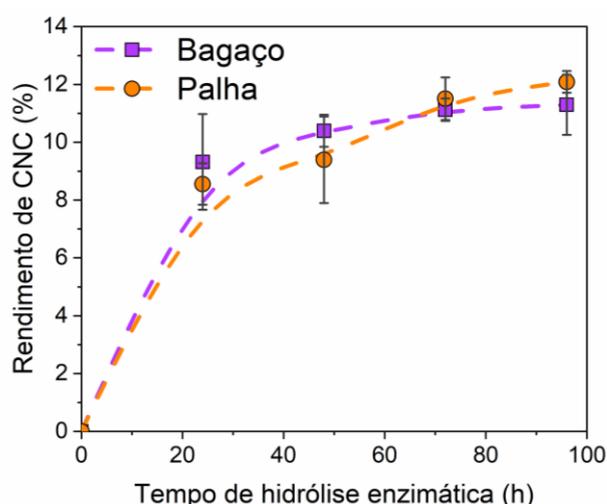


Figura 4.3 - Perfil temporal da produção de nanocristais de celulose (CNCs) após hidrólise enzimática do bagaço e palha de cana-de-açúcar purificados.

Os dados apresentados na Figura 4.3 mostraram que, dependendo da duração da hidrólise enzimática, é possível produzir um material com diferentes concentrações de CNCs. De acordo com estudos anteriores, os rendimentos e morfologias de CNC e CNF podem ser ajustados controlando certas condições de reação. Por exemplo, no caso de hidrólise ácida, o tipo de ácido e

concentração, temperatura de reação e tempo podem ser variados [95,107,120,121]. Ji e colaboradores [120] usaram polpa de bagaço de cana-de-açúcar branqueada para produzir nanocelulose por hidrólise ácida com ácido cítrico. Verificou-se que após a separação por centrifugação, as amostras foram obtidas com percentuais de CNCs entre 3 e 32%, dependendo principalmente do tempo de hidrólise, concentração de ácido e temperatura.

O rendimento do CNC pode ser associado a reações que ocorrem durante a hidrólise enzimática que convertem a celulose em glicose. Conforme discutido anteriormente, a hidrólise enzimática gerou elevada conversão de celulose. Esses resultados mostram que ao final das reações enzimáticas foi obtido um material rico em glicose com baixo percentual de sólidos e, conseqüentemente, baixa quantidade de CNC. Embora a hidrólise enzimática tenha um rendimento relativamente baixo de CNC, principalmente quando comparada aos trabalhos que utilizam hidrólise ácida, a viabilidade do uso da hidrólise enzimática reside justamente no fato de permitir a extração simultânea de dois subprodutos (ou seja, nanocelulose e glicose) na mesma rota de processamento, enquadrando-se no conceito de biorrefinaria. Biorrefinaria é uma instalação que integra processos de conversão de biomassa em biocombustíveis, insumos químicos, materiais, alimentos, rações e energia. O objetivo de uma biorrefinaria é otimizar o uso de recursos e minimizar os efluentes, maximizando os benefícios e o lucro [6].

#### **4.1.3 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

A Figura 4.4 mostra os espectros de FTIR para as diferentes etapas de processamento do bagaço (Figura 4.4a e 4.4b) e da palha (Figura 4.4c e 4.4d). Para facilitar a identificação de alguns fenômenos, as Figura 4.4b e 4.4d são ampliações das Figura 4.4a e 4.4c, na faixa espectral de 1900 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ . As principais bandas de absorção características dos materiais lignocelulósicos são apresentados na Tabela 4.2.

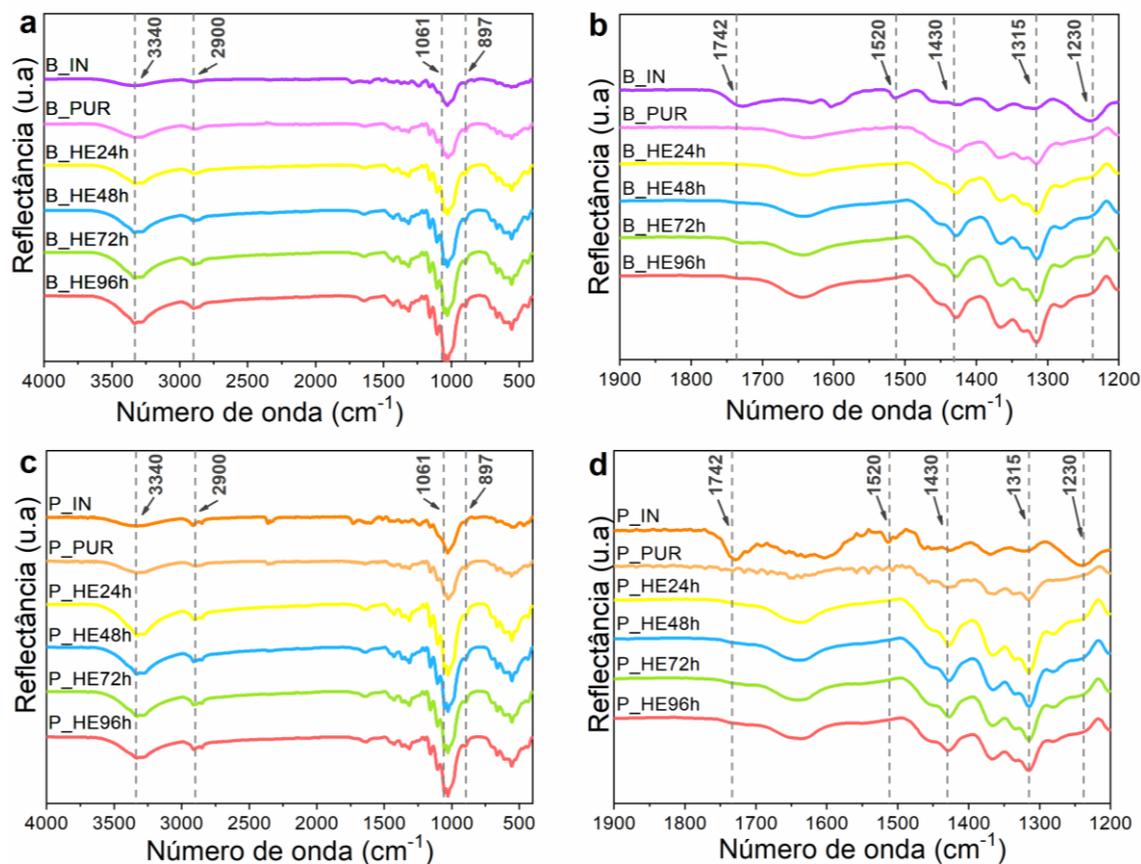


Figura 4.4 - Espectros de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para (a e b) bagaço de cana-de-açúcar in natura (B\_IN), purificado (B\_PUR) e após diferentes tempos de hidrólise enzimática (B\_HE24h, B\_HE48h, B\_HE72h, B\_HE96h); (c e d) palha de cana-de-açúcar in natura (P\_IN), purificada (P\_PUR) e após diferentes tempos de hidrólise enzimática (P\_HE24h, P\_HE48h, P\_HE72h, P\_HE96h).

Tabela 4.2 - Principais bandas de absorção características dos materiais lignocelulósicos [66,122].

Posição da banda (cm <sup>-1</sup> )	Ligação	Denominação	Fonte
3340	O–H	Estiramento	Lignina, celulose e hemiceluloses
2900	C–H	Estiramento	Lignina, celulose e hemiceluloses
1742	C=O	Estiramento	Hemicelulose e lignina
1520	C=C	Estiramento	Lignina
1430	C-H e C-O	Deformação assimétrica	Celulose cristalina
1315	C-H	Deformação simétrica angular	Celulose cristalina
1230	=C-O-C	Estiramento assimétrico axial	Lignina
1061	C-O e C-H	Estiramento	Celulose
897	C-O-C e C-H	Estiramento	Celulose

Os espectros de FTIR foram semelhantes para as duas amostras, apresentando uma banda em aproximadamente 3340 cm<sup>-1</sup>, correspondendo à vibração de estiramento de O–H, e uma banda C–H em 2900 cm<sup>-1</sup>. Essas bandas podem ser atribuídas às estruturas alifáticas na lignina, celulose e hemiceluloses [122,123].

A banda em 1742 cm<sup>-1</sup> nos espectros de bagaço e palha de cana-de-açúcar pode ser atribuída aos grupos ésteres acetil e uranil da hemicelulose, ou à ligação éster do grupo carboxílico dos ácidos ferúlico e p-cumárico da lignina e/ou hemiceluloses [66]. Essa banda desapareceu no espectro de todas as fibras purificadas, devido à significativa remoção de hemiceluloses e lignina durante o processo de purificação. As bandas em 1520 cm<sup>-1</sup> dos espectros do bagaço e palha *in natura* podem ser consideradas decorrentes da presença de lignina

correspondendo ao estiramento da ligação C=C do anel aromático da lignina [122]. Esta banda também desapareceu em todos os outros espectros, indicando a remoção de lignina das fibras. A banda em  $1230\text{ cm}^{-1}$  observada nos espectros das fibras *in natura* correspondem à deformação assimétrica axial de C-O-C, que é geralmente observada quando grupos como éter, éster e fenol estão presentes [66]. Em todos os outros espectros, esta banda não foi observada, fato que também evidencia a remoção de lignina detectável por análise de FTIR.

A deformação assimétrica dos grupos CH e COH (indicada pela banda em  $1430\text{ cm}^{-1}$ ) e a deformação angular simétrica dos grupos CH<sub>2</sub> (indicada pela banda em  $1315\text{ cm}^{-1}$ ) podem ser características da celulose cristalina [122]. As intensidades dessas bandas foram maiores para as fibras tratadas, em comparação com as fibras *in natura*, e foram ainda maiores para as amostras obtidas após a hidrólise enzimática. Isso representa um indicativo do aumento no grau de cristalinidade causado pelo processo de purificação e pela reação de hidrólise enzimática. Bandas em  $1061$  e  $897\text{ cm}^{-1}$  são associadas ao estiramento dos grupos C-O e C-H presentes na celulose [66]. O material obtido após os diferentes tempos de hidrólise enzimática com uso de ambas as biomassas apresentou espectros de FTIR semelhantes em relação a essas bandas, sugerindo que a composição das fibras de celulose não sofreu mudanças significativas após um longo tempo de hidrólise enzimática. Também houve evidências de que a nanocelulose manteve uma quantidade abundante de grupos hidroxila expostos após os processos de desintegração da celulose amorfa, conforme indicado pela evolução das bandas atribuídas a este grupo, principalmente em torno de  $3340\text{ cm}^{-1}$ .

#### 4.1.4 Difractometria de Raios X (DR-X)

O índice de cristalinidade é um importante parâmetro que indica a remoção de constituintes amorfos e também permite a compreensão das alterações do polimorfismo da estrutura da celulose após as diferentes etapas de tratamento [124]. As Figura 4.5 e a Figura 4.6 apresentam os padrões de difração de raios-X das biomassas *in natura*, purificadas e após a hidrólise enzimática do bagaço e palha de cana-de-açúcar, respectivamente. Todos os

difratogramas apresentaram predominância de picos característicos da celulose I em  $2\theta$  igual a  $15^\circ$  (plano 101),  $17^\circ$  (plano  $10\bar{1}$ ),  $21^\circ$  (plano 021),  $23^\circ$  (plano 002) e  $34^\circ$  (plano 004) , [66,68,102,125]. Após o processo de purificação e hidrólise enzimática, foi possível observar uma mistura dos polimorfos da celulose I e II. A presença de celulose II foi evidenciada pelo aparecimento de um pico em  $2\theta$  igual a  $12^\circ$  (plano 101) [66,68]. Conforme relatado por Schenzel e Fischer [126], a principal causa do polimorfismo da celulose I e II é a dissolução da celulose I na presença de sais inorgânicos como o NaOH, a formação da celulose II depende também de fatores como concentração desses sais além do tempo de exposição e temperatura.

Ambas as fibras apresentaram aumento substancial do índice de cristalinidade após o processo de purificação, correspondendo à remoção de componentes amorfos como partes da hemicelulose e da lignina [119]. Ambos os materiais também apresentaram aumento do índice de cristalinidade após hidrólise enzimática por 24 h, indicando que as enzimas agiram para remover a celulose amorfa. Por outro lado, com o aumento do tempo de hidrólise, houve uma leve diminuição da cristalinidade, o que pode indicar que as enzimas passaram a causar despolimerização das cadeias de celulose cristalina [5,15]. Estudos anteriores relataram valores de índice de cristalinidade variando de 70% a 85% para CNC ou CNF obtido do bagaço de cana por processos químicos e mecânicos [5,127,128], corroborando com os valores aqui encontrados. Esses resultados demonstraram que os resíduos agroindustriais da cana-de-açúcar (ou seja, bagaço e palha) podem ser utilizados na extração de nanocelulose com alto índice de cristalinidade pela via enzimática.

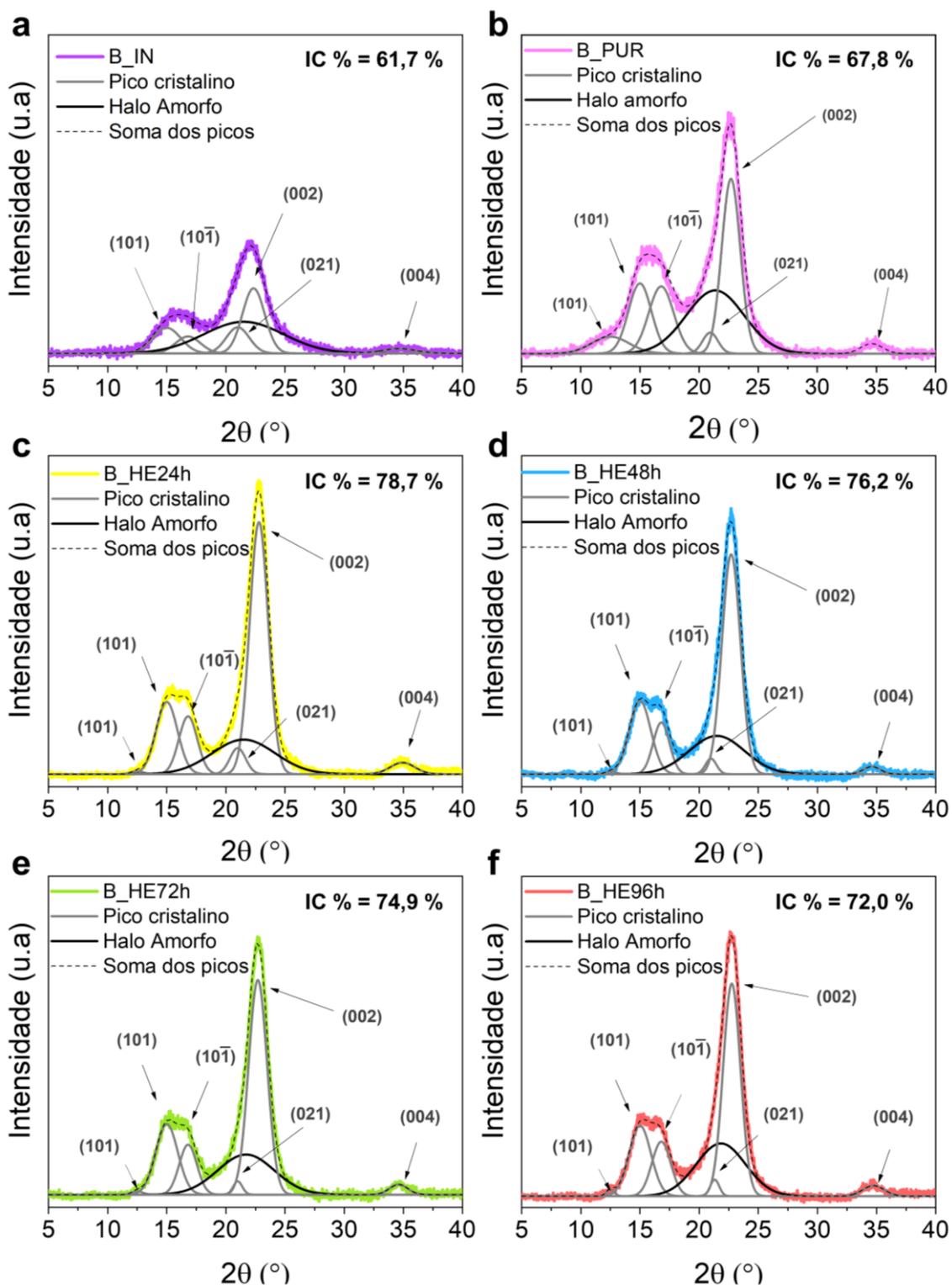


Figura 4.5 - Difractogramas de raios-X ajustados por deconvolução do bagaço de cana-de-açúcar (a) in natura, (b) purificado e após hidrólise enzimática com duração de (c) 24h, (d) 48h, (e) 72h, e (f) 96h.

