



STRUČNI RAD / PROFESSIONAL PAPER

Proizvodnja nanoceluloze iz lignoceluloznih sirovina

Nanocellulose production from lignocellulosic raw materials

Tonči Rezić^{1*}, Maria Drdić¹, Ines Radić¹, Ana Vrsalović Presečki²¹Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb, Hrvatska²Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Trg Marka Marulića 19, 10000 Zagreb, Hrvatska

*Corresponding author: trezic@pbf.hr

Sažetak

Nanoceluloza je prirodan i biorazgradiv materijal koji se dobiva iz obnovljivih lignoceluloznih sirovina kao što su drvena biomasa, poljoprivredni ostaci i ostaci iz proizvodnje celuloze i papira. U posljednje vrijeme nanoceluloza kao zeleni materijal modernog doba zadobiva sve veći interes zbog svojih atraktivnih karakteristika kao što su izvrsna mehanička svojstva, velika površina te veliki broj hidroksilnih skupina koji omogućava veliki raspon modifikacija materijala. U ovome radu biti će opisani načini proizvodnje nanoceluloze iz lignoceluloznih sirovina korištenjem mehaničkih i fizikalno-kemijskih metoda, a poseban naglasak će biti dan na metode predobrade korištenjem enzima.

Gljučne riječi: nanoceluloza, lignoceluloza, enzimi, fizikalno-kemijska predobrada

Abstract

Nanocellulose is a natural and biodegradable material derived from renewable lignocellulosic raw materials such as wood biomass, agricultural residues, and residues from cellulose and paper manufacturing. Recently, nanocellulose has attracted increasing interest as a green material of the modern era due to its attractive characteristics such as excellent mechanical properties, large surface area, and large number of hydroxyl groups, which allow a wide range of material modifications. In this paper, the methods of producing nanocellulose from lignocellulosic raw materials using mechanical and physicochemical processes are described, with particular attention paid to pretreatment methods using enzymes.

Keywords: nanocellulose, lignocellulose, enzymes, physico-chemical pretreatment

Uvod

Prema definiciji, nanoceluloza je materijal celuloznog podrijetla s najmanje jednom dimenzijom u nanometarskoj veličini (Nechyporchuk i sur., 2016). Značajne karakteristike nanoceluloze, kao što su velika površina, hidrofilnost i visoki stupanj kristaliničnosti i čistoće, posljedica su načina proizvodnje. Osim navedenih, nanocelulozu karakterizira i velika aksijalna krutost (do 130 GPa), veliki omjer širine i visine nanočestica (od 10 do 100), mala gustoća (približno 1,5 g / cm³) i niska vrijednost koeficijenta toplinskog širenja (približno 1 ppm / K). Ova svojstva koriste se u proizvodnji kompozitnih materijala poboljšanih svojstava (Borjesson i sur., 2015). Također, korištenjem nanoceluloze dobivaju se materijali koji su biokompatibilni, biorazgradivi te imaju poboljšana mehanička i izolacijska svojstva (Islam i sur., 2014). Uz način proizvodnje i fenomene vezane uz čestice nanometarske veličine, svojstva nanoceluloze ovise o sastavu lignocelulozne biomase (Siqueira et al 2010). Lignocelulozna biomasa je kompleksna sirovina uglavnom sastavljena od lignina, hemiceluloze i celuloze. Razlikujemo dvije vrste celuloznih struktura: amorfnu i kristaliničnu. Amorfne strukture su nepravilnosti na kristaliničnoj strukturi celuloze te udio između njih i kristaliničnih regija ovisi o podrijetlu lignocelulozne biomase (Moon i sur 2011). Za razliku od kristaliničnih struktura celuloze, amorfna celuloza podložnija je kiselinskoj hidrolizi. Uklanjanjem amorfne regije oslobađaju se dijelovi nanoceluloze s kristaliničnom strukturom. (Tortorella i sur 2020).

