

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Matjaž PONGRAC

**IZOLACIJA NANOCELULOZE IZ JUVENILNE IN
ADULTNE SMREKOVINE**

DIPLOMSKI PROJEKT

Univerzitetni študij - 1. stopnja

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Matjaž PONGRAC

**IZOLACIJA NANOCELULOZE IZ JUVENILNE IN ADULTNE
SMREKOVINE**

DIPLOMSKI PROJEKT
Univerzitetni študij - 1. stopnja

**ISOLATION OF NANOCELULOSE FROM JUVENILE AND ADULT
WOOD OF NORWAY SPRUCE**

B. SC. THESIS
Academic Study Programmes

Ljubljana, 2016

Diplomski projekt je zaključek Univerzitetnega študija Lesarstva – 1. stopnja. Delo je bilo opravljeno na Katedri za kemijo lesa.

Senat Oddelka za lesarstvo je za mentorico diplomskega dela imenoval doc. dr. Ido Poljanšek, za somentorja dr. Vilijema Veka, za recenzenta prof. dr. Primoža Ovna.

Mentor: doc. dr. Ida Poljanšek

Somentor: dr. Vilijem Vek

Recenzent: prof. dr. Primož Oven

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Podpisani izjavljam, da je naloga rezultat lastnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Matjaž Pongrac

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Du1
DK	UDK 630*813
KG	smreka/celuloza/nanoceluloza/TEMPO oksidacija
AV	PONGRAC, Matjaž
SA	POLJANŠEK, Ida (mentor)/VEK, Viljem (somentor)/OVEN, Primož (recenzent)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c.VIII/34
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo
LI	2016
IN	IZOLACIJA NANOCELULOZE IZ JUVENILNE IN ADULTNE SMREKOVINE
TD	Diplomski projekt (Univerzitetni študij - 1. stopnja)
OP	IV, 29 str., 1 pregl., 27 sl., 6 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Cilj diplomske naloge je bila priprava nanoceluloze iz juvenilnega in adultnega lesa smrekovine. Predelava materiala je potekala od kolutov lesa, do zelo majhnih nano delcev. Z razrezom in mletjem smo les najprej dezintegrirali do lesnega prahu, nato pa ga s kemičnimi postopki čiščenja, delignifikacije in odstranjevanja hemiceluloz obdelovali dokler nismo dobili α -celuloze. Tem postopkom je sledila TEMPO oksidacija in mehanska obdelava. Na ta način smo uspeli pridobiti suspenzijo, ki je vsebovala celulozna vlakna, fragmente celuloznih vlaken in fragmente njihovih celičnih sten ter zelo majhne delce, ki so formirali gel. Ta je izkazoval značilnosti gela, ki je sicer značilen za nanofibrilirano celulozo. Postopek je mogoče bistveno izboljšati z izborom vhodnega materiala, finejšim mletjem ter učinkovitejšo kemično in mehansko obdelavo materiala.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du1

DC UDC 630*813

CX Norway spruce/cellulose/nanocellulose/TEMPO oxidation

AU PONGRAC, Matjaž

AA POLJANŠEK, Ida (supervisor)/VEK, Viljem (co-adviser)/OVEN, Primož
(reviewer)

PP SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c.VIII/34

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and
Technology

PY 2016

TY ISOLATION OF NANOCELULOSE FROM JUVENILE AND ADULT WOOD
OF NORWAY SPRUCE

DT B. Sc. Thesis (Academic Study Programmes)

NO IV, 29 p., 1 tab., 27 fig., 6 ref.

LA sl

Al sl/en

AB The goal of this research was the isolation of nanocellulose from juvenile and adult wood of Norway spruce. The process was done first by mechanically sewing and grinding the wood to make wood dust. The next step was the chemical treatment by organic solvents in order to remove polar and non-polar extractives from the wood dust. Next two steps were delignification and the removal of hemicellulose, the result of which was α -cellulose. Then we used TEMPO oxidation and mechanical processing for the disintegration of the cellulose fibers. Next two steps were TEMPO oxidation and mechanical treatment. This way we were able to acquire a substance that contained cellulose fibers, fragments of cellulose fibers, fragments of cell walls and small particles that formed a gel. This gel was similar to the type of gel that is characteristic to the one formed by nanocellulose. The process that was used can be drastically improved by a better selection of input material, finer grinding and more effective chemical and mechanical treatment.

KAZALO VSEBINE	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	II
KEY WORDS DOCUMENTATION	III
KAZALO VSEBINE	IV
KAZALO SLIK	VI
KAZALO PREGLEDNIC	VII
1 UVOD	1
2 PREGLED LITERATURE	2
2.1 OPIS SMREKE	2
2.2 OPIS LESA SMREKE.....	2
2.3 OPIS JUVENILNEGA IN ADULTNEGA LESA.....	3
3 MATERIALI IN METODE	4
3.1 MATERIALI	4
3.1.1 Les	4
3.1.2 Reagent TEMPO ((2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)oksidanil).....	4
3.1.3 Natrijev bromid	4
3.1.4 Raztopina natrijevega hipoklorita	4
3.1.5 Cikloheksan.....	4
3.1.6 Aceton	4
3.2 METODE	5
3.2.1 Odvzem kolotov	5
3.2.2 Razrez vzorcev	7
3.2.3 Mletje	8
3.2.4 Določevanje suhe snovi.....	8
3.2.5 Ekstrakcija s cikloheksanom	8
3.2.5.1 Filtriranje	9
3.2.5.2 Določanje ekstraktivnih snovi po ekstrahiranju s cikloheksanom.....	9
3.2.6 Ekstrakcija z acetonom	9
3.2.6.2 Določanje ekstraktivnih snovi po ekstrahiranju z acetonom.....	9
3.2.7 Delignifikacija in odstranitev hemiceluloz	10
3.2.8 TEMPO oksidacija	11
3.2.9 Konduktimetrična titracija.....	13
3.2.10 Mehanska obdelava	14
4 REZULTATI IN RAZPRAVA.....	15
4.1 MASNE BILANCE	15
4.1.1 Vsebnost suhe snovi.....	15
4.1.2 Vsebnost ekstraktivnih snovi topnih v cikloheksanu in acetonu.....	16
4.1.3 Količina α -celuloze po delignifikaciji in odstranitvi hemiceluloz.....	17
4.2 KONDUKTOMETRIČNA TITRACIJA.....	18
4.3 MAKROSKOPSKI PREGLED MATERIALA PO VSAKI FAZI OBDELAVE....	20
4.3.1 Zmlet lesni prah	20

4.3.2	Ekstrahirani lesni prah.....	21
4.3.3	α -celuloza.....	21
4.3.4	TEMPO oksidirana celuloza.....	22
4.4	MAKROSKOPSKI PREGLED MATERIALA.....	22
4.4.1	Sušena TEMPO oksidirana celuloza	23
4.4.2	Nikoli sušena TEMPO oksidirana celuloza	24
5	RAZPRAVA IN SKLEPI.....	26
5.1	RAZPRAVA.....	26
5.2	SKLEP	27
6	POVZETEK.....	28
7	VIRI	289

ZAHVALA

KAZALO SLIK

Slika 1: Drevo 2, kolut 1 odvzet na prsni višini.	5
Slika 2: Drevo 2, kolut 3 odvzet pri vrhu drevesa.	5
Slika 3: Označevanje vzorcev in razmejevanje adultnega in juvenilnega lesa.	6
Slika 4: Primer označenega koluta 3/3, na kolutu so označene dekade.	6
Slika 5: Primer označenega vzorca 3/1, na kolutu so označene dekade.	7
Slika 6: Kolut 3/3, razrez in izolacija juvenilnega in adultnega lesa.	7
Slika 7: Ekstrakcija s cikloheksanom.	8
Slika 8: Erlenmajerice na vodni kopeli med postopkom delignifikacije.	10
Slika 9: Pridobljena α -celuloza.	11
Slika 10: Natrijev hipoklorit, natrijev bromid in TEMPO reagent.	12
Slika 11: Trogrla bučka opremljena z mehanskim mešalom in pH metrom med potekom reakcije TEMPO oksidacije.	13
Slika 12: Konduktometer Metter Toledo T50.	14
Slika 13: Mehanska obdelava TEMPO oksidirane celuloze z ultraturaksom.	14
Slika 14: Grafikon vsebnosti suhe snovi v preučevanih vzorcih juvenilnega in adultnega lesa. Pomen oznak na primeru 2/1 A: prva številka je oznaka drevesa, druga je oznaka višine, na kateri je odvzet kolut, A pomeni adultni les.	15
Slika 15: Grafikon ekstraktivnih snovi topnih v cikloheksanu in acetonu.	16
Slika 16: Vsebnost α -celuloze v posameznih preučevanih vzorcih.	17
Slika 17: Povprečna vsebnost α -celuloze v juvenilnem in adultnem lesu. V vsebnosti celuloze med adultnim in juvenilnim lesom ni bilo razlike.	17
Slika 18: Primer grafične določitve porabe NaOH pri konduktometrični titraciji.	18
Slika 19: Makroskopski prikaz vhodne surovine in produktov po vsaki fazi obdelave.	20
Slika 20: Zmlet les preučevanih vzorcev, velikosti 1 mm.	20
Slika 21: Les, ki smo ga ekstrahirali najprej z cikloheksanom, nato pa z acetonom, se je razlikoval od vhodnega materiala po barvi in nekoliko tudi po teksturi, saj je bil bolj praškast.	21
Slika 22: α - celuloza. Fin belkast prah, v katerem je bilo mogoče s prostim očesom prepoznati posamezne vlaknaste fragmente.	21
Slika 23: TEMPO oksidirana celuloza v vodnem mediju.	22
Slika 24: Vzorec TEMPO oksidirane celuloze juvenilnega lesa vzorca 2/3. V vzorcu je mogoče prepoznati različno velike vlaknaste delce ter fragmente, ki so daljši od 500 μ m, fragmente celične stene in tudi komaj vidne dele vlaken. Opazili smo tudi gelasto snov, ki pa jo z svetlobnim mikroskopom ni bilo mogoče vizualizirati.	23
Slika 25: Izgled porušitve v celuloznem vlaknu, zaradi mehanske obdelave. Fotografija je zajeta pri polarizerani svetlobi.	24
Slika 26: Nikoli sušena, TEMPO oksidirana celuloza. Zmes še vedno vsebuje fragmente celuloznih vlaken, ki pa so bistveno krajši, kot v primeru sušene celuloze.	24
Slika 27: V nikoli sušeni TEMPO celulozi se je močno povečal delež zelo fino razplastenih vlaken.	25

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Rezultati konduktometrične titracije.....	19
--	----

UVOD

Celuloza je najbolj razširjen polimer na svetu, saj računajo, da je 40% vsega ogljika na zemlji vezanega v njej (Tišler, 1986). Količina celuloze v lesu je odvisna od sestave lesa. V lesu ponavadi predstavlja okoli 40 % lesne mase.