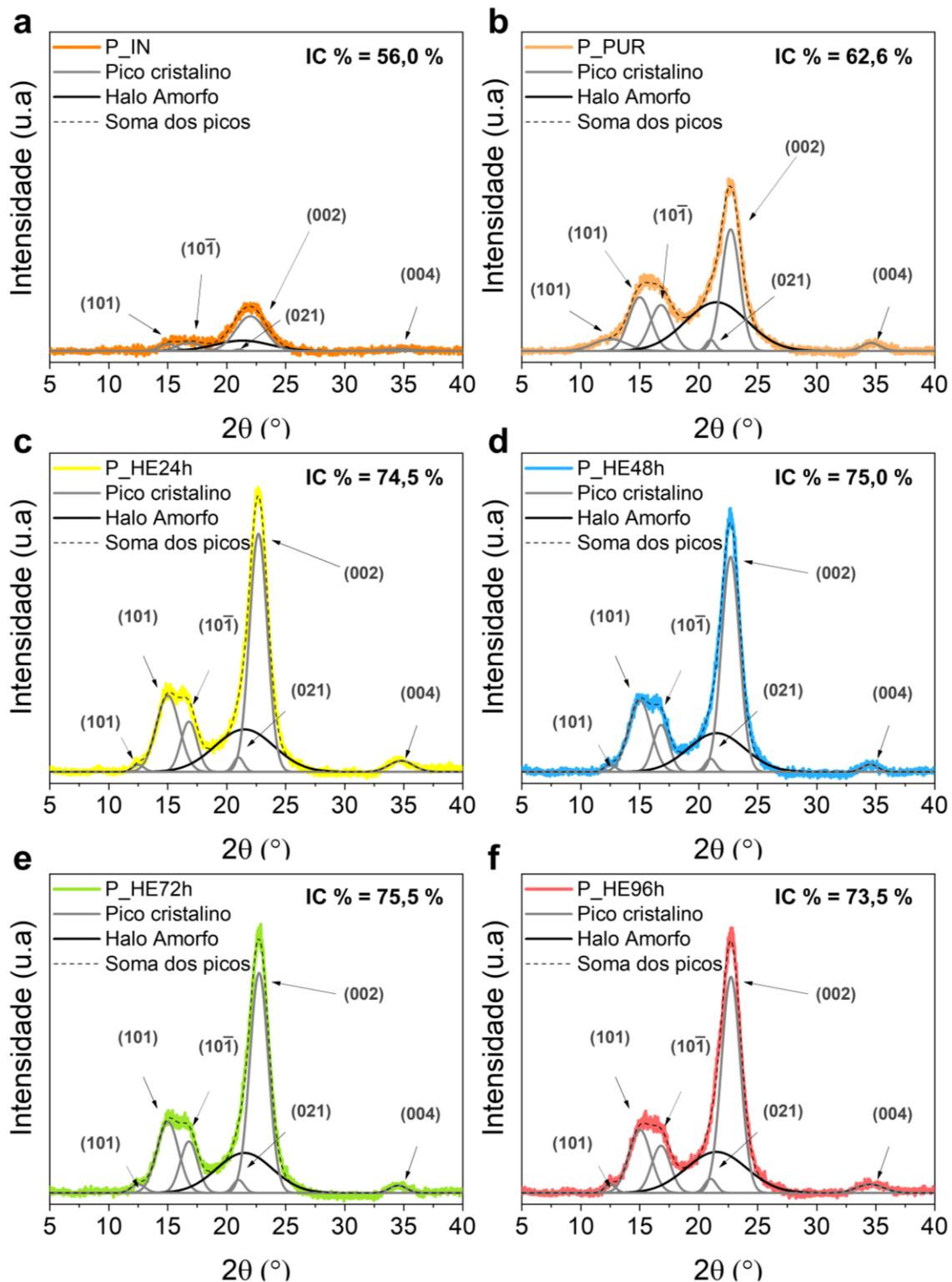


Figura 4.6 Difratoformas de raios-X ajustados por deconvolução da palha de cana-de-açúcar (a) *in natura*, (b) purificada e após hidrólise enzimática com duração de (c) 24h, (d) 48h, (e) 72h, e (f) 96h.

#### 4.1.5 Microscopia de força atômica (AFM)

As imagens de microscopia de força atômica (AFM) dos nanocristais de celulose obtidos a partir da centrifugação do material residual da hidrólise enzimática do bagaço e da palha são apresentadas na Figura 4.7 e Figura 4.8, respectivamente. Nessas figuras são apresentadas também as respectivas distribuições de comprimento e diâmetro dessas amostras obtidas através das imagens AFM. As dimensões médias (comprimento e diâmetro) obtidos a partir das imagens AFM desses materiais são apresentados na Tabela 4.3.

Pode-se observar nas imagens da AFM (Figura 4.7 e Figura 4.8) que em todas as amostras, o material obtido apresentou estruturas finas e alongadas características dos nanocristais de celulose (CNCs). Para as amostras obtidas a partir do bagaço de cana-de-açúcar com menor tempo de hidrólise (24h), o comprimento das nanoestruturas apresentou uma distribuição normal entre 400 e 900 nm, e essa distribuição tornou-se mais estreita conforme o aumento do tempo de hidrólise. Os diâmetros dessas nanoestruturas inicialmente (após 24 h de reação) apresentaram uma distribuição de valores entre 6 e 24 nm, evidenciando uma elevada heterogeneidade da amostra. Com o aumento do tempo de hidrólise a distribuição de diâmetros tornou-se mais estreita revelando um aumento da homogeneidade das amostras. Após 96 h de reação, o gráfico de distribuição de diâmetros apresentou um comportamento assimétrico à esquerda, com diâmetros variando entre 2 e 18 nm. Conforme Tabela 4.3, as nanoestruturas obtidas a partir da hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar após 96h de reação apresentaram comprimento médio de 351,7 nm e diâmetro médio de 8,4 nm. Esses valores podem ser considerados satisfatórios para este tipo de material, quando comparados com os resultados obtidos em outros estudos, onde diferentes métodos foram utilizados para extrair CNCs de fibras de cana-de-açúcar, incluindo hidrólise ácida e tratamento mecânico [3,14–16,18,19,23].

A hidrólise enzimática da palha da cana-de-açúcar realizada com diferentes tempos de reação gerou nanoestruturas com diferentes aspectos que podem ser observadas na Figura 4.8. As nanopartículas observadas na amostra obtida após 24h de hidrólise apresentaram distribuição normal de comprimento

variando entre 300 e 900 nm. Com o aumento do tempo de reação, essa distribuição tornou-se mais estreita e deslocou-se para valores menores, com comprimentos na faixa de 300 a 700 nm para a amostra obtida após 96h de hidrólise enzimática. A distribuição dos diâmetros do material obtido após 24h de hidrólise apresentou diâmetros entre 4 e 20 nm, e o aumento do tempo de reação resultou no estreitamento dessa distribuição e se deslocando para valores menores, com o aparecimento de estruturas com diâmetros entre 2 e 4 nm após 48h.

No que se refere a razão de aspecto (Tabela 4.3) foi possível notar que as amostras obtidas a partir a palha da cana-de-açúcar apresentaram razões de aspecto maiores quando comparadas com os materiais obtidos a partir do bagaço. De acordo com De Carvalho e colaboradores [12], as fibras da palha são ligeiramente mais longas e menores em diâmetro, comparadas às do bagaço, concordando com os resultados obtidos no presente trabalho.

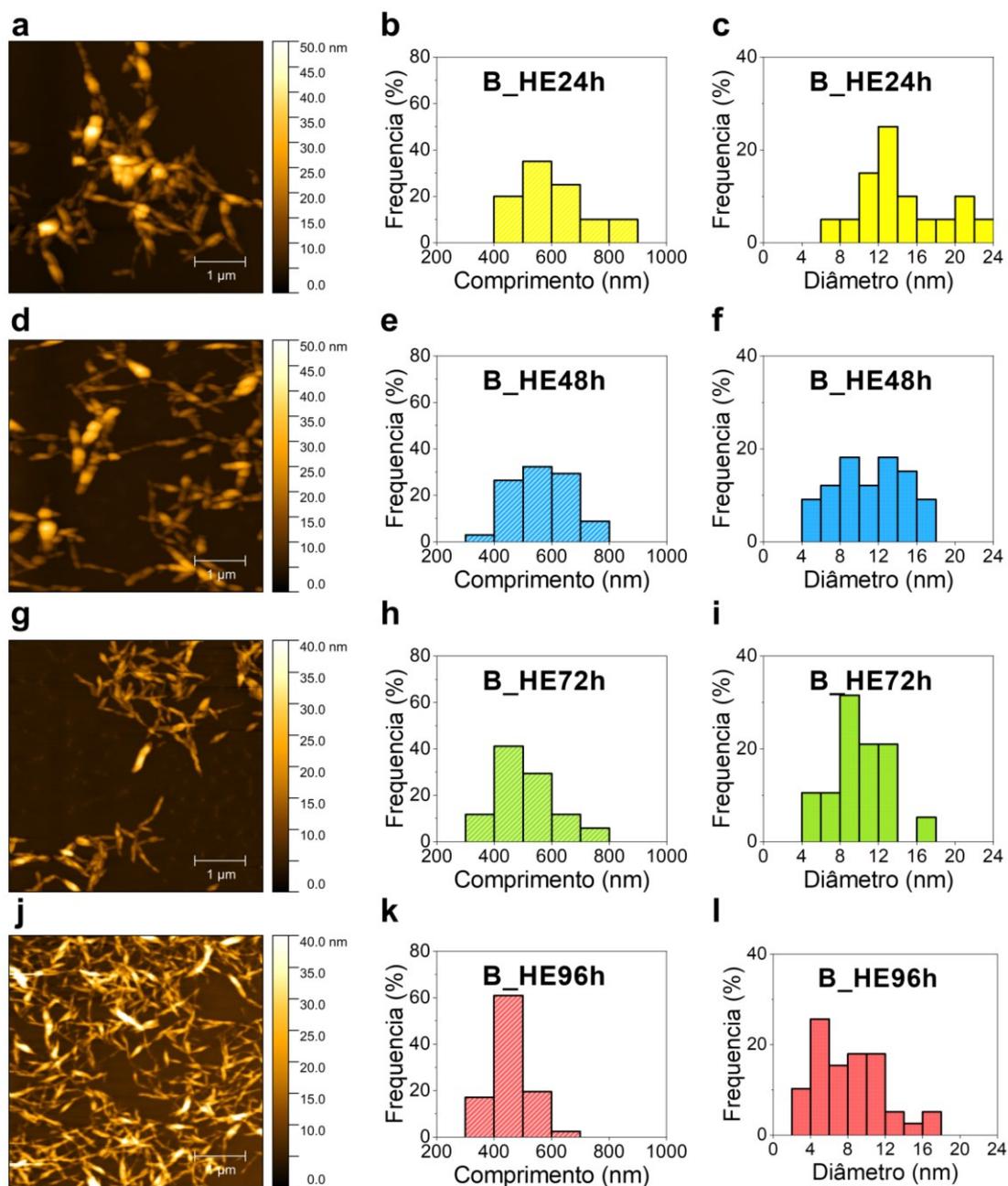


Figura 4.7 - Imagens obtidas por microscopia de força atômica (AFM) e as distribuições de comprimento e diâmetro dos nanocristais de celulose obtidos a partir do bagaço de cana-de-açúcar após hidrólise enzimática de 24h (a - c), 48h (d - f), 72h (g - i) e 96h (j - l).

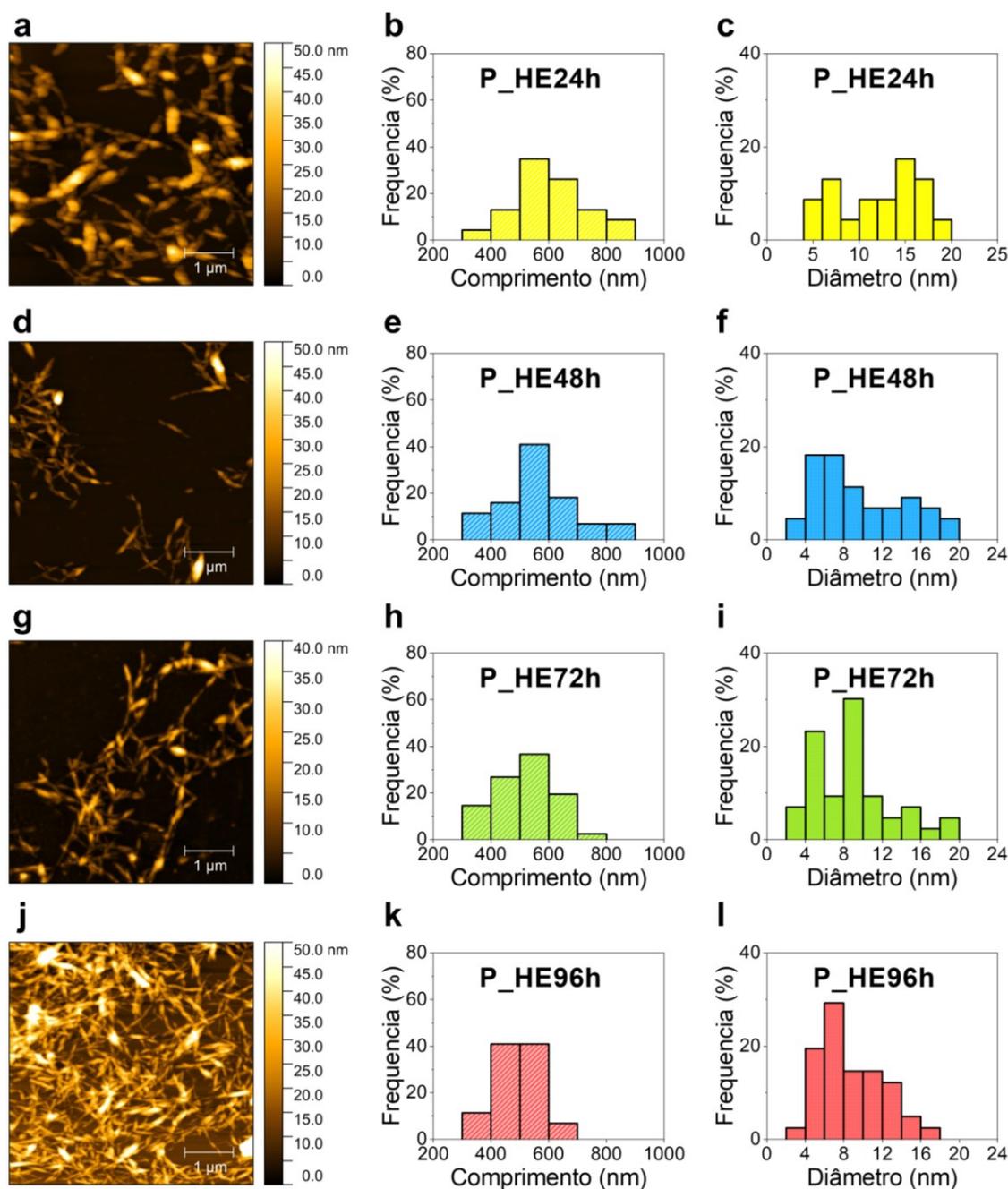


Figura 4.8 - Imagens obtidas por microscopia de força atômica (AFM) e as distribuições de comprimento e diâmetro dos nanocristais de celulose obtidos a partir da palha de cana-de-açúcar após hidrólise enzimática de 24h (a - c), 48h (d - f), 72h (g - i) e 96h (j - l).

Tabela 4.3 - Dimensões dos nanocristais de celulose obtidas por microscopia de força atômica (AFM)

Amostra	Comprimento (nm)	Diâmetro (nm)	L/D
B_HE24h	506,1 ± 123,7	12,2 ± 5,6	41,5
B_HE48h	465,2 ± 99,3	11,8 ± 4,6	39,3
B_HE72h	409,1 ± 96,5	10,0 ± 3,0	41,1
B_HE96h	351,7 ± 65,0	8,4 ± 3,6	41,9
P_HE24h	507,7 ± 118,0	14,1 ± 5,9	35,9
P_HE48h	461,8 ± 124,6	11,1 ± 6,1	40,3
P_HE72h	412,2 ± 96,3	9,2 ± 4,4	44,9
P_HE96h	395,5 ± 73,1	8,7 ± 3,4	45,2

#### 4.1.6 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

Os dados DLS para o tamanho de partícula aparente ( $Z_D$ ), índice de polidispersidade (PDI) e o potencial Zeta das amostras são mostrados na Tabela 4.4. As medições do tamanho de partícula aparente ( $Z_D$ ) podem dar uma indicação aproximada da presença de partículas grandes ou aglomerados, bem como fornece distribuições de tamanho de nanopartículas relativas para diferentes amostras. O PDI indica o grau de homogeneidade do tamanho da amostra, com valores próximos a 1 indicando uma distribuição de tamanho mais ampla, enquanto uma amostra monodispersa apresenta um valor de PDI igual a zero [68].

Tabela 4.4 - Tamanhos de partículas aparentes ( $Z_D$ ), índices de polidispersidade (PDI) e potencial zeta aparente para as amostras de bagaço e palha de cana-de-açúcar, obtidos após diferentes tempos de hidrólise enzimática.

Amostra	$Z_D$ (nm)	PDI	Zeta (mV)
B_HE24h	242,3 ± 21,3	0,329 ± 0,064	-24,2 ± 0,5
B_HE48h	239,0 ± 23,9	0,304 ± 0,059	-26,0 ± 0,8
B_HE72h	217,8 ± 21,4	0,309 ± 0,037	-29,4 ± 1,4
B_HE96h	212,3 ± 15,7	0,272 ± 0,039	-31,9 ± 0,4
P_HE24h	249,1 ± 31,9	0,345 ± 0,062	-24,8 ± 0,5
P_HE48h	248,0 ± 29,8	0,364 ± 0,077	-26,2 ± 1,2
P_HE72h	246,0 ± 27,5	0,319 ± 0,039	-28,6 ± 0,8
P_HE96h	241,5 ± 31,1	0,303 ± 0,053	-31,5 ± 0,4

As fibras do bagaço e da palha da cana-de-açúcar submetidas à hidrólise enzimática apresentaram comportamentos semelhantes, com diminuição do tamanho aparente conforme o tempo de reação aumenta. Esta alteração pode ser atribuída à redução do diâmetro e/ou comprimento das nanopartículas, confirmados também pelos resultados das análises AFM. O PDI também diminuiu ligeiramente com o aumento do tempo de reação, para ambas as amostras, indicando maior homogeneidade do tamanho das nanopartículas. É importante ressaltar que apesar da técnica de DLS não ser adequada para determinação do valor real do comprimento e diâmetro de nanopartículas alongadas como é o caso do CNC, os resultados aqui apresentados são importantes para a realização de uma medida relativa capaz de estimar a redução nos tamanhos com o decorrer das hidrólises.