Morfološki gledano iz lignocelulozne biomase mogu se proizvesti dvije vrste nanoceluloze: nanokristali celuloze, koji se dobiva primjenom koncentriranih anorganskih kiselina kao što su HCl ili H₂SO₄ i celulozna nanovlakna, dobivena enzimskim i/ili fizikalno-kemijskim metodama (Slika 1) (Klemm 2011).

U proizvodnji nanoceluloze uz kiselinsku hidrolizu mogu se koristiti i biološki posredovane (pred)obrade korištenjem enzima u ekološki prihvatljivim, vodenim medijima. Ovaj pristup dobiva sve veću pozornost (Wang i sur 2020), djelomično zbog visoke specifičnosti enzima za celuloznim supstratima (Chen i sur 2018), kao i poboljšanih fizikalnih svojstava nanoceluloze proizvedene djelovanjem endoglukanaza i egzoglukanaza (Michelin i sur 2020, Arantes i sur 2020, Yeh i sur 2010). Kombinacija enzimske i fizikalne predobrade pulpe drva rezultira proizvodnjom nanovlakana s većim omjerom širine i dužine te većom molekulskom masom, za razliku od nanokristala dobivenih nakon predobrade kiselinama (Moon i sur 2011, Lavoine i sur 2010, Henriksson i sur 2007). Također ovim načinom se dobivaju celulozna nanovlakna s većim brojem negativnih naboja koji omogućava naknadnu funkcionalizaciju materijala te analogno time i širu primjenu. Uz navedeno ova vrsta predobrade je ekološki prihvatljivija i ne zahtjeva upotrebu toksičnih i korozivnih kemikalija koje su karakteristične za predobradu kiselinama. Kombinacija različitih vrsta predobrade rezultira učinkovitijom razgradnjom kompleksne strukture lignocelulozne biomase (Thakur i sur 2021). Kombinacija mokrog mljevenja sa diskovima i enzimske hidrolize pokazala se kao dobra alternativa proizvodnje nanoceluloze tijekom procesa saharifikacije u biorafinerijama. Ova metoda nije učinkovita samo za ostatke dobivene preradom šećerne trske, već i za druge lignocelulozne sirovine (Teixeira i sur 2015). Enzimaska hidroliza rezultira značajnim

smanjenjem stupnja polimerizacije celuloze. Takva depolimerizacija pospješuje proizvodnju celuloznih nanovlakana fizikalnim metodama (Khalil i sur 2014). Ovisno o korištenoj predobradi mogu se dobiti nanovlakana različitih svojstava i mogućnosti primjene.

U ovom radu opisane su fizikalne i kemijske metode predobrade celuloze, a s ciljem efikasne proizvodnje nanoceluloze iz lignoceluloznih sirovina. Također su opisane enzimske metode kao alternativne metode predobrade celuloze koje se mogu koristiti zasebno ili u kombinaciji s fizikalno-kemijskim metodama.

Proizvodnja nanoceluloze

Prvi korak tijekom proizvodnje nanoceluloze je predobrada koja uključuje uklanjanje lignina i hemiceluloze iz lignocelulozne biomase s ciljem izdvajanja celuloze. (Nechyporchuk et al 2016). Nakon izdvajanja celuloze potrebno je provesti intenzivnu fizikalno-kemijsku obradu s ciljem usitnjavanja celuloze na nanometarsku razinu. Visoki trošak energije tijekom kemo-mehaničke obrade ograničava primjenu ovako proizvedene nanoceluloze. Stoga su se posljednjih godina razvijeni novi postupci proizvodnje nanoceluloze korištenjem energetski učinkovitijih fizikalnih, kemijskih i enzimskih metoda (Nechyporchuk i sur 2015).