Na izolacijo celuloze vplivajo komponente v celični steni, zato moramo maščobe, voske, proteine in pektin predhodno ekstrahirati z organskimi topili in razredčeno alkalno raztopino. Celuloza je surovina za mnoge industrijske produkte. Sem spadajo papir, vlakna, filmi, celofan, aditivi... (Tišler, 1986).

Nanotehnologijo definiramo kot tehnologijo, ki omogoča uporabo in manipulacijo materialov v rangi velikosti pod 100 nanometri v vsaj eni dimenziji (Kamel, 2007). Nanometer (nm) je enota za merjenje dolžine, ki predstavlja eno milijardinko metra (10^{-9}). Domena nanotehnologije torej obravnava delce v velikosti nekaj atomov, vendar manjše od valovne dolžine vidne svetlobe. V takem rangi velikosti imajo materiali kemijsko, fizikalno, optično in biološko popolnoma drugačne lastnosti kot v večjih dimenzijah (Kamel, 2007). Nanotehnologija je torej zelo zanimivo področje na katerem je možno še veliko raziskav in izpopolnjevanja.

Najbolj obetavni naravni nanomaterial je zagotovo nanoceluloza. Nanoceluloza je izraz s katerim označujemo tri tipe celuloznega materiala. To so nanofibrilirana celuloza, celulozni nanokristali in bakterijska celuloza. Pri izolaciji nanofibrilirane celuloze iz lesne biomase obstajajo številne omejitve, ki so med drugim povezane tudi z lastnostmi vhodnega materiala. To problematiko želimo nasloviti v okviru tega diplomskega projekta.

Cilji diplomske naloge so:

- Izolacija nanoceluloze iz juvenilnega in adultnega lesa smreke
- Opis postopka izolacije nanoceluloze
- Primerjava dobljene surovine glede na vhodni material

Delovne hipoteze

- Delignifikacija lesne mase je lažja pri adultnem lesu zaradi manjše stopnje lignifikacije lesa
- Izolacija nanoceluloze je lažja, če material obdelamo z oksidacijskimi reagenti
- Končni produkt se glede na vhodno surovino ne razlikuje

1 PREGLED LITERATURE

2.1 OPIS SMREKE

Navadna smreka je vednozeleno, do 50 m visoko in do 2 m debelo iglasto drevo. Včasih doseže izjemne dimenzije (Brus, 2005). Deblu je ravno in polnolesno, veje izraščajo v izrazitih vejnih vencih. Skorja na deblu je rdečkasta, sprva gladka, pozneje pa začne odstopati v obliki oglatih ploščic. Brsti so jajčasto zašiljeni, rjavkasti in niso pokriti s smolo. Iglice so dolge 1-2,5 cm, široke do 1 mm, v prečnem prerezu rombaste, na poganjku so razmeščene spiralno. Iz vejice izraščajo na značilnih nastavkih in na drevesu ostanejo 5-7 let (Brus, 2005). Storži so dolgi 10-16 cm in debeli 3-4 cm. Dozorijo oktobra, odpirati se začnejo februarja naslednje leto in odpadejo poleti. Pod vsako plodno lusko sta po dve rjavi, do 4 mm dolgi krilati semeni (Brus, 2005). Navadna smreka je enodomna in vetrocvetna vrsta, cveti aprila in maja. Večinoma se razmnožuje s semenom, za potrebe žlahtnjenja uporabljajo tudi vegetativno razmnoževanje s potaknjenci, za vzgojo okrasnih sort pa cepljenje. Na prostem začne cveteti med 20. in 40. letom, v sestoju pa še 20 do 30 let kasneje. Polni obrod je vsaka 3-4 leta, na hladnih rastiščih redkeje, tudi na 4-8 let (Brus, 2005). Navadna smreka je prilagodljiva vrsta s široko ekološko amplitudo. To je eden od razlogov, da je v preteklosti med vsemi vrstami pri nas prav smreka doživela največje povečanje areala in uspešno gojenje tudi zunaj svojih naravnih rastišč (Brus, 2005). V Sloveniji je naravnih rastišč navadne smreke malo, saj smrekovja predstavljajo le 1,4 % vseh gozdnih rastišč, razširjena pa so le v Alpah in Dinaridih. V Alpah in dinarskem svetu raste smreka na med 800 in 1800 metri nadmorske višine. Samo izjemoma se smreka pojavi v naravnih združbah tudi pod 800 m nadmorske višine, na primer v ozkih, hladnih in vlažnih dolinah alpskega predgorja (Brus, 2005). Smreko so podobno kot v vsej srednji Evropi tudi v Sloveniji močno razširili v drugi polovici 19. stoletja. Zaradi hitre in ravne rasti ter kakovostnega lesa je omogočala največji vrednostni prirastek na enoto površine, nekoč redkejša smreka (naravni delež 8%) je tako postala naša gospodarsko najpomembnejša lesna vrsta; po podatkih iz leta 2001 je smreka z 32% lesne zaloge skupaj z bukvijo naša najpogostejša lesna vrsta; z večjim ali manjšim deležem prisotna v 83% naših gozdov. Močno zasmrečeni in zato slabo stojni in občutljivi gozdovi so danes med resnejšimi problemi naših gozdov (Brus, 2005). Smrekovina je mehak, elastičen in v Sloveniji daleč najpogostejši les, uporabljen je res povsod: v gradbeništvu, pohištveni industriji, papirni industriji in celo pri izdelavi glasbil (Brus, 2005). Iz smrekovih iglic pridobivajo eterična olja, tanine, ki jih pridobivajo iz skorje uporabljajo za strojenje, iz smreke pridobivajo terpentini. Navadna smreka velja za genetsko razmeroma dobro diferencirano drevesno vrsto. Na območju njene naravne razširjenosti je v okviru iste vrste opisanih več različnih taksonov (Brus, 2005).

2.2 OPIS LESA SMREKE

Smrekovina ima neobarvano jedrovino, zato se beljava in jedrovina ne ločita. Les je večinoma rumenkastobel, v starosti rumenkastorjav. Branike od ozkih do zelo širokih so razločne. Prehod iz svetlega, belkastega ranega lesa do rdečerumenkastega kasnega lesa je večinoma postopen. Poskobljane površine imajo svilnat lesk. Svež les diši po smoli. Pogost

je pojav smolnih žepkov (Čufar, 2006). Aksialni elementi potekajo premo, jedrovina je neobarvana, branike so razločne. Gostota je nizka do srednja, krčenje je zmerno. Je elastična in trdna, suši se brez težav, lahko se cepi in lepo se lušči. Les je malo nagnjen k zvijanju in pokanju in se z lahkoto obdeluje z ročnimi orodji ali strojno (Čufar, 2006). Zaradi nizke vsebnosti ekstraktivov je les kemično komajda aktiven. Ob stiku z vodo, kislinami, bazami, alkoholom, maščobami, olji, bakrom ali medenino ne pride do obarvanja. Železo ob stiku s smrekovino ne korodira, vendar se les sivkasto obarva. Nezaščiten les je le zmerno odporen proti atmosferilijam in neodporen proti glivam in insektom (Čufar, 2006).

2.3 OPIS JUVENILNEGA IN ADULTNEGA LESA

Pri drevesih, po obdobju nastajanja, ločimo dve vrsti lesa, to sta juvenilni in adultni les. Juvenilni les nastaja v zgodnem obdobju življenja drevesa. Juvenilno obdobje navadno traja od 10 do 20 let, lahko pa variira od 5 do 60 let (Čufar, 2006). V začetnem obdobju kambialne rasti kambij proizvaja les s krajšimi vretenastimi inicialkami. Tak les se od kasnejšega, adultnega lesa, močno razlikuje. Ima krajša vlakna s tanjšimi stenami, večjim mikrofibrilnim kotom, v srednjem sloju sekundarne lamele, celuloza pa ima več amorfnih območji (Čufar, 2006). Produkt zrelega kambija pa imenujemo adultni les. Les ima normalne fiziološke gradiente in normalne (maksimalne) dolžine vlaken. Ko govorimo o lesu kot materialu, govorimo o adultnem lesu (Čufar, 2006).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

3.1.1 Les

Drevesi smo izbrali in posekali v gozdno gospodarski enoti Jezersko, v krajevnem območju Spodnje Jezersko. Rastišče se nahaja na nadmorski višini med 740 m in 1180 m, sestavljajo pa ga smreka (84%), bukev (10%), macesen (5%) in veliki jesen (1%). Rastišče je na apnenčasti podlagi, na njem pa prevladujejo sestoji na prehodu v debeljak (74%). Izbrali smo dve drevesi, ki nista imeli večjih poškodb na deblu in nista bili napadeni s strani lubadarja. (ZGS, 2012)

3.1.2 Reagent TEMPO ((2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)oksidanil)

TEMPO reagent smo v raziskavah uporabili kot katalizator v postopku oksidacije celuloze. Reagent deluje že v zelo majhnih količinah, zato smo ga za naše potrebe porabili le 0,01235 g na 1 g vzorca lesa. TEMPO reagent je oranžne barve in ima zelo nizko tališče, zato ga shranjujemo v hladilniku.