A técnica de DLS também já foi utilizada por Ribeiro e colaboradores [129] para avaliar a evolução na morfologia de nanopartículas obtida da polpa de celulose com o aumento do tempo de hidrólise enzimática. Os autores observaram valores de tamanho médio aparente de 533, 425 e 423 nm para nanoestruturas obtidas após 24, 48 e 72h de hidrólise, respectivamente. Sendo

está redução no tamanho das amostras também confirmada através de microscopia eletrônica de varredura.

Visando avaliar a presença de carga líquida superficial nas amostras obtidas após variados tempos de hidrólise enzimática e a partir das diferentes biomassas (Bagaço e Palha), foram realizadas medidas de potencial aparente pela mobilidade eletroforética das partículas, apresentados na Tabela 4.4. Para ambas as fibras foi observado uma tendência de aumento no módulo do potencial Zeta aparente com o prolongamento do tempo de hidrólise enzimática. Durante a hidrólise enzimática ocorre a exposição de grupos funcionais presentes na hemicelulose residual devido ao rompimento das fibrilas. Além disso, também ocorre a exposição das hidroxilas presentes na celulose [130]. Assim, com o aumento do tempo de hidrólise ocorre um aumento da ocorrência desses processos que causam exposição de grupamentos negativamente carregados presentes na biomassa lignocelulósica gerando então estruturas com maior densidade de cargas superficiais.

Segundo Bhattacharjee (2016) [131] suspensões com partículas com potencial Zeta aparente menores que -10 mV (em módulo) são consideradas instáveis, relativamente estável entre -10 e -20 mV, moderadamente estável entre -20 mV e -30 mV e acima de -30 mV a suspensão é altamente estável. A estabilidade das nanopartículas em suspensão é uma propriedade desejável, pois facilita a sua dispersão para aplicações posteriores. Aqui dependendo do tempo de hidrólise enzimática foi possível obter nanoestruturas capazes de formar suspensões ao menos moderadamente estáveis (zeta entre ~25 e 31 mV) evidenciando a viabilidade da utilização desse material em aplicações, como por exemplo, a produção de nanocompósitos.

Já existem trabalhos na literatura que relatam a obtenção de suspensões de nanocristais de celulose com elevado potencial Zeta aparente obtidas por meio de métodos aplicados com a ausência de ácidos. Evidenciando assim que somente com a exposição de grupamentos negativamente carregados presentes na biomassa lignocelulósica é possível a obtenção de soluções de nanocristais de celulose com alta estabilidade coloidal [132,133]. Martelli-Tosi e colaboradores [132] usaram hidrólise enzimática para preparar nanocelulose a

partir de palha de soja mercerizada e observaram para as suspensões de nanocelulose valores de potencial Zeta de cerca de -24,5 mV. Por outro lado, os mesmos autores prepararam nanocelulose usando hidrólise de ácido sulfúrico e observaram um potencial Zeta de -28,8 mV. O potencial Zeta medido para a nanocelulose obtida por hidrólise ácida com ácido sulfúrico foi geralmente superior ao potencial Zeta medido para o obtido por hidrólise enzimática, devido à presença de grupos sulfato ao longo das cadeias de nanocelulose.

#### **4.1.7 Termogravimetria (TG/DTG)**

As propriedades térmicas das nanoceluloses desempenham um papel importante quando esses materiais são usados como reforço em nanocompósitos, especialmente no caso de nanocompósitos processados por fusão ou que serão submetidos a aplicações que envolvem variações de temperatura [68]. As curvas de termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTG) para o bagaço e palha de cana-de-açúcar *in natura*, purificados e após diferentes tempos de hidrólise enzimática são apresentadas na Figura 4.9, já os dados correspondentes estão listados na Tabela 4.5.

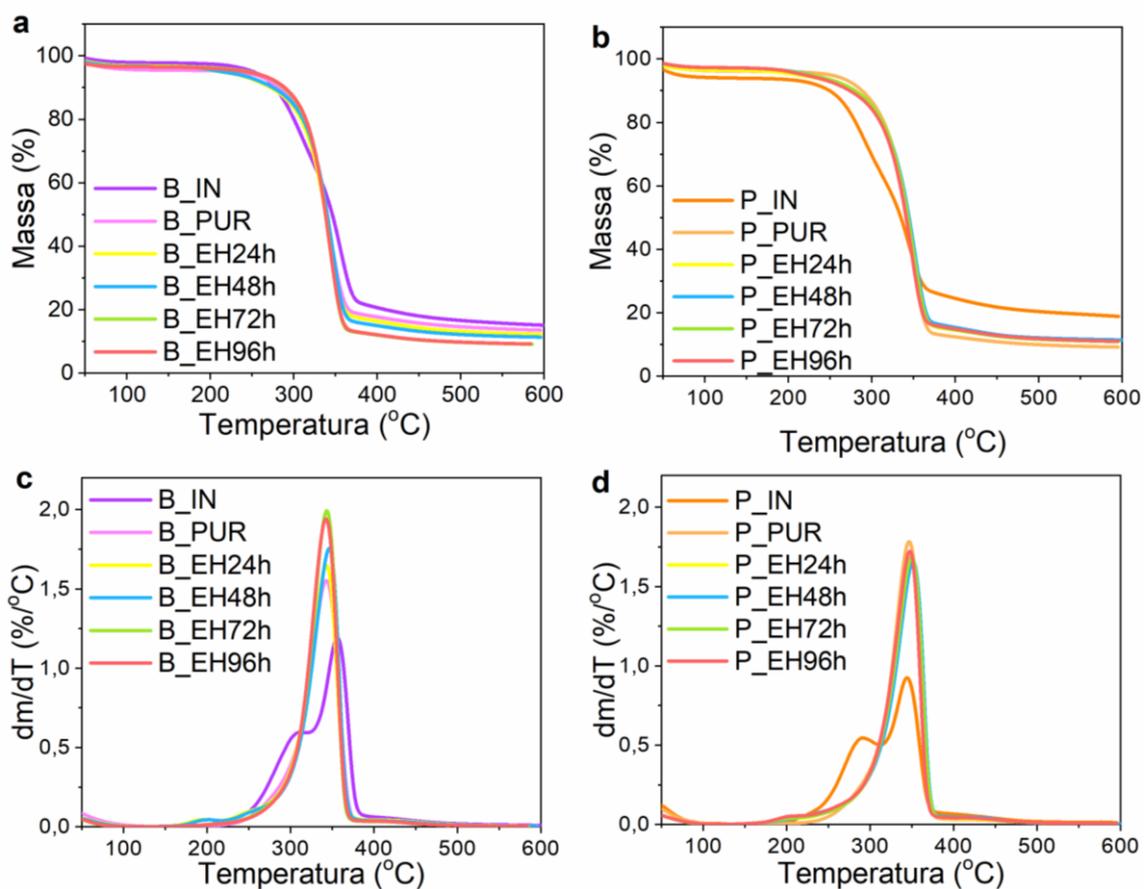


Figura 4.9 - Curvas TG / DTG para os diferentes materiais (brutos, tratados e após hidrólise enzimática): bagaço de cana-de-açúcar e (a e b) e palha de cana-de-açúcar (c e d).

Tabela 4.5 – Propriedades térmicas do bagaço e palha de cana-de-açúcar *in natura*, após o processo de purificação e após diferentes tempos de hidrólise enzimática.

Amostra	$T_{onset}$ (°C)	$T_{max}$ (°C)
B_IN	271,0	313,3
B_PUR	309,7	342,9
B_HE24h	309,5	342,9
B_HE48h	313,2	346,3
B_HE72h	314,6	343,3
B_HE96h	313,8	342,1
P_IN	259,1	307,0
P_PUR	315,5	346,6
P_HE24h	315,2	349,8
P_HE48h	316,4	351,0
P_HE72h	315,4	350,3
P_HE96h	313,4	347,2

Para todas as amostras, os perfis de perda de massa apresentaram um evento entre 35 e 150 °C, associado à evaporação da água do material ou compostos de baixo peso molecular dos materiais. Todas as amostras também apresentaram um evento em torno de 350 °C correspondente ao processo de degradação da celulose, que envolve os processos simultâneos de despolimerização, desidratação e decomposição das unidades glicosídicas [66]. As curvas DTG para ambas as fibras *in natura* (palha e bagaço) apresentaram ainda um pico de menor intensidade localizado a esquerda do pico principal da pirólise da celulose. Esse pico é relacionado à decomposição da hemicelulose e pectina na presença de temperatura menos elevadas [134]. A ausência desse pico para as demais amostras evidencia a eficácia do tratamento na remoção de hemicelulose.

Temperaturas de início de degradação térmica ( $T_{onset}$ ) mais elevadas foram observadas tanto para as fibras purificadas quanto para os materiais obtidos após a hidrólise enzimática, em comparação com os valores para as biomassas *in natura*. Os valores  $T_{onset}$  para o bagaço e palha tratados foram aproximadamente 40 °C e 55 °C maiores, respectivamente, em comparação com as fibras *in natura*. Esses aumentos de  $T_{onset}$  apresentados pelas fibras após o processo de purificação estão de acordo com resultados relatados na literatura [66,135,136]. Kumar e colaboradores [135] observaram um aumento de 18 °C para  $T_{onset}$  de amostras de bagaço de cana-de-açúcar, após um processo de purificação usando um tratamento com hidróxido de sódio seguido de branqueamento com clorito de sódio, ácido acético e hidróxido de sódio. Os autores atribuíram esse aumento na estabilidade térmica das amostras à remoção de hemicelulose, lignina e pectina com menores temperaturas de início de degradação térmica.

As propriedades térmicas das amostras produzidas após 24, 48, 72 e 96h de hidrólise enzimática apresentaram pequenas variações, sendo a maior  $T_{onset}$  para o bagaço extraído após 72h de hidrólise (314,6 °C) e palha após 48h (316,4 °C). Com o aumento do tempo de hidrólise, a estabilidade térmica de ambas as fibras diminui, o que pode estar associado ao tamanho reduzido das nanopartículas. A hidrólise enzimática da celulose é um processo que resulta em nanocelulose com massa molecular reduzida, área superficial específica aumentada e grupos mais ativos expostos que facilitam o início de reações de degradação térmica [137].

Os valores de  $T_{onset}$  encontrados aqui foram superiores aos observados para nanocelulose de bagaço de cana-de-açúcar obtido por hidrólise com ácido sulfúrico [5,16], possivelmente devido à introdução de grupos sulfato na celulose durante a hidrólise ácida, o que diminui a estabilidade térmica da nanocelulose. Esses valores mais elevados de  $T_{onset}$  (maior que 310 °C) do CNC produzido por hidrólise enzimática podem ser considerados uma propriedade interessante, abrindo uma vasta paleta de possíveis aplicações deste nanomaterial.

## **4.2 Etapa 2: Produção e caracterização de eletrólitos nanocompósitos**

### **Nafion – CNC**

Nesta etapa do trabalho foram produzidas através da técnica de conformação membranas de Nafion contendo ou não nanocristais de celulose. Os aspectos visuais das membranas produzidas bem como a membrana comercial podem ser observados na Figura 4.10. Todas as amostras apresentaram-se macroscopicamente homogêneas e coloração dependente da composição. Visualmente a membrana produzida através da técnica de conformação se assemelha a membrana comercial, pois ambas apresentam elevada transparência e ausência de coloração. Por outro lado, a incorporação dos nanocristais de celulose (comercial e enzimático) levou a produção de membranas com coloração marrom, contudo ainda translúcidas.

Afim de averiguar o efeito da incorporação dos diferentes nanocristais de nanocelulose na matriz de Nafion foi realizada uma caracterização em termos de composição, estrutura, morfologia, propriedades térmicas e viscoelásticas e condutividade protônica. Além disso, as membranas foram testadas em uma célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons.

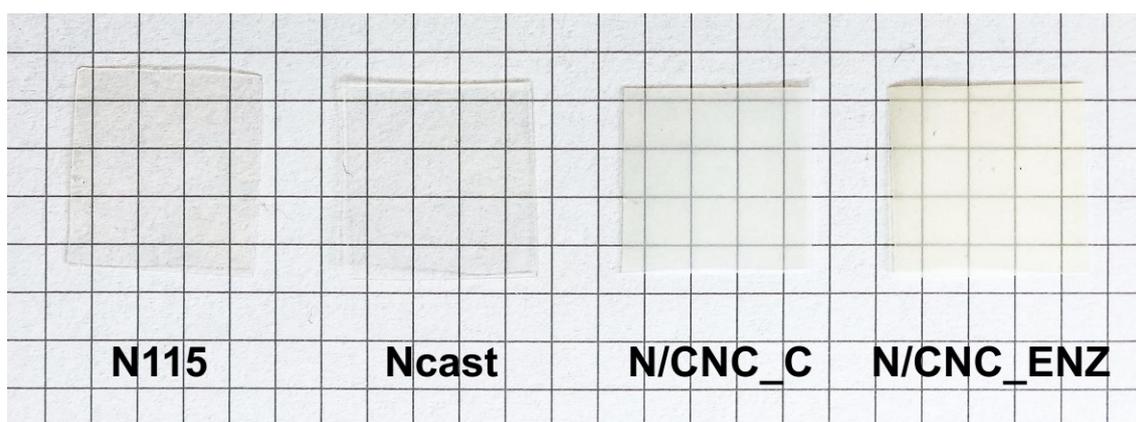


Figura 4.10 - Membranas produzidas com Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ).

#### **4.2.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

A análise do Nafion e seus nanocompósitos por meio de espectros vibracionais na região do infravermelho fornece informações sobre as características químicas e morfológicas do material obtido. O Nafion comercial (Nafion 115), o Nafion produzido por conformação (Ncast) e os nanocompósitos com adição de nanocristais de celulose comercial (N/CNC\_C) e obtidos por hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ) foram analisados utilizando a técnica de FT-IR e os espectros obtidos são apresentados na Figura 4.11.

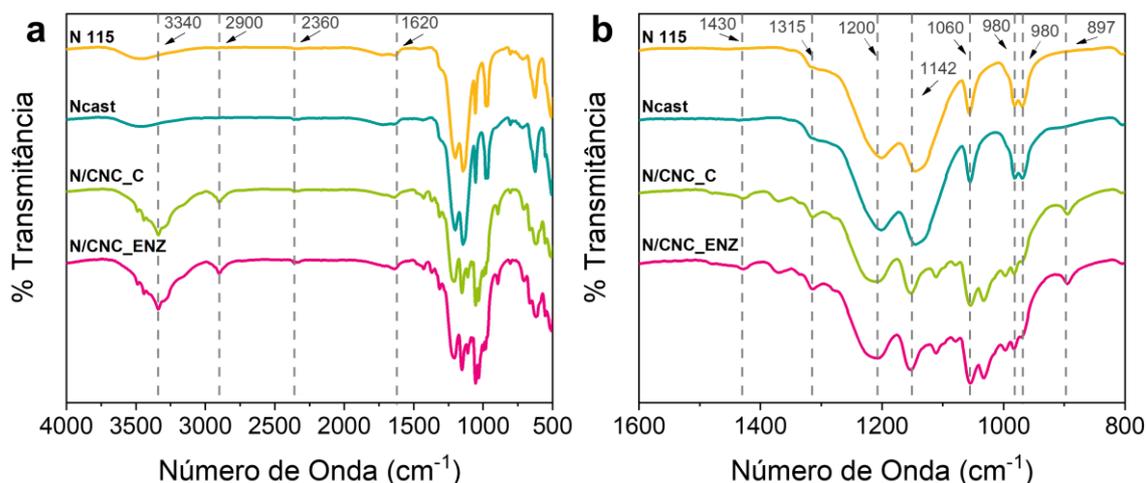


Figura 4.11 – (a) Espectros de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para membrana de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNCs comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNCs obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ); (b) ampliações dos mesmos espectros na faixa espectral de 1600 a 800  $\text{cm}^{-1}$ .

Todas as amostras analisadas apresentaram as principais bandas características do Nafion, as posições no espectro dessas bandas de absorção de energia na região do infravermelho são encontradas na Tabela 4.6. A manutenção dessas bandas nas amostras produzidas pelo processo de conformação é um indicativo que o método adotado não afetou a integridade das cadeias poliméricas, das ramificações e dos grupos sulfônicos, responsáveis pela morfologia, propriedades mecânicas e elétricas do polímero.

Tabela 4.6 - Principais bandas de absorção características do Nafion [28,138]

Posição da banda (cm <sup>-1</sup> )	Ligação	Denominação
2360	-CF <sub>2</sub> -CF <sub>2</sub> -	Estiramento
1620	OH	Deformação angular
1200	CF <sub>2</sub> e SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Estiramento assimétrico
1142	CF <sub>2</sub> e SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Estiramento simétrico
1060	-SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Estiramento simétrico
980	-C-O-C-	Estiramento
960	-C-O-C-	Estiramento simétrico

A banda observada em 2360 cm<sup>-1</sup> é associada a cadeia principal do polímero formada por ligações -CF<sub>2</sub>-CF<sub>2</sub>-. A banda em 1620 cm<sup>-1</sup> é gerada pela presença da água contida na estrutura do polímero. As bandas observadas em 1200, 1142 e 1060 cm<sup>-1</sup> podem indicar a existência de grupos sulfônicos na membrana, e representavam respectivamente a vibração de estiramento assimétrico da ligação S=O, a vibração de estiramento simétrico da ligação S=O e o Estiramento simétrico do S=O. No entanto as bandas 1200 e 1142 cm<sup>-1</sup> também podem ser atribuídas ao estiramento assimétrico e simétrico da ligação C-F presentes na cadeia principal do Nafion. As bandas em 980 e 960 cm<sup>-1</sup> apresentam a típica absorbância da ligação C-O-C presente nas cadeias laterais do Nafion [30,138].