Mehaničke i fizikalne metode (proizvodnja nanovlakana celuloze)

Celulozna nanovlakna proizvodi nekoliko tvrtki (npr. Daicel, Japan; Rettenmaier Njemačka; Innventia AB, Švedska) korištenjem mehaničkih metoda obrade pri čemu nastaju nanocelulozna vlakna duljine nekoliko mikrometara i promjera između 50 i 1000 nm (Jowkarderis i sur 2014). U usporedbi s nanokristalima celuloze, celulozna nanovlakna (CNV) imaju veću duljinu s visokim omjerom duljine i promjera, veću površinu i visoki udio hidroksilnih grupa, što olakšava modifikaciju površine nanovlakana (Chakraborty i sur. 2009).

Najzastupljenije tehnologije pripreme nanovlakana djelovanjem mehaničke sile su: homogenizacija (putem Manton-Gaulin homogenizatora), mikrofluidizacija i mikromljevenje, a mogu se koristiti: ekstruzija, kriomljevenje, koloidni mlinovi, ultrazvučna obrada visokog inteziteta, obrada mikrovalovima, obrada parom pod visokim tlakom i parna eksplozija (Rol i sur. 2019). Djelovanjem visokog tlaka i sile smicanja dolazi do promjene u strukturi i usitnjavanja celuloze na mikro i nanometarsku razinu. Neke od ovih metoda biti će opisani u nastavku poglavlja.

Koristeći gore spomenute tehnologije celulozna nanovlakna (CNV) se

pripremaju korištenjem celuloze iz različitih izvora kao što su meko i tvrdo drvo, pulpa šećerne repe, kore banane, kaktus, krumpir, pšenična slama, bambus i neke morske trave. Morfološke karakteristike CNV zavise o svojstvima korištene celuloze i tehnologiji predobrade. Rezultati istraživanja proizvodnje CNV-a pokazala su da iz celuloze dobivene iz primarne stanične stjenke nastaju duža i tanja nanovlakna nego ona dobivena iz sekundarne stanične stjenke (Rol i sur 2017).

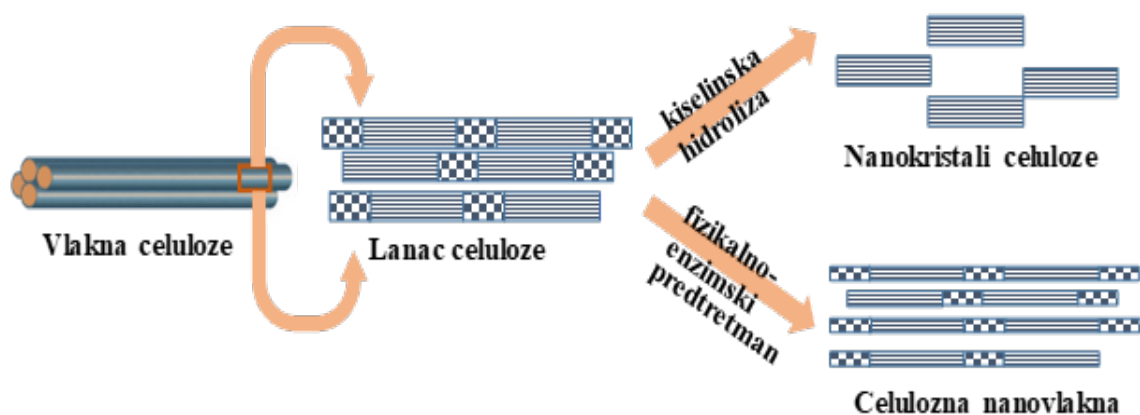
Visoko tlačni homogenizatori (VTH)

Homogenizacija pod visokim tlakom učinkovita je metoda za usitnjavanje celuloznih vlakna, jednostavna je i ne uključuje dodatak kemikalija (Keerati-U-Rai i Corredig, 2009). Tijekom ovog postupka vodena suspenzija celulozne pulpe propušta se kroz vrlo usku mlaznicu pri visokom tlaku koji može doseći i preko 150 MPa (Nakagaito i Yano, 2004). Prolaskom suspenzije kroz mlaznicu i djelovanjem smičnih sila i tlaka dolazi do usitnjavanja vlakana celuloze na mikrometarsku i nanometarsku razinu (Naderi i sur., 2015). Homogenizacija pod visokim tlakom koristi se za proizvodnju nanovlakana iz različitih sirovina, poput pulpe šećerne repe i ostataka pulpe nakon prerade voća (Habibi i sur., 2009). Nedostaci korištenja VTH u proizvodnji nanovlakana su začepljenja mlaznice, stoga je prije propuštanja suspenzije potrebno provesti zadovoljavajuće usitnjavanje sirovine kako ne bi došlo do začepljenja (Jonoobi i sur., 2010).