3.1.3 Natrijev bromid

Kot dodatni katalizator smo v postopku TEMPO oksidacije uporabili natrijev bromid. Tega najdemo pri sobni temperaturi v obliki belih kristalov. Za potek oksidacije smo ga porabili 0,1235 g na 1 g vzorca lesa.

3.1.4 Raztopina natrijevega hipoklorita

V postopku oksidacije celuloze nam je natrijev hipoklorit služil kot primarni oksidant. Med postopkom oksidacije se je zaradi stika s kislino iz njega izločal klor. Za vsak vzorec smo porabili 3,714 mL raztopine natrijevega hipoklorita na 1g vzorca.

3.1.5 Cikloheksan

Cikloheksan je organsko topilo, ki ga v postopku pridobivanja nanoceluloze uporabljamo za izločitev napolarnih organskih komponent iz lesne mase. Cikloheksan je brezbarvna tekočina, ki ima vrelišče pri 79 °C. Njegova kemijska formula je C_6H_{12} .

3.1.6 Aceton

Aceton ali tudi propanon, je polarno, organsko topilo. Je brezbarvna tekočina, z vreliščem že pri 57 °C. Njegova kemijska formula je $CH_3(CO)CH_3$.

3.2 METODE

3.2.1 Odvzem kolotov

Izolacijo celuloze smo izvajali na osmih vzorcih, iz vsakega drevesa torej po štiri. Drevesi, ki smo ju uporabili v naši raziskavi, sta imeli oznaki 2 in 3. Iz vsakega debla smo izrezali kolot na prsni višini, ga označili s številko 1, ter pri vrhu, tega pa označili s številko 3.



Slika 1: Drevo 2, kolot 1 odvzet na prsni višini.



Slika 2: Drevo 2, kolot 3 odvzet pri vrhu drevesa.

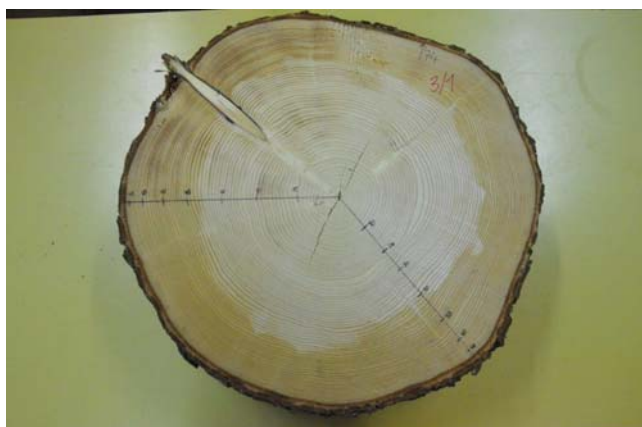
Na vsakem kolutu smo označili juvenilni les, ki je obsegal prvih deset branik, ter adultnega, ki smo mu pripisali zadnjih deset branik. Smreke so bile stare že okoli sedemdeset let, zato z razmejevanjem med striktno juvenilnim in striktno adultnim lesom nismo imeli večjih težav.



Slika 3: Označevanje vzorcev in razmejevanje adultnega in juvenilnega lesa



Slika 4: Primer označenega koluta 3/3, na kolutu so označene dekade.



Slika 5: Primer označenega vzorca 3/1, na kolutu so označene deкаде.

3.2.2 Razrez vzorcev

Vzorci smo razrezali v mizarski delavnici na Oddelku za lesarstvo. Na tračnem žagalnem stroju smo najprej ločili juvenilni in adultni les, nato pa razrez nadaljevali do reda velikosti 0,5 cm x 1 cm. Takšna velikost vzorcev namreč ustreza velikosti, ki je potrebna za nadaljnjo obdelavo na mlinu.



Slika 6: Kolut 3/3, razrez in izolacija juvenilnega in adultnega lesa.

3.2.3 Mletje

Razžagane vzorce smo mleli na laboratorijskem mlinu Retsch SM 2000. Odločili smo se za finost mletja 1 mm. Pri postopku mletja je najbolj pomembno, da se vzorci med seboj ne mešajo, zato je po vsakem mletju potrebno mlin temeljito očistiti. Po končanem mletju smo vzorce shranili v prahovke ter jih odnesli v kemijski laboratorij na nadaljnjo obdelavo.

3.2.4 Določevanje suhe snovi

Laboratorijskega dela smo se lotili tako, da smo vzorcem najprej določili delež suhe snovi. To smo storili tako, da smo osem tehtičev najprej posušili pri 105 °C. Tehtiče smo sušili približno 30 min, nato pa ohlajenega stehtali. V vsakega od tehtičev smo nato natresli približno 1 g vzorca in tehtič označili z ustrezno oznako. Tehtanje smo izvajali na analitski tehtnici Metter Toledo XS, tehtali pa smo na tri decimalke natančno. Polne tehtiče smo nato za 24 ur postavili v sušilnik in jih sušili pri 105 °C. Po zaključenem sušenju smo ohlajene tehtiče ponovno stehtali. Razlika v masi nam je predstavljala delež hlapnih snovi v vzorcih.

3.2.5 Ekstrakcija s cikloheksanom

Ekstrakcijo s cikloheksanom smo zastavili tako, da smo najprej v erlenmajerice zatehtali 30 g vzorca. V erlenmajerico smo dodali magnet za mešanje, nato pa ga prelili s 300 mL cikloheksana. Erlenmajerice smo nato postavili na grelno ploščo ter jih opremili s povratnimi vodnimi hladilniki. Grelne plošče smo prižgali in uravnali na temperaturo na okoli 80 °C. Na grelni plošči smo nastavili tudi mešanje vzorcev, s katerim smo pripomogli k boljšemu prenosu ekstraktivov iz lesa v topilo. Ekstrakcijo smo vodili 5 ur, nato pa smo vzorce prefiltrirali.



Slika 7: Ekstrakcija s cikloheksanom.

3.2.5.1 Filtriranje

Po končanem ekstrahiranju vzorcev je sledilo filtriranje. Vzorce je bilo potrebno kar se da dobro sprati z destilirano vodo, in na ta način iz njih izločiti čim več topila. Pri prvem prehodu skozi filter smo 10 mL filtrat zadržali za določanje vsebnosti ekstraktivnih snovi.

3.2.5.2 Določanje ekstraktivnih snovi po ekstrakciji s cikloheksanom

Kot že omenjeno, smo med postopkom filtracije pri vsakem vzorcu odvzeli 10 mL filtrata. Namen te operacije je bil ugotoviti, koliko topnih nepolarnih organskih snovi se je raztopilo v cikloheksanu. Postopek smo začeli tako, da smo za vsak vzorec pripravili epruveto in jo stehali na analitski tehtnici Metter Toledo XS. Meritev smo izvedli na tri decimalna mesta natančno. V vsako od epruvet smo nato nalili po 10 mL filtrata in jo označili z oznako vzorca. Ko smo pripravili vseh osem epruvet smo jih postavili v sušilnik na 105 °C. Vzorce smo v sušilniku pustili teden dni. V tem času je iz epruvete izhlapelo topilo, v epruveti pa so ostali samo nepolarne ekstraktivi. Epruvete smo še enkrat stehali in izračunali razliko v masi. S to razliko smo lahko preračunali, koliko mg topnih snovi se je raztopilo v 1 mL topila.

3.2.6 Ekstrakcija z acetonom

Postopka ekstrahiranja lesnega prahu z acetonom smo se lotili na enak način kot čiščenja z cikloheksanom. Lesni prah smo natresli v erlenmajerice, ga prelili s 300 mL acetona in čaše postavili na grelno ploščo. Zaradi nižjega vrelišča acetona smo tokrat temperaturo gretja nekoliko znižali. V zmes lesa in acetona smo dodali magnet za mešanje ter na erlenmajerice namestili povratni vodni hladilnik. Po petih urah ekstrakcije smo proces ustavili in vzorce prefiltrirali po enakem postopku kot pri čiščenju s cikloheksanom. Tudi tokrat smo pri vsakem vzorcu shranili 10 mL filtrata za kvantitativno določanje ekstraktivnih snovi.

3.2.6.2 Določanje ekstraktivnih snovi po ekstrakciji z acetonom

Ekstraktivne snovi po ekstrakciji z acetonom smo določili enako kot po ekstrakciji s cikloheksanom. Pripravili smo si osem epruvet, ki smo jih stehali in označili z oznako vzorca. V vsako epruveto smo nalili 10 mL filtrata in jih postavili v sušilnik na 105 °C. Po približno tednu dni smo epruvete ponovno stehali. Razlika v masi epruvet nam je predstavljala količino ekstraktivnih snovi v 10 mL filtrata, ki smo jo nato preračunali v mg/mL.