Além da verificação das bandas características do Nafion, os espectros de FTIR dos materiais obtidos também foram analisados para verificar a presença de solventes residuais do processo de conformação. O solvente utilizado no processo de conformação foi o DMSO, quando ocorre a incompleta retirada desse solvente da matriz polimérica os espectros das amostras podem apresentar três bandas características desse solvente em 2657, 1659, e 1410 cm<sup>-1</sup>. As bandas em 2657 e 1410 cm<sup>-1</sup> são associadas a ligação C-H do grupo metil presente no DMSO. Já a banda em 1659 cm<sup>-1</sup> é atribuída as ligações C=O e S=O do solvente [106]. Nos espectros das membranas produzidas não foram

observadas nenhuma das bandas características do DMSO, sugerindo que não há resíduos de solvente nas membranas fabricadas.

Em relação aos espectros dos nanocompósitos, os padrões observados são consistentes com a estrutura química e composição esperadas devido a presença de além das bandas características do Nafion também das bandas de absorção dos nanocristais de celulose (Tabela 4.2). As principais bandas observadas que evidenciam a manutenção dos CNCs na matriz são em  $3340\text{ cm}^{-1}$  (estiramento O-H),  $2900\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-H),  $1430\text{ cm}^{-1}$  (deformação assimétrica C-H e C-O),  $1315\text{ cm}^{-1}$  (deformação simétrica angular C-H),  $897\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-O-C e C-H). A banda característica da celulose em  $1061\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento dos grupos C-O e C-H não pode ser identificada, pois a mesma pode estar sobreposta a banda do estiramento simétrico do grupo sulfônico presente no Nafion.

#### **4.2.2 Difratometria de Raios X (DR-X)**

O efeito da introdução dos nanocristais de celulose na matriz polimérica de Nafion em relação a cristalinidade da membrana obtida foi avaliado por difração de Raios X. De acordo com difratogramas apresentados na Figura 4.12, o padrão de Raios X das membranas de Nafion puro (N115 e Ncast) são semelhantes e característicos de um material semicristalino com um pico de difração largo em  $2\theta$  entre  $12^\circ$  e  $20^\circ$ . Esse pico observado é resultante da sobreposição de um pico cristalino ( $2\theta = 17,5^\circ$ ) e um halo amorfo ( $2\theta = 16^\circ$ ) das cadeias laterais de perfluoroeter do Nafion [106,139].

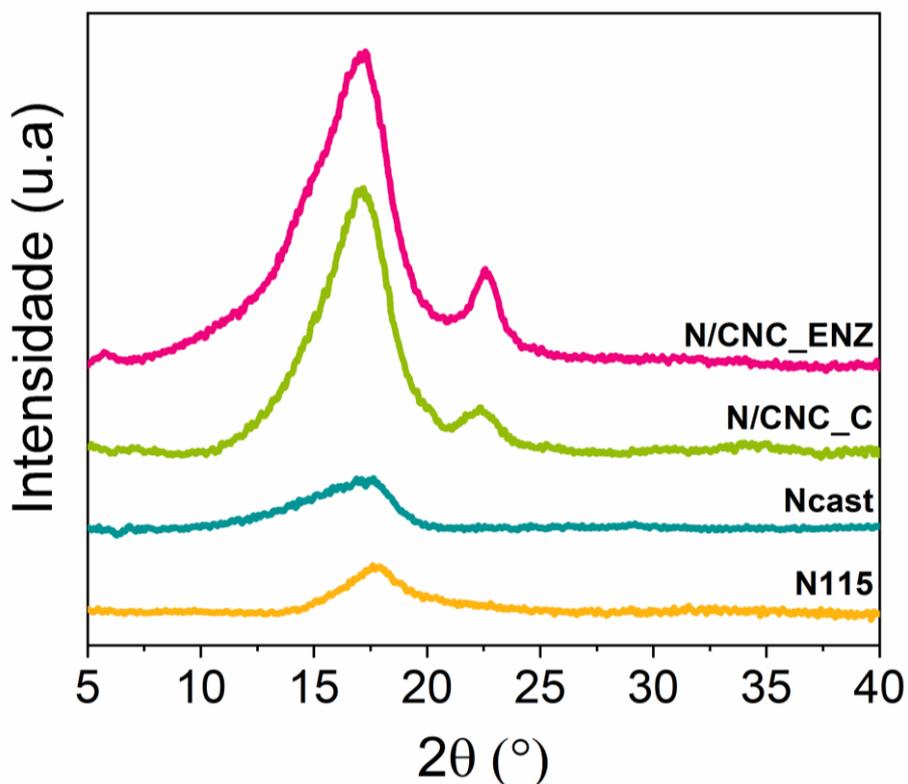


Figura 4.12 Difratoogramas de raios-X para membrana de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNCs comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNCs obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ).

Como esperado, o padrão de difração das membranas de nanocompósitos (N/CNC\_C e N/CNC\_ENZ) corresponde a uma sobreposição dos difratogramas dos componentes isolados (Nafion e celulose). Nestes materiais foi possível observar principalmente o aparecimento do pico em  $2\theta = 23^\circ$  referente ao plano 002 da celulose [66,68,102,125]. Também houve um aumento considerável do pico de difração largo em  $2\theta$  entre  $12^\circ$  e  $20^\circ$  provavelmente causado pela sobreposição dos picos característicos do Nafion com os picos da celulose em  $2\theta$  igual a  $15^\circ$  (plano 101),  $17^\circ$  (plano  $10\bar{1}$ ) [66,68,102,125].

Por fim, o surgimento dos picos cristalinos característicos da celulose no difratogramas das membranas nanocompósitos produzidas podem ser

consideradas uma evidência de que os nanocristais de celulose incorporados não sofreram degradação durante a obtenção das membranas.

### 4.2.3 Microscopia de força atômica (AFM)

Para avaliar as modificações na morfologia da matriz de Nafion causadas pela incorporação das diferentes nanoestruturas, as amostras foram analisadas por microscopia de força atômica (AFM), como pode ser observado na Figura 4.13. As superfícies observadas para as amostras de Nafion comercial (Figura 4.13a) e para o Nafion obtido pelo processo de evaporação de solvente (Figura 4.13b) apresentam uma superfície rugosa característica do Nafion, formada por agregados na forma de partículas nanométricas aproximadamente cilíndricas [140].

A fim de avaliar a distribuição dos nanocristais de celulose a longo da matriz polimérica foram obtidas imagens de AFM de ambos os lados das amostras (parte superior e inferior). Em ambas as amostras contendo CNCs comercial e enzimático, houve uma distribuição homogênea das nanopartículas, podendo se observar uma quantidade similar de nanopartículas tanto na parte superior quanto inferior das membranas.

Em relação a dispersão das nanopartículas, ficou evidente que as membranas preparadas a partir do CNC comercial apresentaram dispersão mais homogênea quando comparadas as membranas com CNC enzimático. A provável causa da variação na dispersão se deve a diferença de cargas na superfície das nanoestruturas devido aos distintos métodos de obtenção. Os nanocristais de celulose comerciais são produzidos através da hidrólise ácida utilizando ácido sulfúrico, processo que gera nanopartículas carregadas, o que facilita o processo de dispersão [68]. Segundo relatos da literatura, suspensões do CNC comercial (Maine) apresentam elevados valores de potencial Zeta  $\sim 70$  mV, sendo consideradas suspensões altamente estáveis [141,142]. Por outro lado, os CNCs obtidos por hidrólise enzimática são nanoestruturas com menores quantidades de cargas podendo ser consideradas moderadamente estáveis (potencial zeta entre  $\sim 25$  e 31 mV).

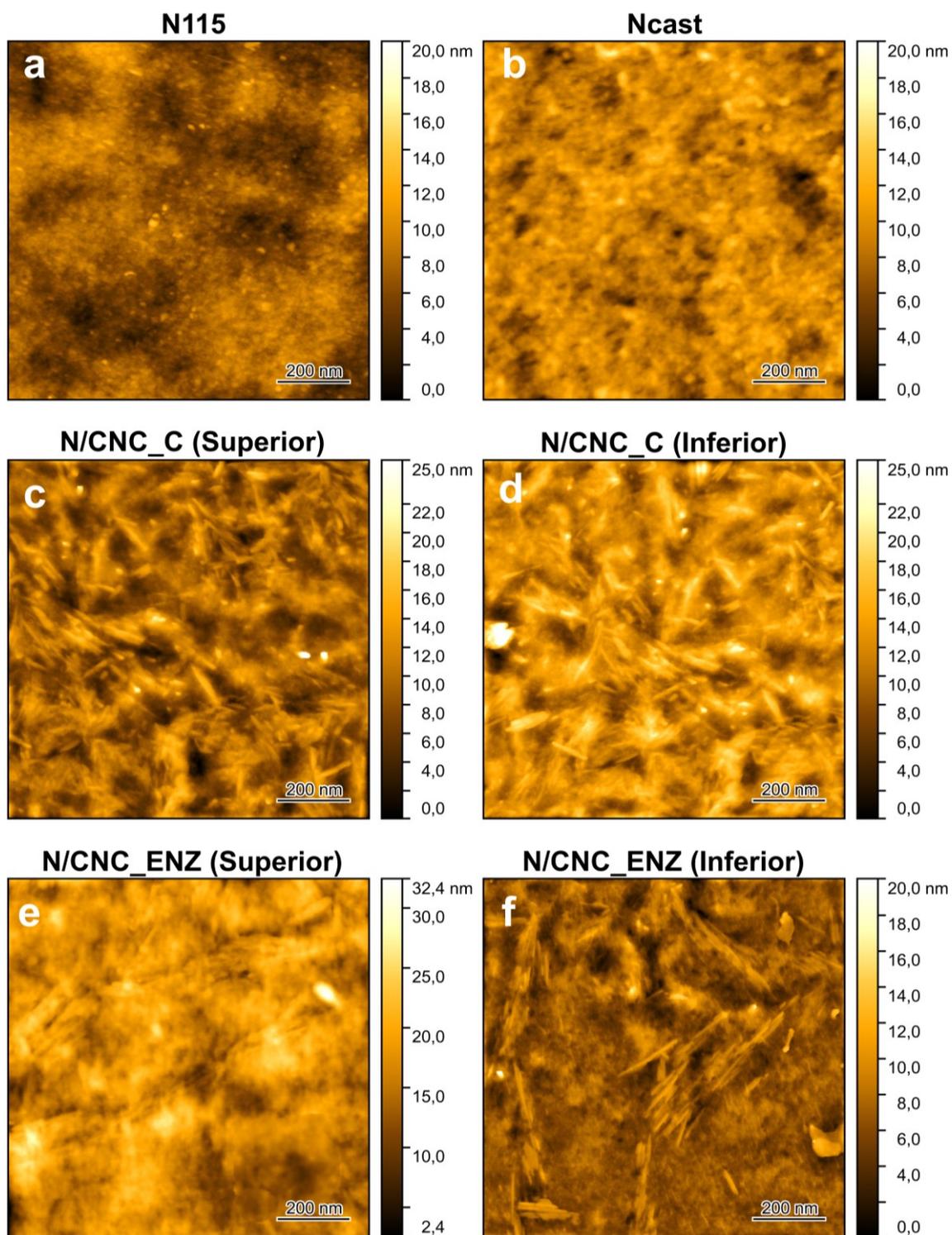


Figura 4.13 - Imagens obtidas por microscopia de força atômica (AFM) da superfície da (a) membrana de Nafion comercial (N115), (b) Nafion obtido por casting (Ncast), (c-d) nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e (e-f) nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ).

#### 4.2.4 Termogravimetria (TG/DTG)

A estabilidade térmica das membranas de Nafion com e sem nanocristais de celulose foram investigadas usando análise termogravimétrica e os resultados podem ser observados na Figura 4.14 e Tabela 4.7.

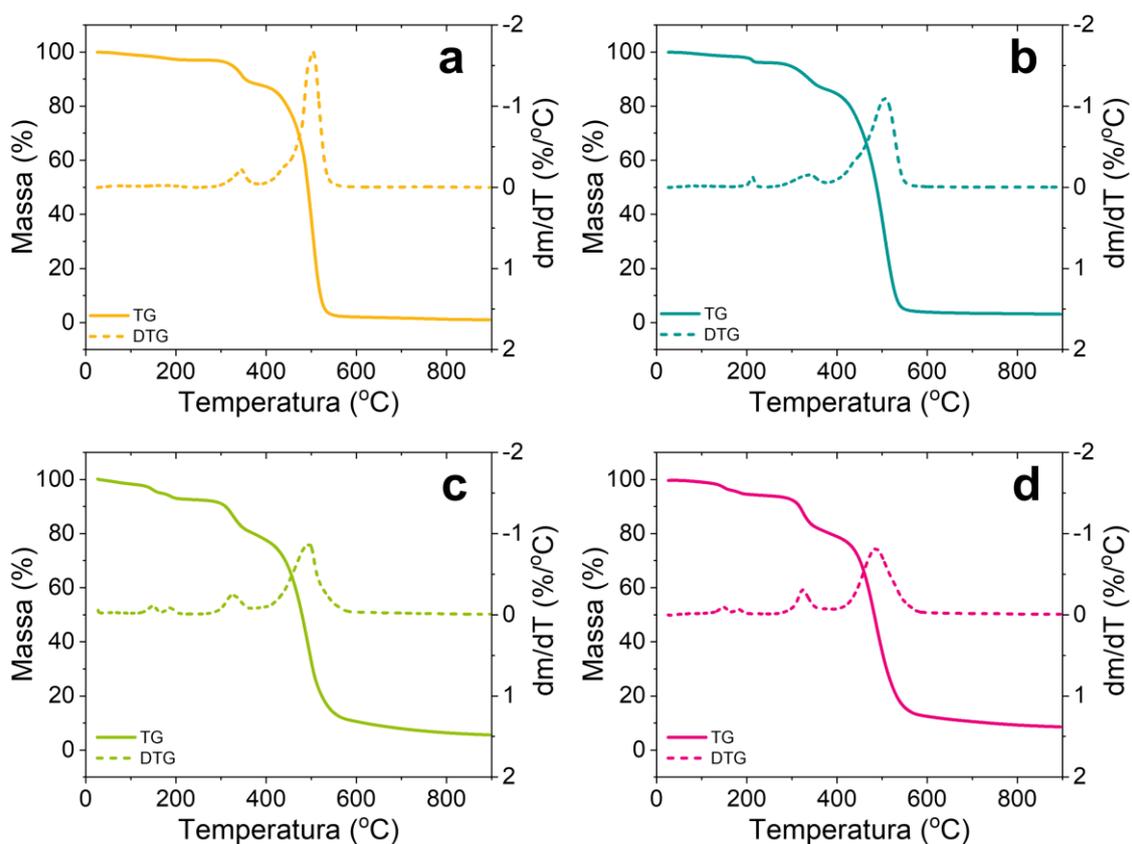


Figura 4.14 - Curvas de termogravimetria TG/DTG para (a) membrana de Nafion comercial (N115), (b) Nafion obtido por casting (Ncast), (c) nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e (d) nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ).

Tabela 4.7 – Dados obtidos por TG/DTG para as amostras de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ).

Amostra	Faixa de temperatura (°C)	T <sub>onset</sub> (°C)	T <sub>max</sub> (°C)	Perda de Massa (%)	Resíduo Estável a 900 °C (%)
N115	25 a 230	150,3	172,0	2,87	1,17
	230 a 370	321,5	344,7	8,49	
	370 a 600	471,5	503,9	86,49	
Ncast	25 a 230	204,8	210,8	3,79	0,65
	230 a 370	300,0	338,2	9,60	
	370 a 600	460,8	505,8	82,66	
N/CNC_C	25 a 170	135,0	149,8	5,55	3,04
	170 a 230	178,8	188,07	2,28	
	230 a 370	304,0	324,9	12,49	
	370 a 600	452,9	496,5	69,62	
N/CNC_ENZ	25 a 170	134,7	148,8	3,93	5,34
	170 a 230	174,0	183,0	1,74	
	230 a 370	306,1	323,7	13,20	
	370 a 600	451,1	485,0	68,55	

Como pode ser observado na Tabela 4.7 (a) tanto o Nafion comercial quanto o Nafion produzido por casting apresentaram três eventos de perda de massa típicos desse tipo de material. O primeiro evento de perda de massa se deve a evaporação de umidade e se estende até aproximadamente 230 °C, entre 230 e 370 °C ocorre o segundo evento atribuído a degradação dos grupos sulfônicos presentes na cadeias laterais [143], já a perda de massa observada entre 370 e 600 °C está associada a degradação da cadeia principal do Nafion [143].

Em relação as membranas produzidas com nanocristais de celulose Tabela 4.7 (c-d) o perfil de degradação térmica se apresentou semelhante para as duas amostras. Através da análise dos gráficos de DTG destas amostras é possível observar quatro eventos térmicos com temperaturas de decomposição máxima em aproximadamente 150, 185, 325 e 490 °C. Além da perda de umidade, os eventos térmicos que possuem as mais elevadas temperaturas de decomposição máxima (325 e 490 °C) ocorrem no mesmo intervalo que os eventos observados para o Nafion, sugerindo a mesma origem. Já os eventos observados com temperaturas de decomposição máxima em aproximadamente 185 °C podem ter origem devido a degradação dos nanocristais de celulose contidos nas amostras. Apesar dos CNCs tanto o comercial quanto os produzidos por hidrólise enzimática apresentarem temperaturas de início de degradação térmica acima de 200 °C [144] e 300 °C, respectivamente, existem estudos que apontam para um comprometimento da estabilidade térmica da celulose quando utilizada para a produção da nanocompósitos [28,30]. Segundo Noonan e colaboradores [29] os grupos sulfônicos presentes no Nafion são capazes de gerar um efeito catalítico que facilita a degradação térmica dos grupos hidroxila que compõe a celulose.

Apesar das membranas com CNCs apresentarem temperaturas de início de decomposição térmica abaixo das observadas para as membranas de Nafion puras, os nanocompósitos produzidos apresentaram estabilidade suficiente para serem utilizadas em células eletrolíticas com membrana trocadora de prótons uma vez que a temperatura de operação destes equipamentos é menor que 100 °C.

#### **4.2.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)**

A análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi utilizada para investigar o comportamento térmico das membranas de Nafion, puras e com CNCs. A Figura 4.15 apresenta as curvas de DSC do primeiro aquecimento para as membranas poliméricas.

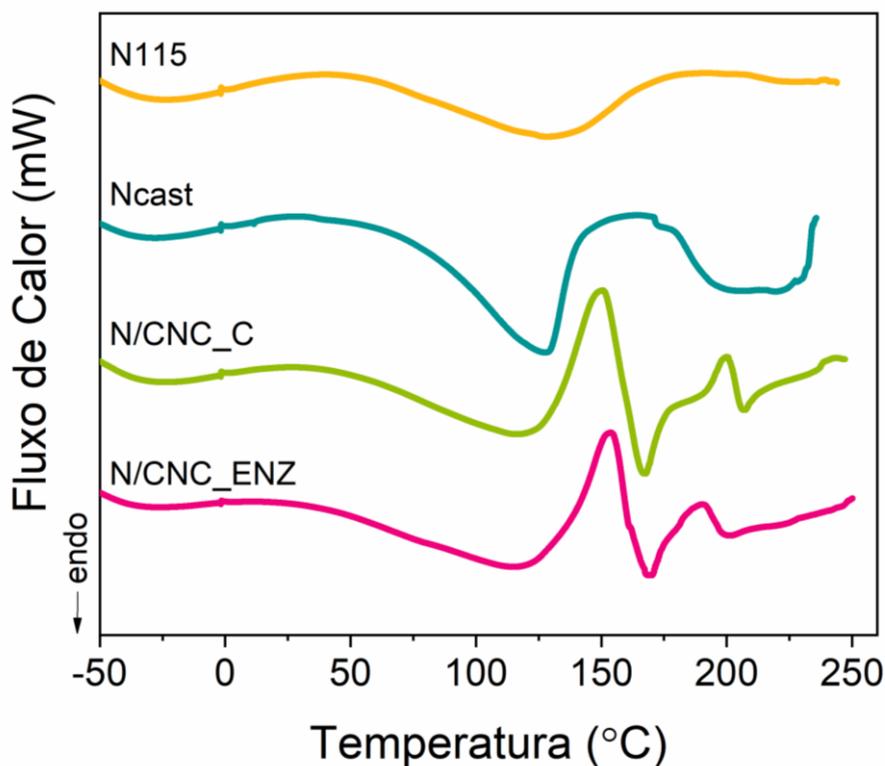


Figura 4.15 – Curvas de calorimetria diferencial de varredura das membranas de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ).

A curva DSC obtida para a Nafion comercial apresentou dois picos endotérmicos, sendo um em aproximadamente 130 °C e outro com característica mais alargada em aproximadamente 230 °C, resultados que concordam com o já reportado na literatura para este material [145,146]. O primeiro pico em aproximadamente 130 °C, pode ser atribuído à temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) dos grupos sulfônicos do Nafion [146] e o segundo pico, em torno de 230 °C, à fusão das regiões cristalinas [146].

A curva DSC da membrana de Nafion obtida por casting também apresentou os dois picos endotérmicos característicos do Nafion. A  $T_g$  para este material apresentou uma ligeira redução de aproximadamente 5 °C quando comparado ao Nafion comercial. Esta redução na  $T_g$  do Nafion obtido por casting quando comparado ao comercial já foi reportada na literatura [143]. Segundo Matos e colaboradores [143] membranas de Nafion obtidas por casting podem

apresentar uma menor cristalinidade quando comparada com a membrana comercial produzida por extrusão. Essa redução na cristalinidade facilita a mobilidade das cadeias poliméricas reduzindo assim a temperatura de transição vítrea.

Nas membranas com CNCs, a adição de ambas os tipos de nanopartículas provocaram uma sobreposição de eventos térmicos que podem ser relacionados tanto a fusão da matriz de Nafion quando a degradação térmica dos CNCs, conforme já observado na análise de TGA (Figura 4.14).

#### **4.2.6 Análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA)**

A análise térmica dinâmico-mecânica (DMTA) foi realizada para avaliar as propriedades viscoelásticas das membranas produzidas com e sem CNCs, os resultados podem ser observados na Figura 4.16.

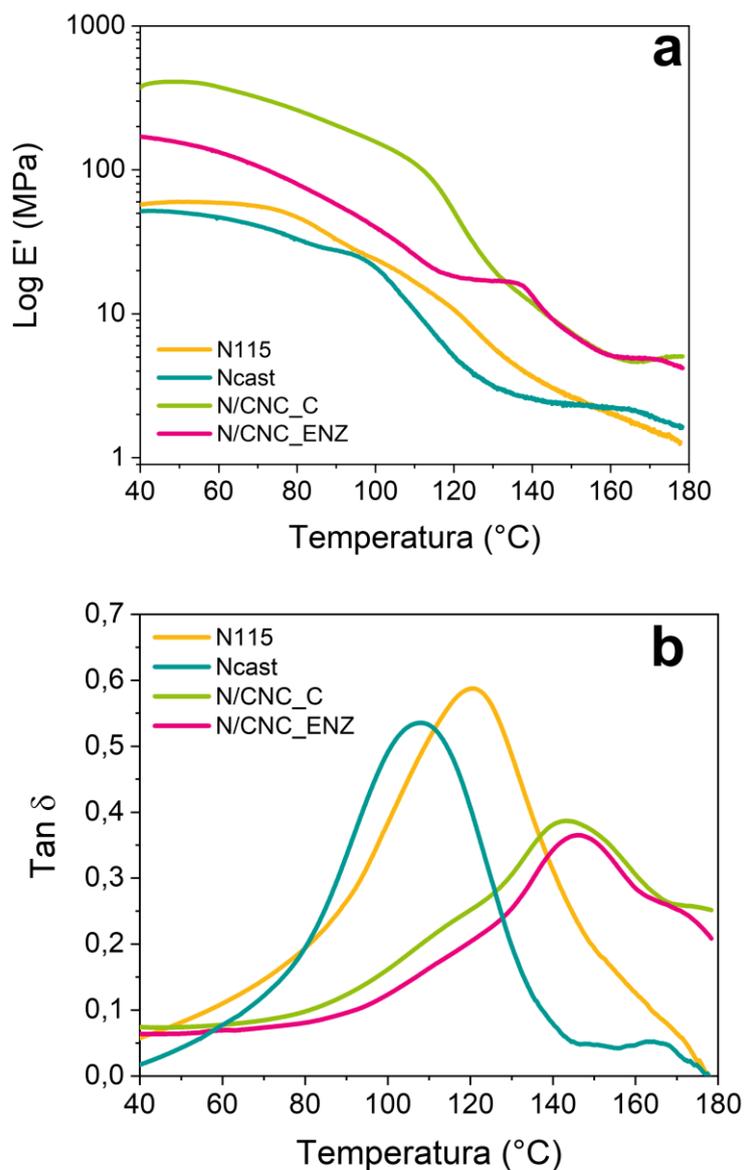


Figura 4.16 – Análise térmica dinâmico-mecânica (a) módulo de armazenamento e (b) fator de amortecimento em função da temperatura das membranas de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ).

Para a membrana de Nafion comercial o módulo de armazenamento ( $E'$ ) diminui com o aumento da temperatura e entre ~90 e ~140 °C esta redução de  $E'$  se torna mais acentuada. A transição associada apresenta um máximo na curva de  $\text{tan } \delta$  em ~120°C e representa a transição vítrea do material [147].

A membrana de Nafion produzida por conformação apresentou um comportamento viscoelástico similar à membrana comercial. Para este material a curva de  $\tan\delta$  apresentou um máximo em aproximadamente 110 °C, evidenciando uma redução na  $T_g$  do material quando comparado a membrana comercial, resultado que concorda com o já observado através dos resultados da análise de DSC.

O módulo de armazenamento para as membranas produzidas com CNC se apresentou superior ao observado para as membranas puras em toda a faixa de temperaturas analisadas. Este resultado confirma o papel dos CNCs na redução da deformação da membrana durante o aquecimento. Além disso, o aumento do módulo de armazenamento se apresentou mais evidente para a membrana produzida com CNC comercial, essa diferença provavelmente se deve a maior dispersão dos CNCs na matriz de Nafion, conforme já observado através das análises de AFM (Figura 4.13). Na curva  $\tan\delta$  é possível observar uma sobreposição de picos entre ~80 e ~180 °C, essa sobreposição de eventos pode ser correlacionada tanto a transição vítrea do Nafion quanto ao processo de perda de massa já observada para a mesma faixa de temperatura através de análise termogravimétrica (Figura 4.14). Além disso, esse deslocamento do pico para temperaturas mais elevadas pode estar relacionado com a restrição do movimento das cadeias do Nafion causadas pela inserção dos CNCs, fator que também gera um aumento na temperatura de transição vítrea do material.

#### **4.2.7 Ensaio de Mecânico de tração**

Propriedades mecânicas das amostras foram investigadas através de ensaios de tração. As curvas tensão-deformação que melhor representam o comportamento dos materiais são ilustradas na Figura 4.17, e os resultados calculados através da análise dos ensaios em replicatas de cada material são apresentados na Tabela 4.8.

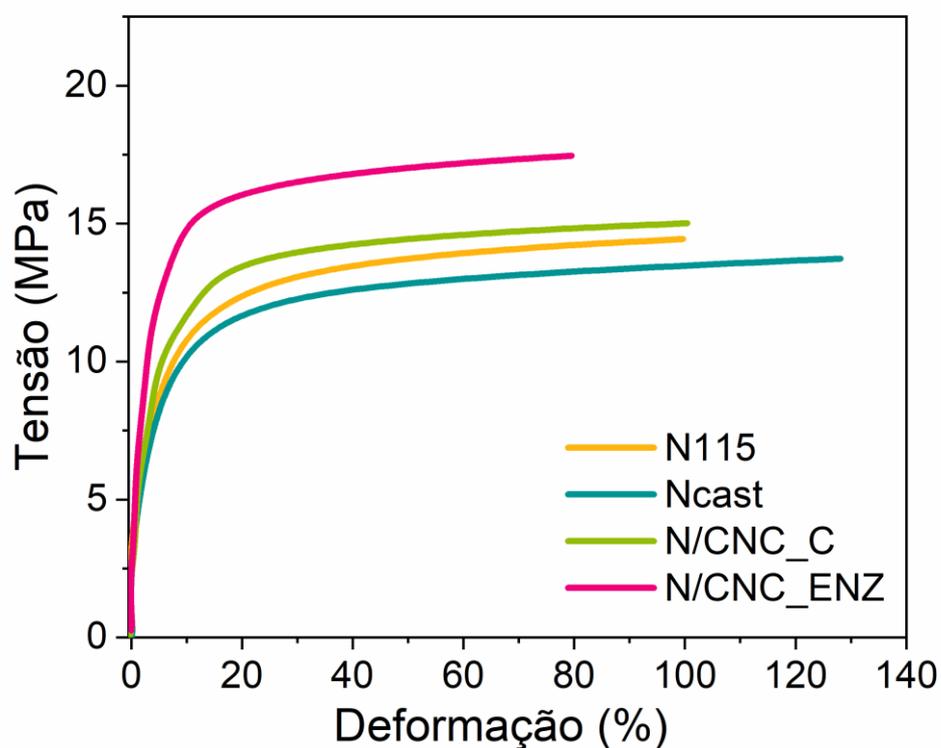


Figura 4.17 - Curvas representativas de tensão em função da deformação das membranas com e sem nanocristais de celulose.

Tabela 4.8 - Propriedades mecânicas de engenharia das membranas com e sem nanocristais de celulose.

Amostra	Propriedades mecânicas		
	Módulo elástico (MPa)	Tensão máxima (MPa)	Deformação (%)
N115	245,6 ± 8,5	14,3 ± 0,5	100,4 ± 9,0
Ncast	149,3 ± 4,9	13,9 ± 0,3	124,3 ± 8,8
N/CNC_C	272,9 ± 8,1	15,9 ± 0,8	98,3 ± 4,1
N/CNC_ENZ	403,3 ± 9,0	16,5 ± 0,7	78,9 ± 5,0

A partir das curvas tensão-deformação (Figura 4.17) é possível notar que o Nafion obtido por casting apresentou um comportamento mais dúctil, representado pelo maior nível de deformação, enquanto Nafion comercial apresentou um comportamento ligeiramente mais frágil, representado pela maior resistência mecânica. A incorporação dos CNCs na matriz de Nafion provocou um decréscimo no nível de deformação e um ganho de tensão associada, alterando dessa forma o comportamento mecânico do polímero.

Estes resultados corroboram com aqueles já reportados nos estudos de Noonan e colaboradores [29]. Os autores também utilizaram nanopartículas de celulose (nanofibrilas) para produzir nanocompósitos de matriz Nafion a partir de conformação por evaporação de solvente. O resultado desse estudo também demonstrou que a incorporação desse tipo de nanopartícula no Nafion gera um aumento da tensão máxima, porém uma menor deformação do material.

Os valores médios do módulo elástico, tensão máxima e deformação para as amostras de Nafion com e sem CNC são apresentados na Tabela 4.8. Estes resultados mostram que a amostra preparada com CNC enzimático apresentou o maior módulo elástico. No entanto, nessa amostra também foi observado a menor deformação na ruptura. Esse resultado pode estar associado a formação de aglomerados, como já observado por imagens de AFM (Figura 4.13). Os aglomerados de CNCs atuaram como pontos de concentração de tensão que aceleraram a falha e resultaram em menor resistência à tração dos nanocompósitos [148].

#### **4.2.8 Capacidade de absorção de água**

A capacidade de hidratação das membranas é outro parâmetro importante a ser investigado, pois influencia na condutividade protônica da membrana, fator essencial para sua aplicação em células eletrolíticas com membrana trocadora de prótons (PEMECs). A condutividade protônica da membrana pode ser aumentada pelo aumento da umidificação [149]. A capacidade de absorção de água foi medida para todas as membranas estudadas e os resultados são apresentados na Tabela 4.9.

Tabela 4.9 - Capacidade de absorção de água nas membranas de Nafion comercial (N115), Nafion obtido por casting (Ncast), nanocompósito de Nafion com CNC comercial (N/CNC\_C) e nanocompósito de Nafion com CNC obtido pela hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar (N/CNC\_ENZ).

Amostra	Absorção de água (% em massa)
N115	35,5 ± 0,5
Ncast	47,7 ± 0,5
N/CNC_C	54,6 ± 0,1
N/CNC_ENZ	58,2 ± 0,1

Os dados experimentais referentes a capacidade de absorção de água observados para a membrana comercial Nafion 115 são semelhantes àqueles encontrados em artigos e nas especificações do fabricante [143,150]. Já a capacidade de absorção de água da membrana obtida por casting se apresentou maior que a observada para a membrana comercial. Essa variação na capacidade de umidificação pode ser associada a diferença de cristalinidade das membranas. As regiões cristalinas limitam a expansão das cadeias poliméricas e garantem a estabilidade mecânica do material. Assim, para o grupo sulfônico expandir e absorver água, a expansão deve superar a energia elástica das cadeias poliméricas, sendo essa energia maior quando o material possui maior cristalinidade [90]. A membrana obtida por conformação apresenta uma menor cristalinidade quando comparada com a comercial obtida por um processo de extrusão. Dessa forma, uma menor cristalinidade da cadeia confere ao polímero uma menor resistência a sua expansão, fator que aumenta a capacidade de absorção de água da membrana.

A inserção dos CNCs (comercial ou enzimático) na matriz de Nafion conferiu as membranas um aumento significativo na capacidade de umidificação quando comparadas com a membrana 100% Nafion também obtida por conformação. Esse comportamento pode ser explicado pela presença de grupos

hidroxila na superfície dos nanocristais de celulose, o que garante a esse material uma elevada capacidade de absorção de água [151]. Ainda, um aumento mais evidenciado na capacidade de absorção de água pode ser observado para as membranas produzidas com CNC enzimático. Esse aumento dessa propriedade pode ser devido ao processo de obtenção dos nanocristais. Com o já citado, o CNC enzimático, ao contrário do CNC comercial, é produzido através da hidrólise sem a utilização de ácidos fortes, como por exemplo o ácido sulfúrico, o que promove a extração de nanopartículas com uma superfície predominantemente composta por hidroxilas [152].

Na literatura existem relatos do aumento da capacidade de absorção de água com a incorporação de nanocelulose em matrizes de Nafion [30,149]. No trabalho de Jiang e colaboradores [30], onde foram produzidas membranas de Nafion através da técnica de conformação por evaporação de solvente, foi observada uma aumento na capacidade de absorver água com o incorporação da nanocelulose na matriz de Nafion (entre 10 e 50% (m/m)).

#### **4.2.9 Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE)**

A análise da condutividade elétrica (iônica) das amostras foi realizada por meio de medidas de espectroscopia de impedância utilizando as membranas secas e umedecidas. A Figura 4.18 apresenta os diagramas de espectroscopia de impedância para as amostras (a) úmidas e (b) secas. A partir dos dados experimentais, foi possível a determinação da condutividade das membranas, os valores obtidos são apresentados na Tabela 4.10.