3.2.7 Delignifikacija in odstranitev hemiceluloz

Postopek odstranjevanja lignina in hemiceluloz smo ponovili dvakrat. Vzorce smo najprej podvrgli delignifikaciji, nato smo odstranili hemiceluloze in nato ponovili delignifikacijo. Po končanih postopkih ekstrakcije smo začeli z delignifikacijo. Najprej smo pripravili vodno kopel in jo segreli na 80 °C. Vzorce smo natresli v erlenmajerice s širokim vratom in sicer v vsako po natančno 10 g. Vsako od erlenmajeric smo označili z oznako vzorca in jih postavili na vodno kopel. Vzorcem smo dodali 20 mL 10% NaClO₂ in z 1 mL 98% očetne kisline. Dodajanje reagentov smo izvedli v petih ciklih, na eno uro. Po končanem zadnem ciklu smo vzorce vzeli z vodne kopeli in jih prefiltrirali. Za filtracijo smo uporabili enak postopek, kot je opisan že v prejšnjih poglavjih.



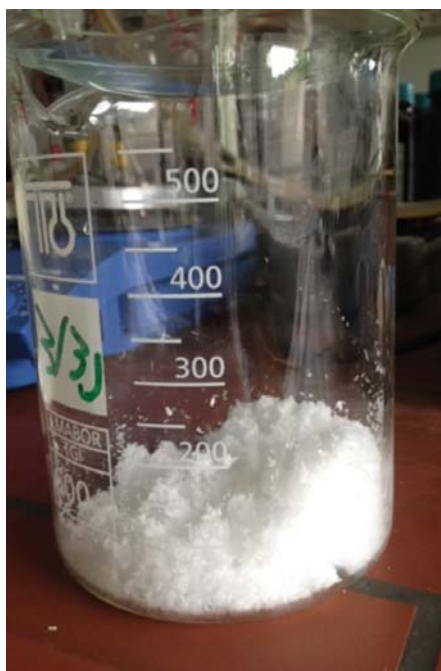
Slika 8: Erlenmajerice na vodni kopeli med postopkom delignifikacije

Druga faza pridobivanja čiste celuloze je bila odstranjevanje hemiceluloz. Vzorce smo zopet postavili na vodno kopel, ki smo jo tokrat segreli na 70 °C. Vsakemu vzorcu smo dodali 100 mL 10% NaOH in jih za 4 ure pustili na kopeli. Vzorce smo nato znova prefiltrirali.

Tretja faza je bila ponovno kemična obdelava z bazičnimi reagenti. Vzorce na vodni kopeli smo tokrat prelili s 100 mL 17% NaOH in jih pri 70 °C ponovno pustili 4 ure. Tokrat pa smo morali biti bolj natančni pri postopku filtriranja. Vzorcem smo namreč morali znižati pH na 7. Ker smo vzorce prej tretirali z bazami, smo pri spiranju uporabili 1 M očetno kislino. Vzorcem smo po vsakem ciklu spiranja izmerili pH z lakmusovim papirjem. Če je test pokazal pH višji od 7, smo postopek spiranja ponovili.

V zadnji fazi odstranjevanja lignina in hemiceluloz smo vzorce ponovno tretirali z natrijevim kloritom. Postavili smo jih na vodno kopel, ki je bila nastavljena na 80 °C. Dolili smo jim 50 mL 10% NaClO₂ ter 2 mL 98% očetne kisline. Reagente smo ponovno dodajali v petih ciklih na eno uro.

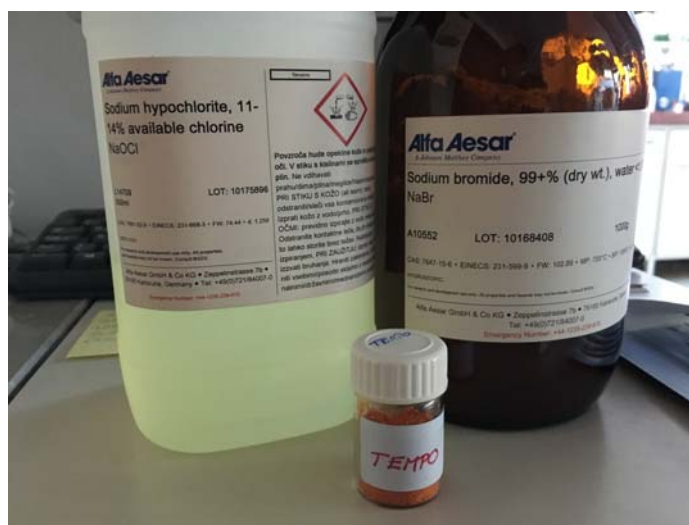
Po zaključenih fazah odstranjevanja lignina in hemiceluloz smo iz naših vzorcev dobili čisto belo α -celulozo. Končni produkt smo nato razdelili na dva dela. Prvi del smo posušili v sušilniku pri 105 °C, nato pa ga stekali. Z dobljeno maso smo lahko preračunali, koliko odstotkov mase v lesu predstavlja celuloza. Drugi del pa smo pustili v zmesi z vodo, kajti sušenje celuloze predstavlja možnost nastanka vodikovih vezi, ki bi nam lahko povzročale težave pri kasnejši mehanski obdelavi celuloznih vlaken do nano fibril celuloze.



Slika 9: Pridobljena α -celuloza

3.2.8 TEMPO oksidacija

Postopek TEMPO oksidacije smo pričeli tako, da smo 3,5 g suhe α -celuloze natresli v čašo in prelili s 300 mL destilirane vode. Nato smo na stojalo vpeli trogrlo bučko opremljeno z mehanskim mešalom (IKA RW 20 digital). Ko se je celuloza nekoliko namočila, smo zmes vlili v bučko in čašo sprali še z 200 mL destilirane vode. Mešalo smo nastavili na 300 rpm in pričeli z mešanjem. Med tem, ko se je celulozna zmes mešala, smo na analitični tehtnici Mettler Toledo XS zatehtali najprej 0,4375 g natrijevega bromida (NaBr), nato pa še 0,04375 g TEMPO reagenta.



Slika 10: Natrijev hipoklorit, natrijev bromid in TEMPO reagent

Reagente smo natehtali v merilno ladjico, iz katerih smo jih nato vsuli v bučko z vzorcem. Ladjici smo sprali z destilirano vodo in s tem omogočili, da je vsak kristal reagenta pristal v našem vzorcu. V vzorec smo nato nalili še 13 mL natrijevega hipoklorida (NaClO) in namestili še pH meter (METTER TOLEDO SevenEasy). pH meter nam je v trenutku pokazal vrednost okoli 13, zato smo morali pH znižati. Optimalni pH za potek reakcije je med 10 in 10,1. V zmes smo zato dodali nekaj kapljic 1 M HCl in s tem zagotovili optimalni pH. V nadaljevanju postopka se nam je pH zaradi poteka reakcije neprestano nižal. Optimalni nivo smo vzdrževali tako, da smo v zmes po kapljicah dodajali 0,5 M NaOH . Naslednjih 40 min smo na ta način vzdrževali konstantni pH med 10 in 10,1. Znak za konec poteka reakcije je bila konstantna vrednost pH, in sicer 10. Po končani reakciji smo reakcijski zmesi znižali pH na vrednost 7. To smo naredili tako, da smo v zmes počasi dodajali 1 M HCl , dokler nismo prišli do željene vrednosti. Ko se nam je pH ustalila na vrednosti 7, smo izklopili mešanje in zmes prefiltrirali. Dobljeno TEMPO oksidirano celulozo smo shranili v temne stekleničke in prelili z 200 mL destilirane vode.



Slika 11: Trogrla bučka opremljena z mehanskim mešalom in pH metrom med potekom reakcije TEMPO oksidacije

3.2.9 Konduktometrična titracija

Konduktimetrično titracijo smo izvedli z namenom ugotavljanja vsebnosti karbonilne skupine, ki je prisotna v karboksilnih in aldehidnih funkcionalnih skupinah v TEMPO oksidiranih celuloznih vlaknih. Postopek smo izvedli tako, da smo 10 mL vodne suspenzije celuloze dodali 40 mL destilirane vode. Vzorec smo nato namestili na titrator Mettler Toledo T50. V vzorec smo namestili sondu za merjenje upornosti InLab 718 in postopek nadaljevali po vnaprej predpisanem programu. Titrator je v vzorec najprej dodal 30 mL 0,1 M klorovodikove kisline (HCl), nato pa zmes začel titrirati z 0,1 M raztopino natrijevega hidroksida (NaOH). Med titracijo poteka reakcija nevtralizacij med bazo in kislino in se spreminja koncentracija ionov. Ioni se v prevodnosti nekoliko razlikujejo, zato je tudi v prevodnosti zmesi prišlo do rahlih sprememb, ki smo jih neprestano spremljali. Po dobljenih rezultatih prevodnosti in porabljenega natrijevega hidroksida smo lahko grafično izračunali vsebnost karboksilnih skupin. (Levanič, 2015)



Slika 12: Konduktometer Metter Toledo T50

3.2.10 Mehanska obdelava

Mehansko obdelavo vzorcev smo se lotili v dveh fazah. V prvi fazi smo vzorce obdelali na ultraturaksu (IKA ULTRA TURRAX T25 digital), v drugi pa z ultrazvokom. Na ultraturaksu smo vsak vzorec izpostavili močnemu trenju v sedmih ciklih po 1 min, na ultrazvoku pa smo vzorce tretirali v petih ciklih po 30 s (Levanič, 2015).