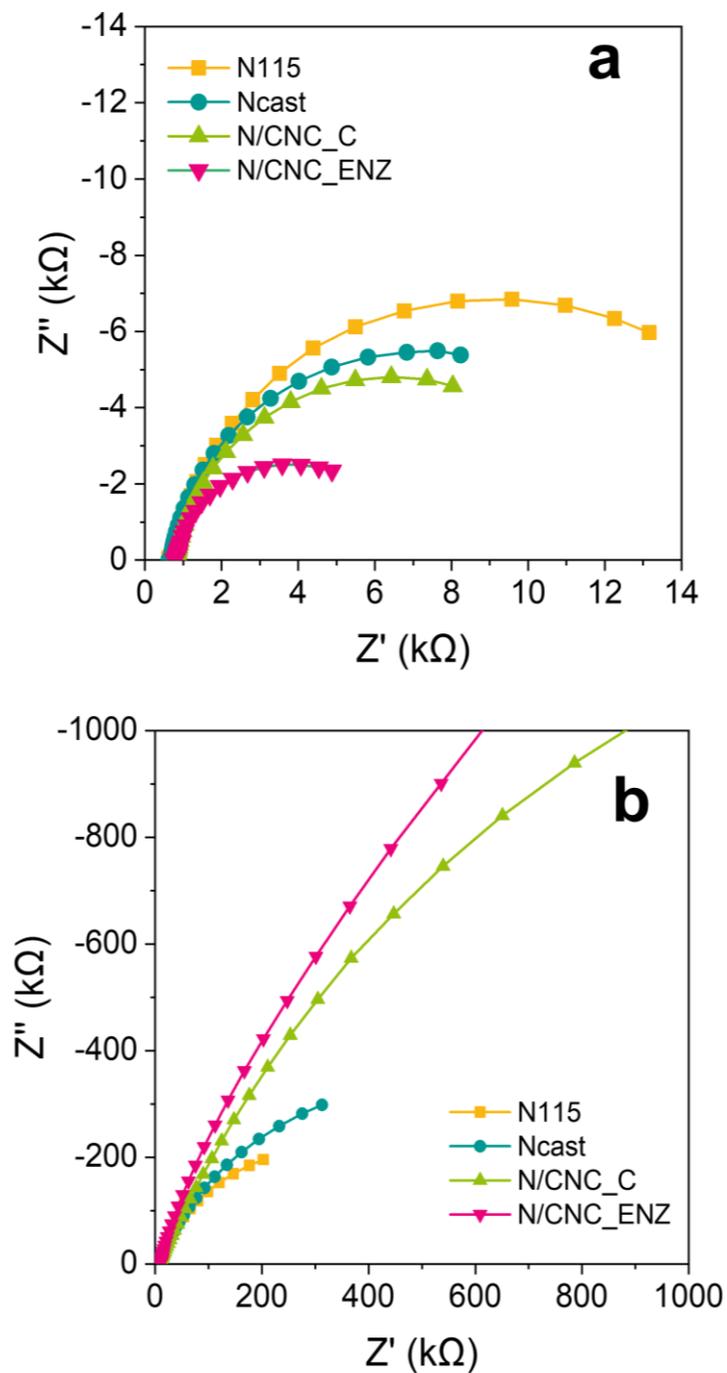


Figura 4.18 - Gráficos de Nyquist obtidos por espectroscopia de impedância eletroquímica a 200 mV obtidos a partir das membranas (a) úmidas e (b) secas.

Tabela 4.10 – Condutividade protônica estimada a partir dos gráficos de Nyquist das membranas úmidas e secas.

Amostra	Condutividade $\sigma$ (mS.cm <sup>-1</sup> )
N115 (seca)	0,7
Ncast (seca)	0,4
N/CNC_C (seca)	0,2
N/CNC_ENZ (seca)	0,1
N115 (úmida)	27,1
Ncast (úmida)	28,0
N/CNC_C (úmida)	33,7
N/CNC_ENZ (úmida)	47,3

Com as membranas secas é possível observar que os CNCs adicionados acarretaram na redução da condutividade das membranas. As nanoceluloses (como CNCs e CNFs) em baixas umidades apresentam condutividade muito baixa ( $\sim 1 \times 10^{-4}$  mS.cm<sup>-1</sup>), principalmente quando comparadas a condutividade do Nafion [27]. Desta forma, os CNCs adicionadas ao Nafion em baixas umidades podem ser consideradas isolantes. Causando assim uma redução da condutividade elétrica do eletrólito pela fração volumétrica ocupada por partículas isolantes.

O objetivo deste trabalho é utilizar as membranas produzidas como membranas trocadoras de prótons em células de eletrólise da água. Durante o processo de eletrólise, as membranas são mantidas em contato com a água, por esse motivo é importante analisar o comportamento das mesmas no estado umedecido. Através da comparação dos ensaios realizados com as membranas úmidas e secas foi possível observar que a condutividade de todas as amostras é aumentada com o entumescimento do material. Esse é um comportamento

típico para polímeros condutores de prótons como o Nafion, onde a água atua como meio para o transporte de cargas [27].

Os valores de condutividade obtidos para o Nafion comercial úmido, estão de acordo com os valores relatados para este eletrólito polimérico em condições similares [27]. A membrana Ncast úmida apresentou condutividade superior à do Nafion comercial. Esta diferença pode ser explicada pelo fato de o Ncast apresentar maior capacidade de absorção de água. A maior umidificação das membranas produzidas por conformação diminui o caminho livre médio para a condução protônica, aumentando assim a condutividade do material [90].

Os dados apresentados na Tabela 4.10 mostram que a condutividade das amostras úmidas aumenta com a adição dos CNCs. Para os nanocompósitos formados a partir da adição de CNC comercial esse aumento é de  $\sim 6 \text{ mS.cm}^{-1}$ . Os nanocompósitos formados com CNC enzimático esse aumento é ainda mais evidenciado chegando a um acréscimo de  $\sim 20 \text{ mS.cm}^{-1}$ . Esse aumento mais expressivo para as amostras produzidas CNC enzimático pode ser ocasionado pela maior capacidade de absorver água dessas membranas como pode ser observado na Tabela 4.9.

Aumento na condutividade do Nafion pela inserção de nanocristais de celulose também foi reportado no trabalho de Hasani-Sadrabadi e colaboradores [31]. Neste estudo foram produzidas membranas de Nafion com 5% (m/m) de CNC através da técnica de conformação e observou-se um aumento na condutividade protônica em todo intervalo de temperaturas entre 25 e 120 °C. Segundo os autores os CNCs atuam conectando os domínios hidrofílicos do Nafion (Clusters), aumentando assim o número de canais disponíveis para o transporte de prótons.

#### **4.2.10 Teste em célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC)**

As membranas produzidas e a membrana comercial foram testadas em uma célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC). Para a

realização dos testes pelo menos três amostras de cada membranas foram recobertas com cargas padronizas: 2,1 mg cm<sup>-2</sup> de irídio no lado anódico e 0,8 mg cm<sup>-2</sup> de platina no lado catódico. Os testes foram realizados em todas as amostras utilizando os mesmos parâmetros.

A Figura 4.19 apresenta os perfis de corrente *versus* voltagem (curvas de polarização) obtidos durante os testes das membranas em célula eletrolítica. Os valores dos potenciais (V) apresentados pela célula eletrolítica durante a aplicação de determinadas densidades de correntes em cada membrana podem ser observados na Tabela 4.11.

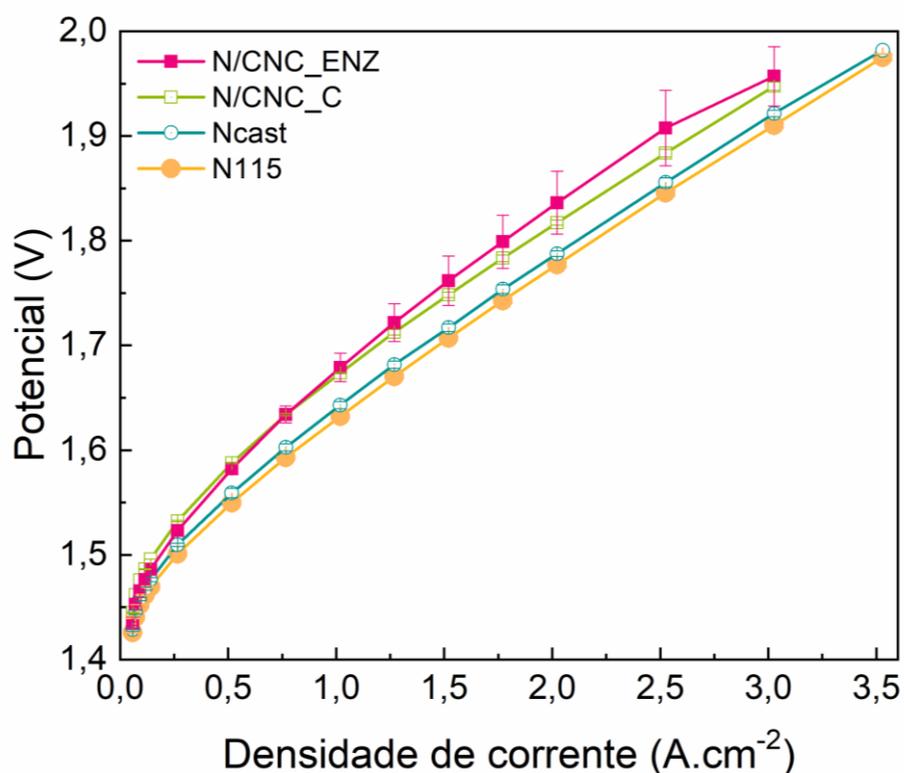


Figura 4.19 – Curva de polarização da célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons.

Tabela 4.11 – Potenciais apresentados pela célula eletrolítica durante a aplicação de diferentes densidades de correntes.

Membrana	Potencial da célula a $1 \text{ A}\cdot\text{cm}^{-2}$ (V)	Potencial da célula a $2 \text{ A}\cdot\text{cm}^{-2}$ (V)
N115	$1,63 \pm 0,00$	$1,78 \pm 0,00$
Ncast	$1,64 \pm 0,00$	$1,79 \pm 0,00$
N/CNC_C	$1,67 \pm 0,00$	$1,81 \pm 0,00$
N/CNC_ENZ	$1,68 \pm 0,01$	$1,84 \pm 0,03$

As curvas de polarização apresentadas para todas as amostras apresentam as duas regiões típicas de curvas de polarização de uma eletrólise PEM. Em baixas densidades de corrente, o potencial da célula sobe acentuadamente como resultado da polarização de ativação. Em densidades de corrente mais elevadas, o potencial da célula sobe linearmente com a corrente como resultado de queda ôhmica (resistência da célula) [80].

As membranas produzidas por conformação contendo 100% Nafion apresentaram ligeira queda de performance quando comparada a do Nafion comercial. Como pode ser observado na Tabela 4.11, com a aplicação de uma densidade de corrente de  $1 \text{ A}\cdot\text{cm}^{-2}$ , foi verificada uma queda de performance de  $\sim 10\text{mV}$ . A mesma queda de performance também foi verificada para densidades de correntes mais elevadas.

Uma redução na performance foi observada para as membranas contendo CNC. Para a membrana com CNC comercial durante a aplicação de uma densidade de corrente de  $1 \text{ A}\cdot\text{cm}^{-2}$ , foi verificada uma queda de performance de  $\sim 40\text{mV}$  em relação a membrana comercial. A membrana contendo CNC enzimático também promoveu uma queda de performance quando comparada a membrana comercial. Contudo devido aos maiores desvios observados entre as replicatas dos ensaios dessas amostras não é possível afirmar que a membrana com CNC enzimático possui desempenho distinto daquela com CNC comercial.

De acordo com os ensaios de espectroscopia de impedância eletroquímica (Tabela 4.10) já foi possível observar que a adição dos CNCs na

matriz de Nafion auxilia no aumento da condutividade do material, fato que deveria contribuir para o aumento da performance das membranas. Dessa forma, uma possível explicação para a queda de performance desse material seria uma menor adesão das camadas catalíticas (anodo e catodo) a membrana. Como pode ser observado nas imagens de AFM (Figura 4.13), as membranas produzidas com CNC apresentaram uma maior rugosidade em ambos os lados das membranas. Esses relevos nas superfícies das membranas são capazes de diminuir o contato com o catalizador durante sua deposição reduzindo a adesão entre as partes.

Apesar do desempenho ligeiramente inferior das membranas contendo CNC, os resultados observados aqui comprovam a possibilidade de aplicação dessas membranas nanocompósitas em célula eletrolítica com membrana trocadora de prótons (PEMEC).

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que CNCs podem ser efetivamente extraídos das biomassas lignocelulósicas da cana-de-açúcar (bagaço e palha), usando a rota enzimática. Esses resultados revelaram uma rota alternativa mais ambientalmente correta para a produção de CNCs, que poderia ser explorada a fim de agregar valor aos resíduos de biomassa lignocelulósica agroindustrial.

Os rendimentos e propriedades dos CNCs variaram de acordo com o tempo de reação de hidrólise, indicando que esta variável pode ser modulada para se obter um nanomaterial com maior cristalinidade e distribuição de tamanhos mais homogênea. Por outro lado, a estabilidade térmica do CNC sofreu pequenas variações com o tempo de hidrólise enzimática, apresentando valores de *Tonset* de aproximadamente 310 °C para as diferentes amostras. Portanto, as condições de hidrólise enzimática utilizadas resultaram em nanocelulose com alta cristalinidade e estabilidade térmica, parâmetros importantes para utilização desse material em diversas aplicações, inclusive como reforço em nanocompósitos.

Dentre os protocolos para a produção de CNC via hidrólise enzimática estudados, a rota de produção que se mostrou mais promissora foi a com duração de 72h em fibras tratadas de palha de cana-de-açúcar. Este protocolo apresentou maior equilíbrio de propriedades em relação a razão de aspecto, índice de cristalinidade e estabilidade térmica.

Foram produzidas membranas nanocompósitas baseadas em CNC, tanto enzimático quanto comercial. A técnica de conformação por evaporação de solvente adotada foi capaz de produzir membranas contendo CNC distribuídos ao longo de todo material. No entanto, devido à ausência de cargas no CNC enzimático, nesse material foi possível observar a formação de aglomerados de nanopartículas.

Apesar das membranas com CNCs apresentarem menor estabilidade térmica quando comparadas as observadas para as membranas de Nafion puras, os nanocompósitos produzidos apresentaram estabilidade suficiente para serem utilizadas em PEMEC, uma vez que a temperatura de operação destes equipamentos é menor que 100 °C.

Através da técnica de DMTA foi possível observar que apesar da redução na temperatura de transição vítrea causada pelo uso da técnica de casting, a incorporação dos CNCs ao nafion causaram um aumento na temperatura de transição vítrea. Além disso, as amostras contendo CNCs apresentaram aumento no do módulo e na tensão máxima, porém uma menor deformação do material.

A inserção dos CNCs na matriz de Nafion conferiu as membranas um aumento significativo na capacidade de umidificação quando comparadas com a membrana 100% Nafion também obtida por conformação. Além disso, foi observado um aumento na condutividade protônica com a inserção dos CNCs.

Apesar do aumento da condutividade, a performance das membranas nanocompósitas quando testadas em uma PEMEC foi ligeiramente inferior as membranas comerciais. Um motivo para esse resultado pode estar atrelado ao aumento da rugosidade da superfície das membranas compósitas. A menor uniformidade da superfície das membranas pode dificultar a fixação dos catalizadores durante o processo de deposição, o que ocasiona queda de performance.

## 6 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

- Realizar análises tecno-econômicas e de ciclo de vida de diferentes processos de obtenção de nanocelulose, desde o pré-tratamento do material lignocelulósico até a extração final visando a redução de custo e aumento da sustentabilidade do processo.
- Desenvolver metodologias para a funcionalização dos CNCs com o intuito de aumentar a dispersão dos mesmo em matrizes poliméricas.
- Estudar outras rotas para a incorporação de CNC na matriz de Nafion para a produção de membranas, como por exemplo através da técnica de *spray deposition*.
- Avaliar as propriedades de membranas de Nafion produzidas com diferentes concentrações de CNC, incluindo ainda a possibilidade de produção de membranas 100% CNC.
- Buscar metodologias alternativas para a produção de membranas revestidas com catalisador (CCM) visando melhorar a aderência entre membranas compósitas de Nafion/CNC e os eletrocatalisadores.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Siqueira, G., Frascini, C., Bras, J., Dufresne, A., Prud'Homme, R. and Laborie, M.P. (2011) Impact of the nature and shape of cellulosic nanoparticles on the isothermal crystallization kinetics of poly(-caprolactone). *European Polymer Journal*, Elsevier Ltd. **47**, 2216–27. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2011.09.014>
- [2] Siqueira, G., Abdillahi, H., Bras, J. and Dufresne, A. (2010) High reinforcing capability cellulose nanocrystals extracted from *Syngonanthus nitens* (Capim Dourado). *Cellulose*, **17**, 289–98. <https://doi.org/10.1007/s10570-009-9384-z>
- [3] Oliveira, F.B. de, Bras, J., Pimenta, M.T.B., Curvelo, A.A. da S. and Belgacem, M.N. (2016) Production of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse fibers and pith. *Industrial Crops and Products*, Elsevier B.V. **93**, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.064>
- [4] FAOSTAT. (2011) Top Production - Sugar Cane [Internet]. Food Agric. Organ. United Nations.
- [5] Camargo, L.A., Pereira, S.C., Correa, A.C., Farinas, C.S., Marconcini, J.M. and Mattoso, L.H.C. (2016) Feasibility of Manufacturing Cellulose Nanocrystals from the Solid Residues of Second-Generation Ethanol Production from Sugarcane Bagasse. *Bioenergy Research*, BioEnergy Research. **9**, 894–906. <https://doi.org/10.1007/s12155-016-9744-0>
- [6] Bondancia, T.J., De Aguiar, J., Batista, G., Cruz, A.J.G., Marconcini, J.M., Mattoso, L.H.C. et al. (2020) Production of Nanocellulose Using Citric Acid in a Biorefinery Concept: Effect of the Hydrolysis Reaction Time and Techno-Economic Analysis. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, **59**, 11505–16. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c01359>
- [7] Bondancia, T.J., Batista, G., Aguiar, J. De, Lorevice, M. V, Cruz, A.J.G., Marconcini, J.M. et al. (2022) Cellulose Nanocrystals from Sugar Cane Bagasse Using Organic and/ or Inorganic Acids: Techno-Economic