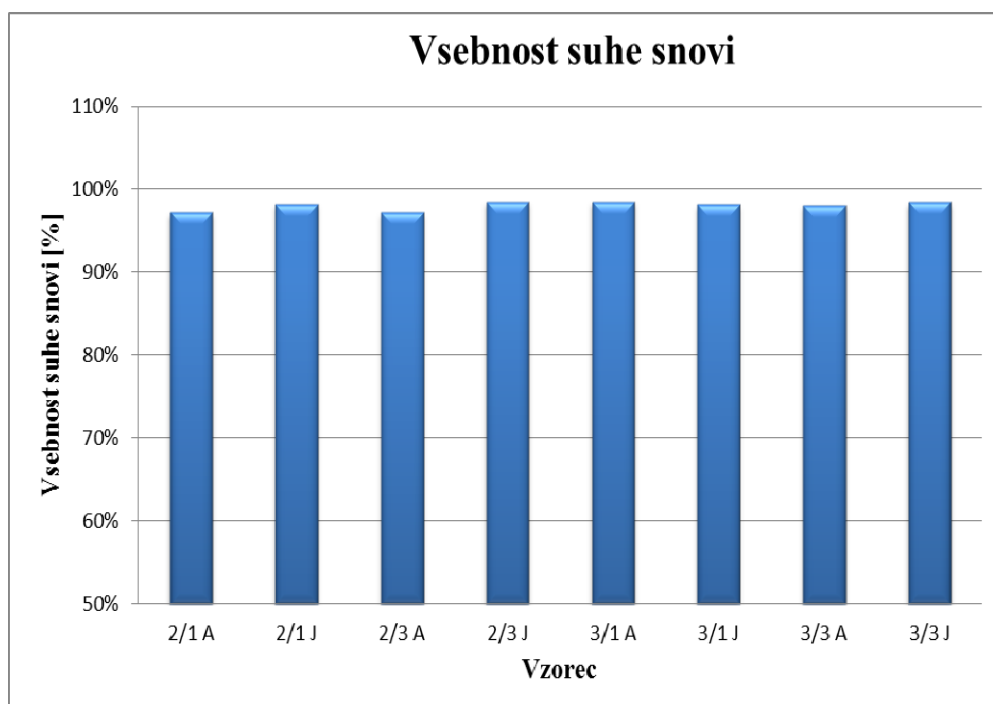
Slika 13: Mehanska obdelava TEMPO oksidirane celuloze z ultraturaksom.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 MASNE BILANCE

V predstavitev masnih bilanc smo vključili kratek pregled vsebnosti suhe snovi, ekstraktivnih snovi ter maso, ki jo v lesu predstavlja celuloza. Dobljeni rezultati nam predstavljajo informacije o tem, s kakšnim materialom smo imeli opravka.

4.1.1 Vsebnost suhe snovi

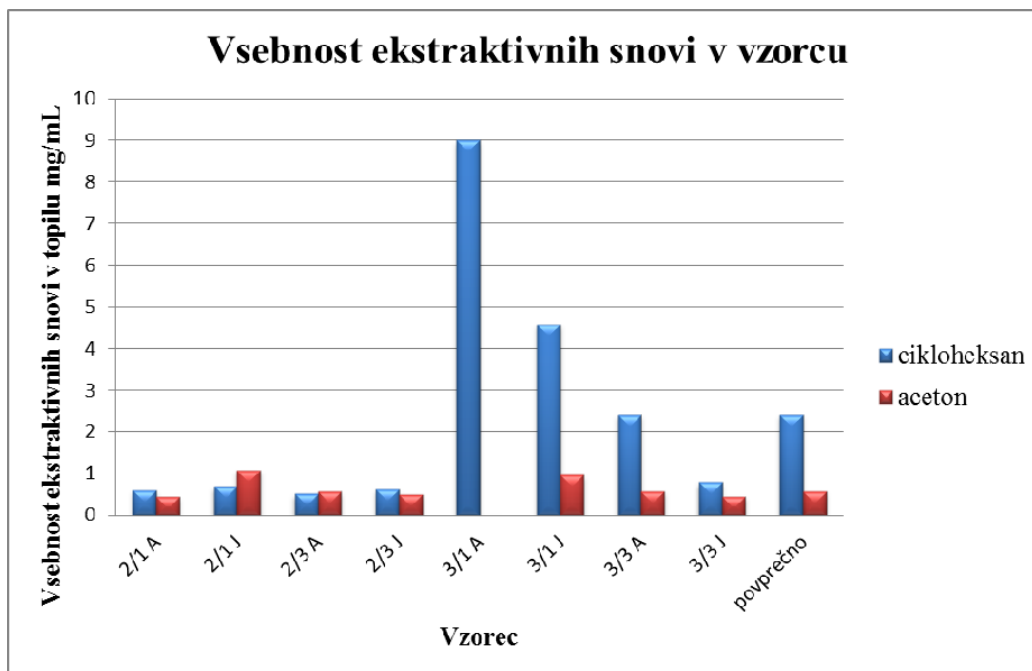


Slika 14: Grafikon vsebnosti suhe snovi v preučevanih vzorcih juvenilnega in adultnega lesa. Pomen oznak na primeru 2/1 A: prva številka je oznaka drevesa, druga je oznaka višine, na kateri je odvzet kolot, A pomeni adultni les.

Suho snov smo vzorcem določali gravimetrično. Kot je razvidno iz grafikona, se vsebnost suhe snovi ni bistveno razlikovala glede na juvenilni ali adultni les. Vzorci so v povprečju vsebovali 98% suhe snovi.

4.1.2 Vsebnost ekstraktivnih snovi topnih v cikloheksanu in acetonu

Pri drevesu št. 3 smo pri vseh preučevanih vzorcih zasledili bistveno večjo vsebnost ekstraktivnih snovi, ki so bile topne v cikloheksanu, kot pri drevesu št.2.



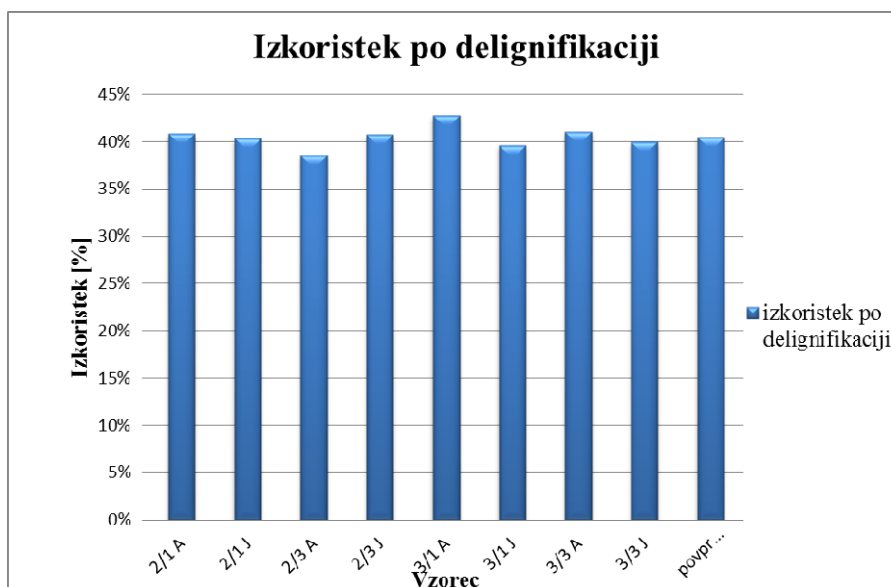
Slika 15: Grafikon ekstraktivnih snovi topnih v cikloheksanu in acetonu

Grafikon količine ekstraktivnih snovi, ki smo jih dobili iz lesa z ekstrakcijo z organskimi topili, nam prikazuje zelo zanimivo sliko. Opazimo lahko, da so v prvem drevesu na obeh vzorcih ekstraktivne snovi razporejene dokaj enakomerno. Tako pri juvenilnem, kot pri adultnem lesu, je količina ekstraktivnih snovi, ki smo jih iz lesa izolirali, nekje med 0,5 mg/mL in 1 mg/mL. Približno enaka količina ekstraktivov se je raztopila tako v cikloheksanu kot v acetonu.

Pri drugem drevesu pa opazimo popolnoma drugačno sliko. Količina ekstraktivnih snovi, raztopljenih v topilu variira od 0,5 mg/mL do 9 mg/mL. Sklepamo lahko, da je bilo drevo na prsni višini nekoliko poškodovano in je zato tvorilo toliko več ekstraktivov. Omeniti moramo tudi, da smo pri tehtanju vzorca 3/1 A naredili napako, katere posledica je pomenila, da nismo zaznali raztopljenih snovi v acetonu.

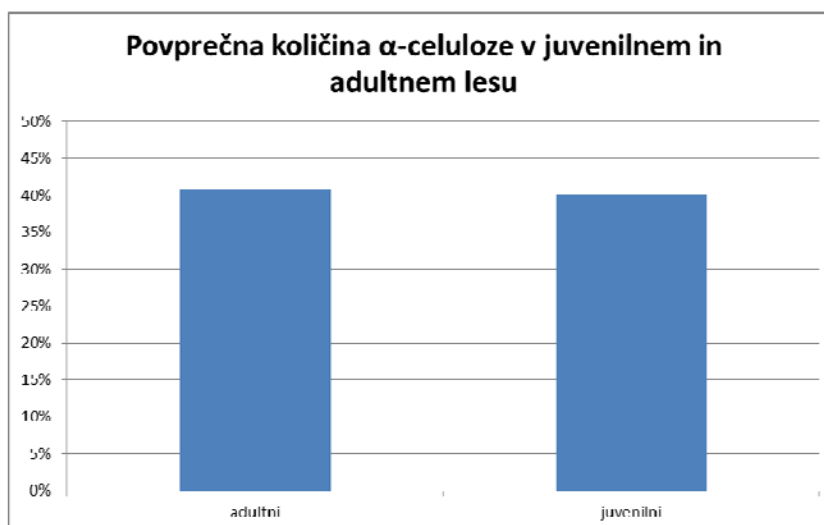
Izolacijo ekstraktivov smo delali po postopku običajne ekstrakcije. Glede na rezultate, ki smo jih dobili in glede na relativno veliko sipanje vsebnosti ekstraktivnih snovi topnih v cikloheksanu in acetonu, predlagamo, da se v prihodnje preizkusi postopek Soxhletove ekstrakcije.