- Analysis and Life Cycle Assessment.  
<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.2c00061>
- [8] Vanderfleet, O.M. and Cranston, E.D. Production routes to tailor the. *Nature Reviews Materials*, Springer US. <https://doi.org/10.1038/s41578-020-00239-y>
- [9] Squinca, P., Bilatto, S., Badino, A.C. and Farinas, C.S. (2020) Nanocellulose Production in Future Biorefineries: An Integrated Approach Using Tailor-Made Enzymes. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06790>
- [10] Ximenes, E., Resources, R. and Carlos, S. (2021) biomass into high-value products: Outcomes from a long-term. 563–73. <https://doi.org/10.1002/bbb.2179>
- [11] Menandro, L.M.S., Cantarella, H., Franco, H.C.J., Kölln, O.T., Pimenta, M.T.B., Sanches, G.M. et al. (2017) Comprehensive assessment of sugarcane straw: implications for biomass and bioenergy production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, **11**, 488–504. <https://doi.org/10.1002/bbb.1760>
- [12] De Carvalho, D.M., Colodette, J.L., Perez, A., García, J.C., López, F. and Diaz, M.J. (2014) Ethanol-soda pulping of sugarcane bagasse and straw. *Cellulose Chemistry and Technology*, **48**, 355–64.
- [13] El Miri, N., Abdelouahdi, K., Barakat, A., Zahouily, M., Fihri, A., Solhy, A. et al. (2015) Bio-nanocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals: Rheology of film-forming solutions, transparency, water vapor barrier and tensile properties of films. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **129**, 156–67. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.051>
- [14] El Achaby, M., El Miri, N., Aboukas, A., Zahouily, M., Bilal, E., Barakat, A. et al. (2017) Processing and properties of eco-friendly bio-nanocomposite films filled with cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse. *International Journal of Biological Macromolecules*, Elsevier B.V. **96**, 340–

52. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.040>
- [15] Teixeira, E. de M., Bondancia, T.J., Teodoro, K.B.R., Corrêa, A.C., Marconcini, J.M. and Mattoso, L.H.C. (2011) Sugarcane bagasse whiskers: Extraction and characterizations. *Industrial Crops and Products*, Elsevier B.V. **33**, 63–6. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.08.009>
- [16] Leão, R.M., Miléo, P.C., Maia, J.M.L.L. and Luz, S.M. (2017) Environmental and technical feasibility of cellulose nanocrystal manufacturing from sugarcane bagasse. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **175**, 518–29. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.07.087>
- [17] Mandal, A. and Chakrabarty, D. (2014) Studies on the mechanical, thermal, morphological and barrier properties of nanocomposites based on poly(vinyl alcohol) and nanocellulose from sugarcane bagasse. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry. **20**, 462–73. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.05.003>
- [18] Lam, N.T., Chollakup, R., Smitthipong, W., Nimchua, T. and Sukyai, P. (2017) Utilizing cellulose from sugarcane bagasse mixed with poly(vinyl alcohol) for tissue engineering scaffold fabrication. *Industrial Crops and Products*, Elsevier B.V. **100**, 183–97. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.02.031>
- [19] Slavutsky, A.M. and Bertuzzi, M.A. (2014) Water barrier properties of starch films reinforced with cellulose nanocrystals obtained from sugarcane bagasse. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **110**, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.049>
- [20] Ghaderi, M., Mousavi, M., Yousefi, H. and Labbafi, M. (2014) All-cellulose nanocomposite film made from bagasse cellulose nanofibers for food packaging application. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **104**, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.013>
- [21] Li, J., Wang, Y., Wei, X., Wang, F., Han, D., Wang, Q. et al. (2014)

- Homogeneous isolation of nanocelluloses by controlling the shearing force and pressure in microenvironment. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **113**, 388–93. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.06.085>
- [22] Teixeira, R.S.S., Da Silva, A.S.A., Jang, J.H., Kim, H.W., Ishikawa, K., Endo, T. et al. (2015) Combining biomass wet disk milling and endoglucanase/ $\beta$ -glucosidase hydrolysis for the production of cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **128**, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.087>
- [23] Campos, A. De, Carolina, A., David, C. and Eliangela, C. (2013) ' and sugarcane bagasse Obtaining nanofibers from curaua fibers using enzymatic hydrolysis followed by sonication. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-9909-3>
- [24] Santucci, B.S., Bras, J., Belgacem, M.N., Curvelo, A.A. da S. and Pimenta, M.T.B. (2016) Evaluation of the effects of chemical composition and refining treatments on the properties of nanofibrillated cellulose films from sugarcane bagasse. *Industrial Crops and Products*, Elsevier B.V. **91**, 238–48. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.017>
- [25] Oksman, K., Aitomäki, Y., Mathew, A.P., Siqueira, G., Zhou, Q., Butylina, S. et al. (2016) Review of the recent developments in cellulose nanocomposite processing. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, Elsevier Ltd. **83**, 2–18. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2015.10.041>
- [26] Abdul Khalil, H.P.S., Davoudpour, Y., Islam, M.N., Mustapha, A., Sudesh, K., Dungani, R. et al. (2014) Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **99**, 649–65. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.069>
- [27] Bayer, T., Cuning, B. V., Selyanchyn, R., Nishihara, M., Fujikawa, S., Sasaki, K. et al. (2016) High temperature proton conduction in

- nanocellulose membranes: Paper fuel cells. *Chemistry of Materials*, **28**, 4805–14. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.6b01990>
- [28] Gadim, T.D.O., Vilela, C., Loureiro, F.J.A., Silvestre, A.J.D., Freire, C.S.R. and Figueiredo, F.M.L. (2016) Nafion® and nanocellulose: A partnership for greener polymer electrolyte membranes. *Industrial Crops and Products*, Elsevier B.V. **93**, 212–8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.028>
- [29] Noonan, C., Tajvidi, M., Tayeb, A.H., Shahinpoor, M. and Tabatabaie, S.E. (2019) Structure-property relationships in hybrid cellulose nanofibrils/nafion-based ionic polymer-metal composites. *Materials*, **12**, 7–9. <https://doi.org/10.3390/ma12081269>
- [30] Jiang, G.P., Zhang, J., Qiao, J.L., Jiang, Y.M., Zarrin, H., Chen, Z. et al. (2015) Bacterial nanocellulose/Nafion composite membranes for low temperature polymer electrolyte fuel cells. *Journal of Power Sources*, Elsevier B.V. **273**, 697–706. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.09.145>
- [31] Hasani-Sadrabadi, M.M., Dashtimoghadam, E., Nasser, R., Karkhaneh, A., Majedi, F.S., Mokarram, N. et al. (2014) Cellulose nanowhiskers to regulate the microstructure of perfluorosulfonate ionomers for high-performance fuel cells. *Journal of Materials Chemistry A*, **2**, 11334–40. <https://doi.org/10.1039/c4ta00635f>
- [32] Larminie, J. and Dicks, A. (2003) *Fuel Cell Systems Explained*. Wiley, Chichester.
- [33] Bagotsky, V.S. (2012) *Fuel cells: problems and solutions*. WILEY. John Wiley & Sons, New Jersey. <https://doi.org/10.1002/9780470432204>
- [34] Yee, R.S.L., Rozendal, R.A., Zhang, K. and Ladewig, B.P. (2012) Cost effective cation exchange membranes: A review. *Chemical Engineering Research and Design*, Institution of Chemical Engineers. **90**, 950–9. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2011.10.015>

- [35] Stephen K. Ritter. (2008) Lignocellulose: A Complex Biomaterial. *Plant Biochemistry*, **86**, 15.
- [36] Martin, A.R., Martins, M.A., Mattoso, L.H.C. and Silva, O.R.R.F. (2009) Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade Agave sisalana TT - Chemical and structural characterization of sisal fibers from Agave sisalana variety. *Polímeros*, **19**, 40–6. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282009000100011>
- [37] Dufresne, A. (2019) Nanocellulose Processing Properties and Potential Applications. *Current Forestry Reports*, Current Forestry Reports. <https://doi.org/10.1007/s40725-019-00088-1>
- [38] Chakrabarty, A. and Teramoto, Y. (2018) Recent advances in nanocellulose composites with polymers: A guide for choosing partners and how to incorporate them. *Polymers*, **10**. <https://doi.org/10.3390/polym10050517>
- [39] Mohanty, A., Misra, M. and Drzal, L. (2005) Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites [Internet]. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203508206>
- [40] Pereira, P.H.F., De Freitas Rosa, M., Cioffi, M.O.H., De Carvalho Benini, K.C.C., Milanese, A.C., Voorwald, H.J.C. et al. (2015) Vegetal fibers in polymeric composites: A review. *Polimeros*, **25**, 9–22. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.1722>
- [41] Klemm, D., Heublein, B., Fink, H. and Bohn, A. (2005) Polymer Science Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material Angewandte. 3358–93. <https://doi.org/10.1002/anie.200460587>
- [42] Santos, F.A., De Queiróz, J.H., Colodette, J.L., Fernandes, S.A., Guimaraes, V.M. and Rezende, S.T. (2012) Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. *Química Nova*, **35**, 1004–10.
- [43] Moon, R.J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J. and Youngblood, J. (2011)

- Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, **40**, 3941. <https://doi.org/10.1039/c0cs00108b>
- [44] Lima, D.U., Oliveira, R.C. and Buckeridge, M.S. (2003) Seed storage hemicelluloses as wet-end additives in papermaking. *Carbohydrate Polymers*, **52**, 367–73. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00008-0](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00008-0)
- [45] David N.S. Hon, N.S. (2000) Wood and Cellulosic Chemistry, Second Edition, Revised, and Expanded [Internet]. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781482269741>
- [46] Morais, S.A.L. de, Nascimento, E.A. do and Melo, D.C. de. (2005) Chemical analysis of Pinus oocarpa wood part I - Quantification of macromolecular components and volatile extractives. *Revista Árvore*, **29**, 461–70. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622005000300014>
- [47] Marabezi, K. (2009) Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de Lignina e Holocelulose em amostras de Bagaço e Palha de Cana-de- Açúcar. Universidade de São Paulo.
- [48] FENGEL, Dietrich; WEGENER, G. (2011) Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Walter de Gruyter.
- [49] Ek Monica; Göran Gellerstedt; Gunnar Henriksson. (2009) Wood chemistry and biotechnology. Walter de Gruyter.
- [50] Taupier, L.O.G. (2000) Manual de los derivados de la caña de azúcar [Internet]. 3rd ed. ICIDCA, La Habana.
- [51] CONAB. (2019) Cana-de- açúcar: Acompanhamento da safra brasileira 2018/2019 [Internet]. Cia. Nac. Abast. p. 75.
- [52] Szczerbowski, D., Pitarelo, A.P., Zandoná Filho, A. and Ramos, L.P. (2014) Sugarcane biomass for biorefineries: Comparative composition of carbohydrate and non-carbohydrate components of bagasse and straw. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **114**, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.052>

- [53] Pereira, S.C., Maehara, L., Machado, C.M.M. and Farinas, C.S. (2015) 2G ethanol from the whole sugarcane lignocellulosic biomass. *Biotechnology for Biofuels*, **8**, 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0224-0>
- [54] Loh, Y.R., Sujan, D., Rahman, M.E. and Das, C.A. (2013) Review Sugarcane bagasse - The future composite material: A literature review. *Resources, Conservation and Recycling*, Elsevier B.V. **75**, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2013.03.002>
- [55] Klein, B.C., de Mesquita Sampaio, I.L., Mantelatto, P.E., Filho, R.M. and Bonomi, A. (2019) Beyond ethanol, sugar, and electricity: a critical review of product diversification in Brazilian sugarcane mills. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, **13**, 809–21. <https://doi.org/10.1002/bbb.1969>
- [56] Shankar, S. and Rhim, J.W. (2016) Preparation of nanocellulose from micro-crystalline cellulose: The effect on the performance and properties of agar-based composite films. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **135**, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.082>
- [57] Foster, E.J., Moon, R.J., Agarwal, U.P., Bortner, M.J., Bras, J., Camarero-Espinosa, S. et al. (2018) Current characterization methods for cellulose nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, **47**, 2609–79. <https://doi.org/10.1039/C6CS00895J>
- [58] Kargarzadeh, H., Mariano, M., Huang, J., Lin, N., Ahmad, I., Dufresne, A. et al. (2017) Recent developments on nanocellulose reinforced polymer nanocomposites: A review. *Polymer*, Elsevier Ltd. **132**, 368–93. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2017.09.043>
- [59] Klemm, D., Kramer, F., Moritz, S., Lindström, T., Ankerfors, M., Gray, D. et al. (2011) Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie - International Edition*, **50**, 5438–66. <https://doi.org/10.1002/anie.201001273>
- [60] Nechyporchuk, O., Belgacem, M.N. and Bras, J. (2016) Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. *Industrial Crops and*

- Products*, Elsevier B.V. **93**, 2–25.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.016>
- [61] Phanthong, P., Reubroycharoen, P., Hao, X., Xu, G., Abudula, A. and Guan, G. (2018) Nanocellulose: Extraction and application. *Carbon Resources Conversion*, KeAi Communications Co., Ltd. **1**, 32–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.crcon.2018.05.004>
- [62] Pääkko, M., Ankerfors, M., Kosonen, H., Nykänen, A., Ahola, S., Österberg, M. et al. (2007) Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules*, **8**, 1934–41.  
<https://doi.org/10.1021/bm061215p>
- [63] Zheng, Y., Pan, Z. and Zhang, R. (2009) Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, **2**, 51–68. <https://doi.org/10.3965/j.issn.1934-6344.2009.03.051-068>
- [64] Fan, L.T., Lee, Y.-H. and Gharpuray, M.M. (1982) The nature of lignocellulosics and their pretreatments for enzymatic hydrolysis. 157–87.  
[https://doi.org/10.1007/3540116982\\_4](https://doi.org/10.1007/3540116982_4)
- [65] Santos-Rocha, M.S.R. (2017) Estudo integrado das etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar. UFSCAR.
- [66] Neto, W.P.F., Alves, H., Oliveira, N. and Pasquini, D. (2013) Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue – Soy hulls. *Industrial Crops & Products*, Elsevier B.V. **42**, 480–8.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.041>
- [67] Wang, J., Liu, X., Jin, T., He, H. and Liu, L. (2019) Preparation of nanocellulose and its potential in reinforced composites: A review. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, Taylor & Francis. **30**, 919–46.  
<https://doi.org/10.1080/09205063.2019.1612726>

- [68] Novo, L.P., Bras, J., García, A., Belgacem, N. and Curvelo, A.A.S. (2015) Subcritical Water: A Method for Green Production of Cellulose Nanocrystals. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, **3**, 2839–46. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b00762>
- [69] Bondancia, T.J., Mattoso, L.H.C., Marconcini, J.M. and Farinas, C.S. (2017) A new approach to obtain cellulose nanocrystals and ethanol from eucalyptus cellulose pulp via the biochemical pathway. *Biotechnology Progress*, **33**, 1085–95. <https://doi.org/10.1002/btpr.2486>
- [70] Mayra Alejandra Mariño Bohórquez. (2017) Caracterização de nanocelulose do bagaço de laranja e imobilização de enzimas hidrolíticas visando seu aproveitamento durante a etapa da hidrólise de celulose. Universidade Estadual de Campinas.
- [71] Tanthapanichakoon, W. and Jian, S.W. (2012) Bioethanol production from cellulose and biomass-derived syngas. *Engineering Journal*, **16**, 1–7. <https://doi.org/10.4186/ej.2012.16.5.1>
- [72] Chen, J., Wu, D., Tam, K.C., Pan, K. and Zheng, Z. (2017) Effect of surface modification of cellulose nanocrystal on nonisothermal crystallization of poly( $\beta$ -hydroxybutyrate) composites. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **157**, 1821–9. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.071>
- [73] Mandal, A. and Chakrabarty, D. (2011) Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **86**, 1291–9. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.030>
- [74] Simplicio, E. da S. (2017) Isolamento de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê obtidas por hidrólise enzimática. Universidade de Brasília.
- [75] Schiebahn, S., Grube, T., Robinius, M., Tietze, V., Kumar, B. and Stolten, D. (2015) Power to gas: Technological overview, systems analysis and economic assessment for a case study in Germany. *International Journal*

- of Hydrogen Energy*, Elsevier Ltd. **40**, 4285–94. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.01.123>
- [76] The Institute of Engineering and Technology (IET). (2019) Transitioning to hydrogen. Disponível em <<https://web.archive.org/web/20200526132244/https://www.theiet.org/media/4095/transitioning-to-hydrogen.pdf>>. Acesso em 01, setembro, 2021. p. 40.
- [77] FuelCellToday. (2013) Water Electrolysis & Renewable Energy Systems [Internet]. Disponível em <[http://www.elygrid.com/wp-content/uploads/2021/07/down\\_water-electrolysis-renewable-energy-systems.pdf](http://www.elygrid.com/wp-content/uploads/2021/07/down_water-electrolysis-renewable-energy-systems.pdf)>. Acesso em 01, setembro, 2021.
- [78] TSUTSUMI, A. (2009) Thermodynamics of water splitting. *Energy Carriers and Conversion Systems*, EOLSS, Tokyo. p. 136–45.
- [79] Carmo, M. and Stolten, D. (2018) Energy storage using hydrogen produced from excess renewable electricity: Power to hydrogen [Internet]. *Sci. Eng. Hydrog. Energy Technol. Hydrog. Prod. Pract. Appl. Energy Gener.* Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814251-6.00004-6>
- [80] Carmo, M., Fritz, D.L., Mergel, J. and Stolten, D. (2013) A comprehensive review on PEM water electrolysis. *International Journal of Hydrogen Energy*, **38**, 4901–34. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.01.151>
- [81] Marshall, A.Ã., Børresen, B., Hagen, G., Tsytkin, M. and Tunold, R. (2007) Hydrogen production by advanced proton exchange membrane ( PEM ) water electrolyzers — Reduced energy consumption by improved electrocatalysis. **32**, 431–6. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2006.07.014>
- [82] Klose, C. (2020) Novel polymer electrolyte membrane compositions for electrolysis and fuel cell systems. Albert-Ludwigs-Universität.
- [83] Busquet, S., Hubert, C.E., Labbé, J., Mayer, D. and Metkemeijer, R. (2004) A new approach to empirical electrical modelling of a fuel cell, an

- electrolyser or a regenerative fuel cell. *Journal of Power Sources*, **134**, 41–8. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2004.02.018>
- [84] Letícia Guerreiro da Trindade. (2015) Membranas Poliméricas Para Células a Combustível: Estudo De Resinas Trocadoras De Íons Combinadas a Líquidos Iônicos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- [85] Wong, C.Y., Wong, W.Y., Ramya, K., Khalid, M., Loh, K.S., Daud, W.R.W. et al. (2019) Additives in proton exchange membranes for low- and high-temperature fuel cell applications: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, Elsevier Ltd. **44**, 6116–35. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.01.084>
- [86] Lamy, C., Jones, D.J., Coutanceau, C., Brault, P., Martemianov, S. and Bultel, Y. (2011) Do not forget the electrochemical characteristics of the membrane electrode assembly when designing a Proton Exchange Membrane Fuel Cell stack. *Electrochimica Acta*, Elsevier Ltd. **56**, 10406–23. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2011.05.098>
- [87] Oriol, G.G., Garc, R. and Giamberini, M. (2012) Membranas Para La Fotosíntesis Artificial. *Seguridad y Medio Ambiente*, 48–57.
- [88] Perles, C.E. (2008) Propriedades físico-químicas relacionadas ao desenvolvimento de membranas de Nation® para aplicações em Células a combustível do tipo PEMFC. *Polimeros*, **18**, 281–8.
- [89] Smitha, B., Sridhar, S. and Khan, A.A. (2005) Solid polymer electrolyte membranes for fuel cell applications - A review. *Journal of Membrane Science*, **259**, 10–26. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2005.01.035>
- [90] Gebel, G. (2000) Structural evolution of water swollen perfluorosulfonated ionomers from dry membrane to solution. *Polymer*, **41**, 5829–38. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(99\)00770-3](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(99)00770-3)
- [91] Hussain, F., Hojjati, M., Okamoto, M. and Gorga, R.E. (2006) Review

- article: Polymer-matrix Nanocomposites, Processing, Manufacturing, and Application: An Overview. *Journal of Composite Materials*, **40**, 1511–75. <https://doi.org/10.1177/0021998306067321>
- [92] Ajayan, P.M., Schadler, L.S. and Braun, P. V. (2003) Related Titles from Wiley-VCH Molecular Imprinting From Fundamentals to Applications Multilayer Thin Films Sequential Assembly of Nanocomposite Materials High Temperature Ceramic Matrix Composites Nanotechnology. <https://doi.org/10.1002/3527602127>
- [93] Huang, C., Zhao, C., Li, H., Xiong, L., Chen, X., Luo, M. et al. (2018) Comparison of different pretreatments on the synergistic effect of cellulase and xylanase during the enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. *RSC Advances*, Royal Society of Chemistry. **8**, 30725–31. <https://doi.org/10.1039/C8RA05047C>
- [94] Varga, E., Réczey, K. and Zacchi, G. (2004) Optimization of steam pretreatment of corn stover to enhance enzymatic digestibility. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*, **114**, 509–23. <https://doi.org/10.1385/ABAB:114:1-3:509>
- [95] Chen, L., Zhu, J.Y., Baez, C., Kitin, P. and Elder, T. (2016) Highly thermal-stable and functional cellulose nanocrystals and nanofibrils produced using fully recyclable organic acids. *Green Chemistry*, Royal Society of Chemistry. **18**, 3835–43. <https://doi.org/10.1039/c6gc00687f>
- [96] Technical Association of the Pulp and Paper Industry. (2016) TAPPI T 211 om–16: Ash in Wood, Pulp, Paper, and Paperboard: Combustion at 525°C.
- [97] Technical Association of the Pulp and Paper Industry. (2017) TAPPI T 204 cm–17: Solvent Extractives of Wood and Pulp.
- [98] Technical Association of the Pulp and Paper Industry. TAPPI T 222 om–15: Acid-Insoluble Lignin in Wood and Pulp.
- [99] Technical Association of the Pulp and Paper Industry. (1954) TAPPI T 13

os-54: Lignin in Wood.

- [100] Technical Association of the Pulp and Paper Industry. (1975) TAPPI T 9 wd-75: Holocellulose in Wood.
- [101] American Society for Testing and Materials (ASTM). (2013) D1106-96: Standard Test Method for Acid-Insoluble Lignin in Wood.
- [102] Schroeder, L.R., Gentile, V.M. and Atalla, R.H. (1986) Nondegradative preparation of amorphous cellulose. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, **6**, 1–14. <https://doi.org/10.1080/02773818608085213>
- [103] Beck-Candanedo, S., Roman, M. and Gray, D.G. (2005) Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. *Biomacromolecules*, **6**, 1048–54. <https://doi.org/10.1021/bm049300p>
- [104] Reid, M.S., Villalobos, M. and Cranston, E.D. (2017) Benchmarking Cellulose Nanocrystals: From the Laboratory to Industrial Production. *Langmuir*, **33**, 1583–98. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b03765>
- [105] University of Maine. Product specification. Disponível em <<https://umaine.edu/pdc/wp-content/uploads/sites/398/2016/03/Specs-CNC.pdf>>. Acesso em 01, setembro, 2019.
- [106] Dai, J., Teng, X., Song, Y. and Ren, J. (2017) Effect of casting solvent and annealing temperature on recast Nafion membranes for vanadium redox flow battery. *Journal of Membrane Science*, Elsevier. **522**, 56–67. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2016.09.014>
- [107] Camarero Espinosa, S., Kuhnt, T., Foster, E.J. and Weder, C. (2013) Isolation of thermally stable cellulose nanocrystals by phosphoric acid hydrolysis. *Biomacromolecules*, **14**, 1223–30. <https://doi.org/10.1021/bm400219u>
- [108] American Society for Testing and Materials (ASTM). (2018) D 882-18: Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting.

- [109] Vanitjinda, G., Nimchua, T. and Sukyai, P. (2019) Effect of xylanase-assisted pretreatment on the properties of cellulose and regenerated cellulose films from sugarcane bagasse. *International Journal of Biological Macromolecules*, Elsevier B.V. **122**, 503–16. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.191>
- [110] Chinga-Carrasco, G., Ehman, N. V., Pettersson, J., Vallejos, M.E., Brodin, M.W., Felissia, F.E. et al. (2018) Pulping and Pretreatment Affect the Characteristics of Bagasse Inks for Three-dimensional Printing. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **6**, 4068–75. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b04440>
- [111] Pereira, S.C., Maehara, L., Machado, C.M.M. and Farinas, C.S. (2016) Physical-chemical-morphological characterization of the whole sugarcane lignocellulosic biomass used for 2G ethanol production by spectroscopy and microscopy techniques. *Renewable Energy*, Elsevier Ltd. **87**, 607–17. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.10.054>
- [112] Batista, G., Souza, R.B.A., Pratto, B., dos Santos-Rocha, M.S.R. and Cruz, A.J.G. (2019) Effect of severity factor on the hydrothermal pretreatment of sugarcane straw. *Bioresource Technology*, Elsevier. **275**, 321–7. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.073>
- [113] dos Santos Rocha, M.S.R., Pratto, B., de Sousa, R., Almeida, R.M.R.G. and Cruz, A.J.G. da. (2017) A kinetic model for hydrothermal pretreatment of sugarcane straw. *Bioresource Technology*, Elsevier Ltd. **228**, 176–85. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.087>
- [114] Carvalho, D.M. de, Sevastyanova, O., Penna, L.S., Silva, B.P. da, Lindström, M.E. and Colodette, J.L. (2015) Assessment of chemical transformations in eucalyptus, sugarcane bagasse and straw during hydrothermal, dilute acid, and alkaline pretreatments. *Industrial Crops and Products*, Elsevier B.V. **73**, 118–26. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.021>

- [115] dos Santos, A.C., Ximenes, E., Kim, Y. and Ladisch, M.R. (2019) Lignin–Enzyme Interactions in the Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass. *Trends in Biotechnology*, Elsevier Ltd. **37**, 518–31. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.10.010>
- [116] Siqueira, G., Várnai, A., Ferraz, A. and Milagres, A.M.F. (2013) Enhancement of cellulose hydrolysis in sugarcane bagasse by the selective removal of lignin with sodium chlorite. *Applied Energy*, Elsevier Ltd. **102**, 399–402. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.07.029>
- [117] Ko, J.K., Ximenes, E., Kim, Y. and Ladisch, M.R. (2015) Adsorption of enzyme onto lignins of liquid hot water pretreated hardwoods. *Biotechnology and Bioengineering*, **112**, 447–56. <https://doi.org/10.1002/bit.25359>
- [118] dos Santos-Rocha, M.S.R., Pratto, B., Corrêa, L.J., Badino, A.C., Almeida, R.M.R.G. and Cruz, A.J.G. (2018) Assessment of different biomass feeding strategies for improving the enzymatic hydrolysis of sugarcane straw. *Industrial Crops and Products*, Elsevier. **125**, 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.005>
- [119] Feng, Y.H., Cheng, T.Y., Yang, W.G., Ma, P.T., He, H.Z., Yin, X.C. et al. (2018) Characteristics and environmentally friendly extraction of cellulose nanofibrils from sugarcane bagasse. *Industrial Crops and Products*, Elsevier. **111**, 285–91. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.041>
- [120] Ji, H., Xiang, Z., Qi, H., Han, T., Pranovich, A. and Song, T. (2019) Strategy towards one-step preparation of carboxylic cellulose nanocrystals and nanofibrils with high yield, carboxylation and highly stable dispersibility using innocuous citric acid. *Green Chemistry*, **21**, 1956–64. <https://doi.org/10.1039/C8GC03493A>
- [121] Vanderfleet, O.M., Reid, M.S., Bras, J., Heux, L., Godoy-Vargas, J., Panga, M.K.R. et al. (2019) Insight into thermal stability of cellulose nanocrystals from new hydrolysis methods with acid blends. *Cellulose*, Springer

- Netherlands. **26**, 507–28. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-2175-7>
- [122] Sun, X.F., Xu, F., Sun, R.C., Fowler, P. and Baird, M.S. (2005) Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw. *Carbohydrate Research*, **340**, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.10.022>
- [123] Zhuo, X., Liu, C., Pan, R., Dong, X. and Li, Y. (2017) Nanocellulose Mechanically Isolated from *Amorpha fruticosa* Linn. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **5**, 4414–20. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b00478>
- [124] Zhang, Y.H.P. and Lynd, L.R. (2004) Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulase systems. *Biotechnology and Bioengineering*, **88**, 797–824. <https://doi.org/10.1002/bit.20282>
- [125] Garvey, C.J., Parker, I.H. and Simon, G.P. (2005) On the Interpretation of X-Ray Diffraction Powder Patterns in Terms of the Nanostructure of Cellulose I Fibres. 1568–75. <https://doi.org/10.1002/macp.200500008>
- [126] Schenzel, K. and Fischer, S. (2001) NIR FT Raman spectroscopy - A rapid analytical tool for detecting the transformation of cellulose polymorphs. *Cellulose*, **8**, 49–57. <https://doi.org/10.1023/A:1016616920539>
- [127] de Campos, A., Correa, A.C., Cannella, D., de M Teixeira, E., Marconcini, J.M., Dufresne, A. et al. (2013) Obtaining nanofibers from curauá and sugarcane bagasse fibers using enzymatic hydrolysis followed by sonication. *Cellulose*, **20**, 1491–500. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-9909-3>
- [128] Liu, X., Jiang, Y., Song, X., Qin, C., Wang, S. and Li, K. (2019) A bio-mechanical process for cellulose nanofiber production – Towards a greener and energy conservation solution. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier. **208**, 191–9. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.071>

- [129] Ribeiro, R.S.A., Bojorge, N. and Pereira, N. (2020) Statistical analysis of the crystallinity index of nanocellulose produced from Kraft pulp via controlled enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, bab.1873. <https://doi.org/10.1002/bab.1873>
- [130] Hu, J., Tian, D., Rennekar, S. and Saddler, J.N. (2018) Enzyme mediated nanofibrillation of cellulose by the synergistic actions of an endoglucanase, lytic polysaccharide monooxygenase (LPMO) and xylanase. *Scientific Reports*, Springer US. **8**, 4–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21016-6>
- [131] Bhattacharjee, S. (2016) DLS and zeta potential - What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*, Elsevier B.V. **235**, 337–51. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>
- [132] Martelli-Tosi, M., Masson, M.M., Silva, N.C., Esposto, B.S., Barros, T.T., Assis, O.B.G. et al. (2018) Soybean straw nanocellulose produced by enzymatic or acid treatment as a reinforcing filler in soy protein isolate films. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier. **198**, 61–8. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.053>
- [133] Otoni, C.G., Carvalho, A.S., Cardoso, M.V.C., Bernardinelli, O.D., Lorevice, M. V., Colnago, L.A. et al. (2018) High-Pressure Microfluidization as a Green Tool for Optimizing the Mechanical Performance of All-Cellulose Composites. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **6**, 12727–35. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b01855>
- [134] Morán, J.I., Alvarez, V.A., Cyras, V.P. and Vázquez, A. (2008) Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*, **15**, 149–59. <https://doi.org/10.1007/s10570-007-9145-9>
- [135] Kumar, A., Negi, Y.S., Choudhary, V. and Bhardwaj, N.K. (2014) Characterization of Cellulose Nanocrystals Produced by Acid-Hydrolysis from Sugarcane Bagasse as Agro-Waste. **2**, 1–8. <https://doi.org/10.12691/jmpc-2-1-1>

- [136] Chirayil, C.J., Joy, J., Mathew, L., Mozetic, M., Koetz, J. and Thomas, S. (2014) Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from *Helicteres isora* plant. *Industrial Crops and Products*, Elsevier B.V. **59**, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.020>
- [137] Cui, S., Zhang, S., Ge, S., Xiong, L. and Sun, Q. (2016) Green preparation and characterization of size-controlled nanocrystalline cellulose via ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis. *Industrial Crops and Products*, Elsevier B.V. **83**, 346–52. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.019>
- [138] Liang, Z., Chen, W., Liu, J., Wang, S., Zhou, Z., Li, W. et al. (2004) FT-IR study of the microstructure of Nafion® membrane. *Journal of Membrane Science*, **233**, 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2003.12.008>
- [139] Xu, W., Lu, T., Liu, C. and Xing, W. (2005) Low methanol permeable composite Nafion/silica/PWA membranes for low temperature direct methanol fuel cells. *Electrochimica Acta*, **50**, 3280–5. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2004.12.014>
- [140] Rubatat, L., Gebel, G. and Diat, O. (2004) Fibrillar structure of Nafion: Matching fourier and real space studies of corresponding films and solutions. *Macromolecules*, **37**, 7772–83. <https://doi.org/10.1021/ma049683j>
- [141] Varanasi, S., Henzel, L., Mendoza, L., Prathapan, R., Batchelor, W., Tabor, R. et al. (2018) Pickering Emulsions Electrostatically Stabilized by Cellulose Nanocrystals. *Frontiers in Chemistry*, **6**, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00409>
- [142] Lin, M., Singh Raghuwanshi, V., Browne, C., Simon, G.P. and Garnier, G. (2022) Modulating the chiral nanoarchitecture of cellulose nanocrystals through interaction with salts and polymer. *Journal of Colloid and Interface Science*, Elsevier Inc. **613**, 207–17. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.12.182>
- [143] Matos, B.R., Aricó, E.M., Linardi, M., Ferlauto, A.S., Santiago, E.I. and

- Fonseca, F.C. (2009) Thermal properties of Nafion-TiO<sub>2</sub> composite electrolytes for PEM fuel cell. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **97**, 591–4. <https://doi.org/10.1007/s10973-009-0365-0>
- [144] Erbas Kiziltas, E., Kiziltas, A., Bollin, S.C. and Gardner, D.J. (2015) Preparation and characterization of transparent PMMA-cellulose-based nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier Ltd. **127**, 381–9. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.029>
- [145] Dias, D.T., Lopes, G., Ferreira, T., Oliveira, I.L. and Rosa, C.D. (2017) Thermo-Optical Properties of Perfluorinated Sulfonic Acid Membranes : An Investigation of Hydration Based on Absorption Spectra. **71**, 2504–11. <https://doi.org/10.1177/0003702817723649>
- [146] Matos, B.R., Isidoro, R.A., Santiago, E.I., Tavares, A.C., Ferlauto, A.S., Muccillo, R. et al. (2015) Nafion-titanate nanotubes composites prepared by in situ crystallization and casting for direct ethanol fuel cells. *International Journal of Hydrogen Energy*, Elsevier Ltd. **40**, 1859–67. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.11.102>
- [147] Cele, N. and Ray, S.S. (2009) Recent progress on nafion-based nanocomposite membranes for fuel cell applications. *Macromolecular Materials and Engineering*, **294**, 719–38. <https://doi.org/10.1002/mame.200900143>
- [148] Diloreto, E., Haque, E., Berman, A. and Moon, R.J. (2019) Freeze dried cellulose nanocrystal reinforced unsaturated polyester composites: challenges and potential. *Cellulose*, Springer Netherlands. **1**. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02377-1>
- [149] Hosseinpour, M., Sahoo, M., Perez-Page, M., Baylis, S.R., Patel, F. and Holmes, S.M. (2019) Improving the performance of direct methanol fuel cells by implementing multilayer membranes blended with cellulose nanocrystals. *International Journal of Hydrogen Energy*, Elsevier Ltd. **44**, 30409–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.09.194>

- [150] Chemours. (2016) Product Information: Nafion N115, N117, N1110 [Internet]. Disponível em <<https://www.fuelcellstore.com/spec-sheets/chemours-nafion-115-117-1110-spec-sheet.pdf>>. Acesso em 01, setembro, 2021.
- [151] Tayeb, A.H., Amini, E., Ghasemi, S. and Tajvidi, M. (2018) Cellulose nanomaterials-binding properties and applications: A review. *Molecules*, **23**, 1–24. <https://doi.org/10.3390/molecules23102684>
- [152] Anderson, S.R., Esposito, D., Gillette, W., Zhu, J.Y., Baxa, U. and McNeil, S.E. (2014) Enzymatic preparation of nanocrystalline and microcrystalline cellulose. *Tappi Journal*, **13**, 35–42.