4.1.3 Količina α -celuloze po delignifikaciji in odstranitvi hemiceluloz



Slika 16: Vsebnost α -celuloze v posameznih preučevanih vzorcih.

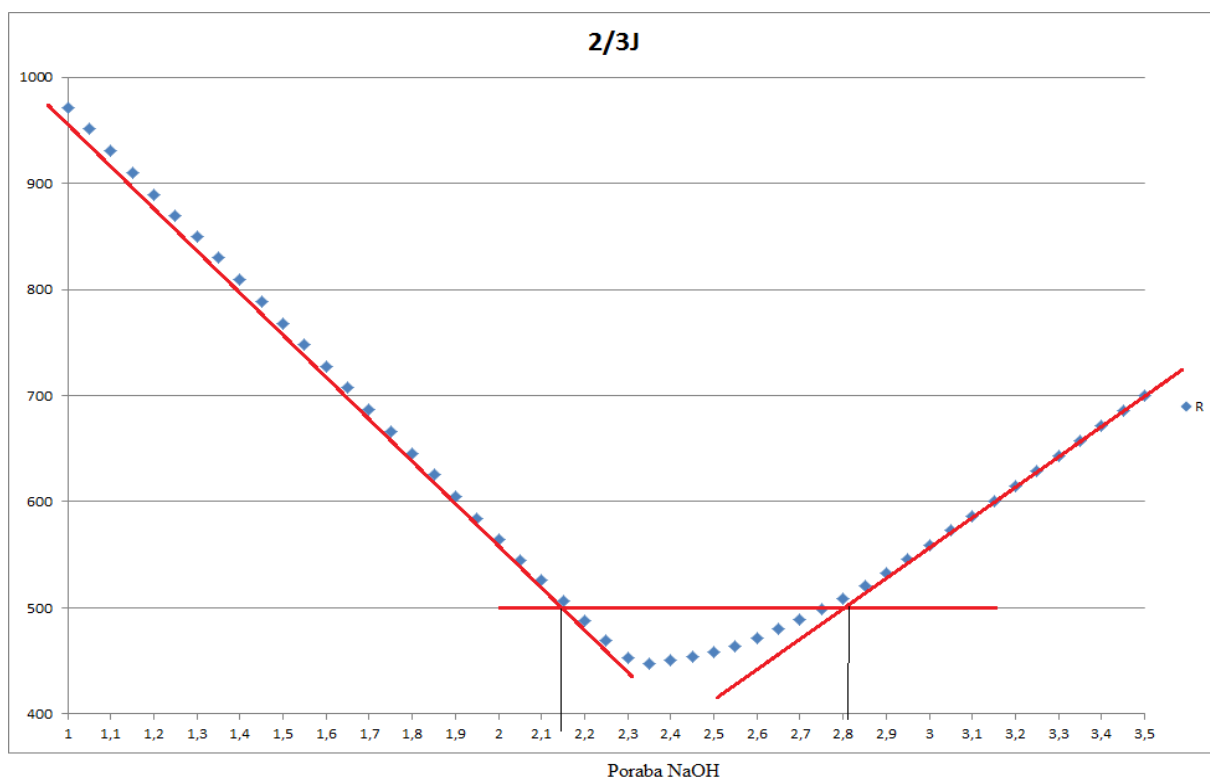
Izračun izkoristka po delignifikaciji predstavlja količino α -celuloze v lesni masi. Po čiščenju vzorcev z organskimi topili so celotno lesno maso predstavljali le še lignin, hemiceluloze in celuloza. Ko smo se prvih dveh znebili z obdelavo z oksidantom ob prisotnosti kisline in bazami, nam je ostala le še celuloza, ki jo imenujemo α -celuloza. Potrebno je poudariti, da bi za popolnoma čisto celulozo morali postopek delignifikacije in odstanjevanja hemiceluloz še nekajkrat ponoviti. Pri vseh teh postopkih še vedno ostane prisotnega nekaj lignina in nekaj hemiceluloz, prav tako pa se del celuloze tudi razgradi. Iz grafikona je razvidno, da je celuloza v vseh vzorcih predstavljala približno enak odstotek mase. Povprečna vrednost za adultni les je znašala 41 %, za juvenilni pa 40%.



Slika 17: Povprečna vsebnost α -celuloze v juvenilnem in adultnem lesu. V vsebnosti celuloze med adultnim in juvenilnim lesom ni bilo razlike.

4.2 KONDUKTOMETRIČNA TITRACIJA

S konduktometrično titracijo smo preverili kakšna je količina karbonilne skupine in sicer v kislinski in aldehydni obliki, v vzorcih TEMPO-oksidirane celuloze. Rezultate dobljene analize smo vnesli v ustrezen program in narisali grafikone in iz njih grafično določili porabo NaOH za karbonilne skupine. Sprva se NaOH porablja za nevtralizacijo dodane kisline, pri tem prevodnost linearno pada. Prevoj premice nakazuje porabo NaOH za nevtralizacijo karbonilnih skupin, pri čemer pa se prevodnost bistveno ne spreminja. Ko so nevtralizirane vse karbonilne skupine, prevodnost raztopine ponovno narašča, kar se kaže v linearno naraščajoči premici zaradi prebitka dodanega NaOH.



Slika 18: Primer grafične določitve porabe NaOH pri konduktometrični titraciji.

Dobljene grafično določene rezultate smo nato vnesli v tabelo in izračunali koncentracijo karbonilnih skupin po formuli:

Koncentracija = poraba NaOH / masa vlaken

Preglednica 1: Rezultati konduktometrične titracije

Vzorec	Masa vlaken [g]	Poraba NaOH [mL]	Koncentracija COOH in CHO skupin [mmol/g]
3/3A	0,03	0,8	29,85
2/1 A	0,08	1,2	14,48
2/1J	0,04	0,9	20,88
3/3J	0,04	1,1	26,51
3/1A	0,03	0,75	25,68
2/3A	0,04	0,85	23,16
2/3J	0,04	0,75	20,55
3/1J	0,03	0,5	16,89

Povprečna koncentracija karbonilnih skupin v vzorcih je znašala 22,25 mmol/g. S konduktometrično titracijo smo ugotovili relativno visoko koncentracijo karbonilnih skupin. Predpostavljamo, da je vzrok za tako visoko koncentracijo karbonilnih skupin še vedno relativno visoka vsebnost lignina in hemiceluloz v α -celulozi. Lignin in hemiceluloze vsebujejo veliko skupin, ki jih TEMPO reagent lahko oksidira. Odvisno od dostopnosti končnih skupin variirajo tudi izračunane koncentracije karbonilnih skupin, tako karboksilne oziroma aldehidne funkcionalne skupine.

4.3 MAKROSKOPSKI PREGLED MATERIALA PO VSAKI FAZI OBDELAVE

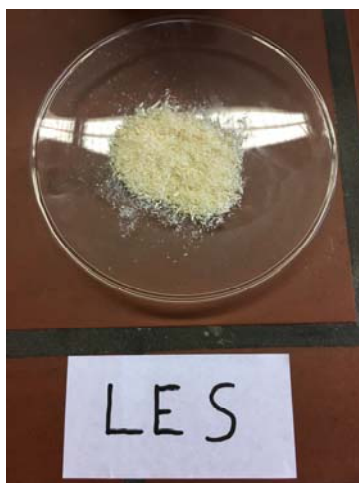
Na sliki 19 so primerjalno prikazana vhodna surovina in produkti, ki smo jih pridobili po vsaki stopnji predelave.



Slika 179: Makroskopski prikaz vhodne surovine in produktov po vsaki fazi obdelave.

4.3.1 Zmlet lesni prah

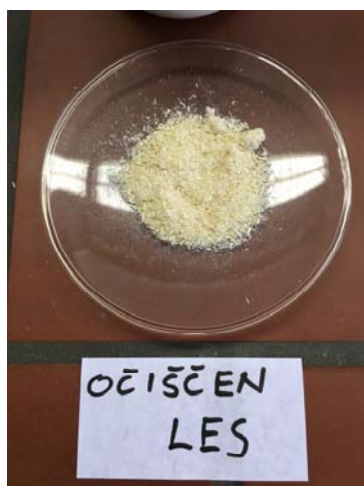
Vzorci smo zmleli po metodi, kot je opisana na začetku naloge. Pridobili smo lesni prah z maksimalno velikostjo delcev 1 mm. Vzorci so bili dokaj homogeni. Juvenilni in adultni vzorci se med seboj niso dosti razlikovali. Glede na rezultate in izkušnje, ki smo jih pridobili pri eksperimentalnem delu, bi bilo smiselno les zmleti na še bolj fine delce.



Slika 20: Zmlet les preučevanih vzorcev, velikosti 1 mm.

4.3.2 Ekstrahirani lesni prah

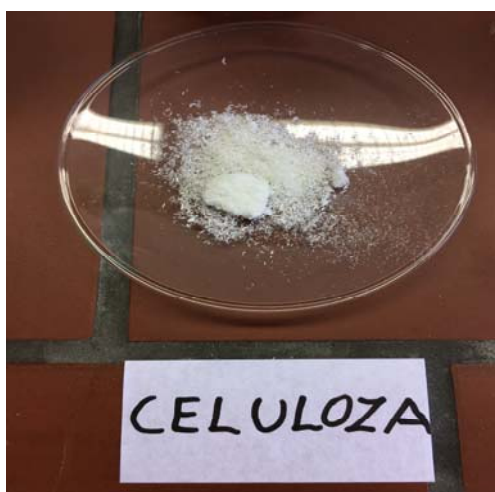
Že prvi pogled na lesni prah, očiščen s cikloheksanom in acetonom nam pokaže, da smrekov les vsebuje veliko ekstraktivnih snovi, ki so topne v teh dveh topilih. Ekstrahiran lesni prah je na videz bolj bel od neekstrahiranega lesnega prahu.



Slika 181: Les, ki smo ga ekstrahirali najprej z cikloheksanom, nato pa z acetonom, se je razlikoval od vhodnega materiala po barvi in nekoliko tudi po teksturi, saj je bil bolj praškast.

4.3.3 α -celuloza

Po opravljenem postopku delignifikacije in odstranitve hemiceluloz smo iz vhodnega materiala dobili α -celulozo. Termin α -celuloza pomeni, da material še vedno vsebuje nekaj hemiceluloz in lignina, vendar v njem v veliki meri prevladuje celuloza. Produkt kemične obdelave delignifikacije in odstranitve hemiceluloz je bel prah. Vlakna so v veliki meri nekoliko dezintegrirana, vendar še vedno ohranjajo prvotno obliko. Pri kasnejši mehanski obdelavi smo ugotovili, da uporabljeni postopek vlakna ni razslojil do te mere, da bi lahko celoten vzorec mehansko razbili do nano nivoja.



Slika 22: α -celuloza. Fin belkast prah, v katerem je bilo mogoče s prostim očesom prepoznati posamezne vlaknaste fragmente.

4.3.4 TEMPO oksidirana celuloza

Celulozni prah smo po že opisani metodi oksidirali. S tem postopkom smo vlakna nekoliko »zmehčali« in s tem pripomogli k lažji nadaljnji obdelavi. Z reagentom TEMPO oksidiramo celulozne hidroksilne skupine v prvi fazi do aldehydskih in v drugi stopnji do kislinskih funkcionalnih skupin. Poleg tega se zniža tudi molekulska masa celulozskih vlaken in fibril, saj pride tudi do razklopa amorfnih področji in s tem do cepitve celulozskih verig oziroma fibril. TEMPO oksidirano celulozo smo shranili v vlažnih pogojih in s tem preprečili nastanek vodikovih vezi.



Slika 23: TEMPO oksidirana celuloza v vodnem mediju.

4.4 MIKROSKOPSKI PREGLED MATERIALA

Z mikroskopskim pregledom smo se osredotočili predvsem na razliko med končnim produktom, ki je bil med postopkom sušen, in med tistim, ki ga nikoli nismo sušili. Končni produkt je v našem primeru predstavljala TEMPO oksidirana celuloza, ki smo jo nato še mehansko obdelali, vendar pa so, kljub vsem našim poizkusom, vlakna v materialu ostala prevelika za poimenovanje nanoceluloza.

4.4.1 Sušena TEMPO oksidirana celuloza

Slika 24 prikazuje vzorec TEMPO oksidirane celuloze iz juvenilnega lesa vzorca 2/3, ki je bil že izmenično mehansko obdelan z ultrazvokom in ultraturaksom.

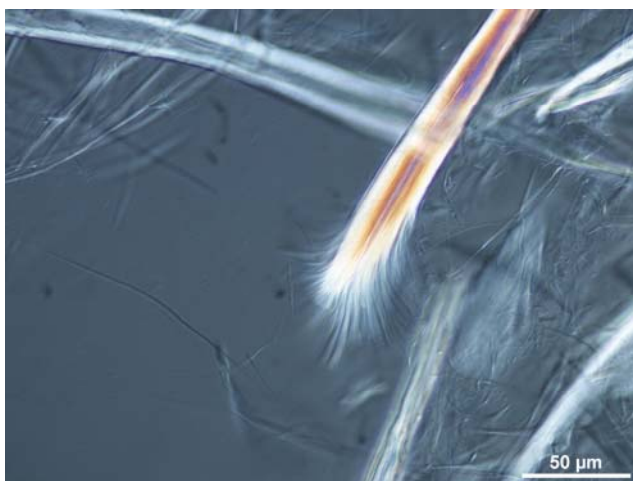


Slika 194: Vzorec TEMPO oksidirane celuloze juvenilnega lesa vzorca 2/3. V vzorcu je mogoče prepoznati različno velike vlaknaste delce ter fragmente, ki so daljši od 500 μm , fragmente celične stene in tudi komaj vidne dele vlaken. Opazili smo tudi gelasto snov, ki pa jo z svetlobnim mikroskopom ni bilo mogoče vizualizirati.

Opazimo lahko, da je velikost delcev v materialu zelo raznolika. Manjši delci so veliki le nekaj mikrometrov, medtem, ko so nekatera vlakna dolga tudi do enega milimetra. Prepričani smo, da je v materialu tudi nekaj delcev, ki smo jih dezintegrirali do nano nivoja, vendar so v manjšini in jih s 4x povečavo ne vidimo. Tudi samo obnašanje materiala nam govori da so delci celuloze preveliki. Že ob krajšem mirovanju se večina materiala posede na dno stekleničke, v kateri ga shranjujemo.

Pri podrobnejšem mikroskopskem pregledu smo material pobarvali z astra-modro, ki obarva celulozo z modro barvo, ter safraninom, ki obarva lignin na rdeče. Rdeča barva nakazuje na prisotnost lignina. Prisotnost le-tega pomeni, da postopki delignifikacije, ki smo jih izvajali, niso bili zadostni za odstranitev vsega lignina. Prisotnost lignina in hemiceluloz smo predpostavili že na podlagi konduktometrične titracije.

Slika 25 prikazuje značilno porušitev vlaken, ki je nastopila zaradi obdelave na ultraturaksu. Na sliki je mogoče videti razplastitev celične stene, praktično do posameznih makrofibril.



Slika 205: Izgled porušitve v celuloznem vlaknu, zaradi mehanske obdelave. Fotografija je zajeta pri polarizirani svetlobi.

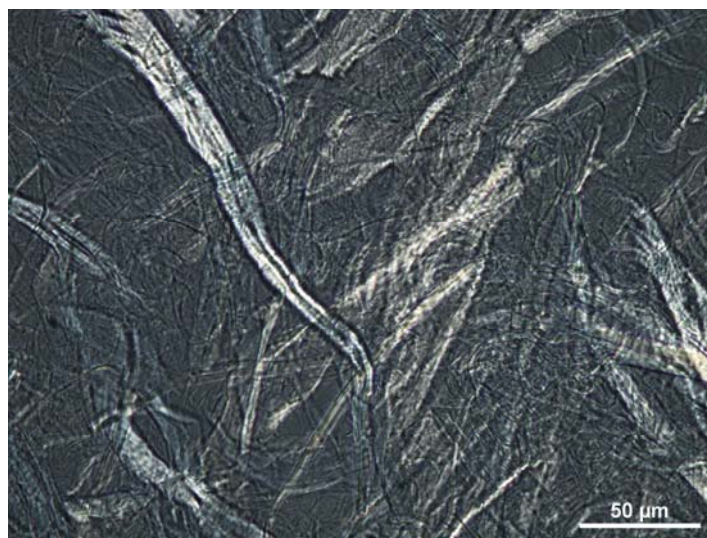
4.4.2 Nikoli sušena TEMPO oksidirana celuloza

Pri nikoli sušeni celulozi je rezultat TEMPO oksidacije in mehanske obdelave nekoliko boljši. Zaradi manjše tvorbe vodikovih vezi smo material lahko mehansko bolj obdelali.



Slika 216: Nikoli sušena, TEMPO oksidirana celuloza. Zmes še vedno vsebuje fragmente celuloznih vlaken, ki pa so bistveno krajši, kot v primeru sušene celuloze.

Slika 26 nam nazorno prikazuje, da smo vlakna v nikoli sušeni celulozi uspeli dezintegrirati na maksimalno dolžino 200 mikro metrov, kar je dvakrat manj, kot v prvem primeru. Opazimo lahko tudi ogromno delcev manjših dimenzij (Slika 27). Brez dvoma se v tej zmesi nahajajo tudi nano delci, vendar je le teh premalo, da bi nastal gel, značilen za nanofibrilirano celulozo.



Slika 27: V nikoli sušeni TEMPO celulozi se je močno povečal delež zelo fino razplastenih vlaken.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

V diplomski nalogi smo želeli podrobneje predstaviti laboratorijsko metodo za pridobivanje nanoceluloze. Ne glede na to, da nam do končnega produkta ni uspelo priti v takšnem merilu, kot smo načrtovali, smo postopek do potankosti raziskali in ugotovili, kaj lahko še izboljšamo in kaj so morda razlogi, ki so oteževali produkcijo nanoceluloze.

Z našo raziskavo smo potrdili dve predpostavljene hipotezi:

- Končni produkt se glede na vhodno surovino ni razlikoval
- Izolacija nanoceluloze je lažja, če material obdelamo z oksidacijskimi reagenti (TEMPO)

Največji problem pri pridobivanju materiala je predstavljala prevelika dimenzija vlaken. Ne glede na temeljito delignifikacijo ter odstranitev hemiceluloz, in nato tudi oksidacijo z reagentom TEMPO, nam z mehansko obdelavo, dimenzij večine vlaken ni uspelo zmanjšati na nano nivo. Razlog za to smo po temeljiti preučitvi postopka pripisali dvema napakama. Najprej smo napako spoznali v sušenju celuloze med postopkom obdelave. V tej fazi so se med že nekoliko načetimi fibrilami celuloze začele tvoriti močne vodikove vezi, ki so material močno in ireverzibilno povezale. To pomanjkljivost smo poskušali odpraviti tako, da smo postopek ponovili tako, da smo les od začetka pa do konca obdelave shranjevali v vlažnih pogojih. Ker nam tudi po tem postopku večine vzorca ni uspelo predelati do nano velikostnega reda, smo nadaljevali s kritično oceno postopka.

Po tehtnem razmisleku smo prišli do zaključka, da smo material morda preslabo »očistili« z organskimi topili. Ker je bil material od začetka do konca ekstrakcije izpostavljen bolj ali manj z ekstraktivi nasičenemu topilu je mogoče, da v fazi ekstrakcije nismo uspeli opraviti temeljite odstranitve ekstraktivov. Za izboljšavo tega postopka bi predlagali ekstrakcijo na Soxletovem aparatu, kjer na lesno masa kaplja vedno sveže topilo in s tem omogoči bolj učinkovito ekstrahiranje.

Kljub zgoraj naštetim razlogom, za katere mislimo, da so razlog za skromen končni rezultat, pa menimo, da je zelo pomembno tudi stanje vhodne surovine. Koluti, ki smo jih izbrali za pridobivanje vzorcev, so namreč vsebovali veliko reakcijskega lesa. V iglavcih je ta reakcijski les kompresijski, zanj pa je značilno, da ima zelo veliko vsebnost lignina in zelo majhno vsebnost celuloze, za nameček pa je tudi struktura lignina drugačna kot v normalnem lesu. Domnevamo, da je to razlog, da je v našem materialu, kljub temeljiti delignifikaciji, ostalo kar nekaj lignina, ki je onemogočil oziroma otežil dezintegracijo celuloznih vlaken fibril na manjše enote oziroma fibrile.

5.1 SKLEPI

Raziskava potenciala juvenilne in adultne smrekovine za pridobivanje nanofibrilirane celuloze je razkrila:

- Vsebnost suhe snovi je bila v vzorcih adultne in juvenilne smrekovine preučevanih dreves primerljiva.
- Vsebnost ekstraktivov je bila pri preučevanih drevesih različna. Pri drevesu št. 3 je bilo lipofilnih ekstraktivov v povprečju več, kot pri drevesu št. 2. vsebnost hidrofilnih ekstraktivov pa se ni bistveno razlikovala.
- Vsebnost α -celuloze je bila v adultnem lesu št.3 nekoliko večja, kot v juvenilnem lesu. Pri drevesu št. 2 ni bilo bistvenih razlik v izkoristku po delignifikaciji in odstranitvi hemiceluloz med juvenilnim in adultnim lesom.
- Delignifikacija lesne mase je neglede na vhodni material potekala enako
- Konduktometrična titracija je pokazala, da je bila TEMPO oksidacija α -celuloze uspešna.
- Koncentracija oksidiranih skupin je bila pri drevesu št. 3 v povprečju večja (24,73 mmol/g), kot pri drevesu št. 2 (19,77 mmol/g).
- S postopki odstranitve lipofilnih in hidrofilnih ekstraktivnih snovi, delignifikacije, odstranitve hemiceluloz, TEMPO oksidacijo ter mehansko obdelavo z ultraturaksom in ultrazvokom smo iz adultne in juvenilne smrekovine uspeli pridobiti suspenzijo, ki je vsebovala celulozna vlakna, fragmente celuloznih vlaken in fragmente njihovih celičnih sten ter zelo majhne delce, ki so formirali gel.
- Z opisanimi postopki smo uspeli pridobiti gel, ki je vizualno izkazoval značilnosti gela, ki je sicer značilen za nanofibrilirano celulozo, vendar je bil delež tega materiala izjemno skromen.
- Končni produkt se glede na vhodno surovino ni razlikoval.
- Postopek je mogoče izboljšati z izborom vhodnega materiala, finejšim mletjem, učinkovitejšo ekstrakcijo nizkomolekularnih spojin, temeljitejšo delignifikacijo in odstranitve hemiceluloz ter dolgotrajno mehansko obdelavo, izmenično z ultraturaksom in ultrazvokom.

6 POVZETEK

Raziskali smo možnost izolacije nanoceluloze iz juvenilne in adultne smrekovine. Cilji naloge so bili:

- izolacija nanoceluloze iz juvenilnega in adultnega lesa smreke
- opis postopka izolacije nanoceluloze
- primerjava dobljene surovine glede na vhodni material

V raziskavo smo vključili dve drevesi, ki smo jih posekali in odžagali kolute. Kolute smo nato razrezali tako, da smo v njih ločili adultni in juvenilni les. Vzorce smo nato zmleli, lesni prah pa kemično in mehansko obdelali.

Raziskava potenciala juvenilne in adultne smrekovine za pridobivanje nanofibrilirane celuloze je razkrila:

- Vsebnost suhe snovi je bila v vzorcih adultne in juvenilne smrekovine preučevanih dreves primerljiva
- Vsebnost ekstraktivov je bila pri preučevanih drevesih različna. Pri drevesu št. 3 je bilo lipofilnih ekstraktivov v povprečju več, kot pri drevesu št. 2. vsebnost hidrofilnih ekstraktivov pa se ni bistveno razlikovala.
- Vsebnost α -celuloze je bila v adultnem lesu št.3 nekoliko večja, kot v juvenilnem lesu. Pri drevesu št. 2 ni bilo bistvenih razlik v izkoristku po delignifikaciji in odstranitvi hemiceluloz med juvenilnim in adultnim lesom.
- Delignifikacija lesne mase je neglede na vhodni material potekala enako
- Konduktometrična titracija je pokazala, da je bila TEMPO oksidacija α -celuloze uspešna.
- Koncentracija oksidiranih skupin je bila pri drevesu št. 3 v povprečju večja (24,73 mmol/g), kot pri drevesu št. 2 (19,77 mmol/g).
- S postopki odstranitve lipofilnih in hidrofilnih ekstraktivnih snovi, delignifikacije, odstranitve hemiceluloz, TEMPO oksidacije ter mehansko obdelavo z ultraturaksom in ultrazvokom smo iz adultne in juvenilne smrekovine uspeli pridobiti suspenzijo, ki je vsebovala celulozna vlakna, fragmente celuloznih vlaken in fragmente njihovih celičnih sten ter zelo majhne delce, ki so formirali gel.
- Z opisanimi postopki smo uspeli pridobiti gel, ki je vizualno izkazoval značilnosti gela, ki je sicer značilen za nanofibrilirano celulozo, vendar je bil delež tega materiala izjemno skromen.
- Končni produkt se glede na vhodno surovino ni razlikoval.
- Postopek je mogoče izboljšati z izborom vhodnega materiala, finejšim mletjem, učinkovitejšo ekstrakcijo nizkomolekularnih spojin, temeljitejšo delignifikacijo in odstranitvijo hemiceluloz ter dolgotrajno mehansko obdelavo, izmenično z ultraturaksom in ultrazvokom.

7 VIRI

- Brus R. 2005. Dendrologija za gozdarje. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire: 408 str.
- Čufar K. 2006. Anatomija lesa-univerzitetni učbenik. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 185 str.
- Kamel S. 2007. Nanotechnology and its applications in lignocellulosic composites, a mini review. Express polymer letters, 1: 546-575
- Levanič J. 2015. Funkcionalizacija nanofibrilirane celuloze z reagentom tempo. Magistrska naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 71 str.
- Tišler V. 1986. Kemija lesa. Interna skripta. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 15 str.
- ZGS. 2012/2013. GGS načrt. Jezersko. Zavod za gozdove Slovenije: 142-143 str.

ZAHVALA

Iskreno bi se rad zahvalil mentorici doc. dr. Idi Poljanšek za izredno dobro vodenje in potrpežljivost pri razlagi kemijskih postopkov in vedenja v laboratoriju. Prav tako sem ji hvaležen za sprotno pregledovanje pisnega dela naloge in popravljanje mojih mnogih vsebinskih in pravopisnih napak.

Za temeljiti pregled in pomoč pri tolmačenju nekaterih rezultatov se zahvaljujem somentorju dr. Viljemu Veku.

Za pomoč v laboratoriju in za deljenje velike količine znanja o kemiji lesa bi se rad zahvalil mag. Jaki Levaniču.

Zahvalil bi se rad tudi sošolcu Alenu Bonifartiju, s katerim sva zaradi podobne teme diplomske naloge veliko sodelovala pri izvajanju kemijskih postopkov čiščenja ter delignifikacije.

Za hitro in temeljito recenzijo se zahvaljujem prof. dr. Primožu Ovnu.

Zadnja, a zato nič manj vredna zahvala pa gre seveda staršema Vidi in Bojanu Pongracu ter starima staršema Mariji in žal pokojnemu Petru Pongracu, ki so mi nudili moralno ter predvsem finančno podporo potrebno za nemoten študij.

Hvala vam!