Mljevenje

Mljevenjem uz korištenje modificiranih komercijalnih mlinova s diskovima provodi se usitnjavanje celuloznih vlakana. Tijekom mljevenja, suspenzija celuloze propušta se između statičkog i rotirajućeg diska koji se vrti brzinom od oko 1500 okretaja u minuti. Djelovanjem smičnih sila na celulozu dolazi do slabljenja vodikovih veza između celuloznih vlakana koje za posljedicu rezultira usitnjavanjem (Siro i Plackett 2010).

Kriomljevenje je metoda tijekom koje se korištenjem tekućeg dušika celulozne sirovine zamrzavaju, te se nakon zamrzavanja djelovanjem visokih smičnih i udarnih sila narušava struktura celuloznih vlakana pri čemu dolazi do usitnjavanja. Tijekom djelovanja udarnih i smičnih sila dolazi do stvaranja pritiska zamrznutih kristala vode, pucanja celuloznih vlakana i oslobađanja mikrovlakana celuloze. Dodatnim djelovanjem sila na mikrovlakna dolazi do usitnjavanja na nanometarsku razinu (Chakraborty i sur 2005). Kontrolom parametara tijekom kriomljevenja dobivena su nanovlakna s promjerima od 5 do 80 nm, a testirana vlakna od lana, konoplje i korabice prethodno su obrađena kemijskim metodama.



Slika 1. Shematski prikaz dobivanja nanokristala celuloze i celuloznih nanovlakana iz celuloze.

Figure 1. Schematic view of nanocellulose crystals and fibres production from cellulose.



Metoda kriomljevenja u kombinaciji s visoko tlačnim homogenizatorom također je korištena za izolaciju nanovlakna iz sojinih ljuskica pri čemu su dobiveni CNV promjera od 50 do 100 nm (Wang i Sain 2007).

Ultrazvuk

Ultrazvuk je dio zvučnog spektra u intervalu od 20 kHz na 10 MHz. Sonda koja generira ultrazvuk pretvara mehaničku ili električnu energiju u ultrazvučne valove visokog intenziteta. Apsorpcijom ultrazvučnih valova visokog intenziteta u kapljevina dolazi do vrlo jakih mehaničkih oscilacija (kavitacije), što je fizikalni fenomen koji uključuje formiranje, ekspanziju i imploziju mikroskopskih mjehurića plina. Tijekom implozije, u neposrednom okruženju kavitacijskih mjehurića, nastaju snažni udarni valovi koji proizvode lokalne temperature do 5000 °C i tlakove veće od 500 atm (Abramov 1998).

Predobrada ultrazvukom primijenjen je kod vodenih suspenzija celuloze iz različitih izvora pri čemu su dobivena mikrometerska i nanometerska vlakna. Temperatura suspenzije celuloze povećava se brže uz korištenje ultrazvučne sonde veće snage pri čemu se ostvaruje i učinkovitije usitnjavanje (udio nanoceluloznih vlakana se povećava u ukupnoj masi suspenzije). Korištenjem celuloznih vlakana veće duljine dobivene su suspenzije s manjim udjelom celuloznih vlakana nanometerske duljine (Cheng i Wang 2009).

Stoga je za efikasnu ultrazvučnu predobradu potrebno odabrati odgovarajuću metodu kako bi se smanjila duljina celuloznih vlakana prije daljnje obrade. Korištenjem kemijskih i mehaničkih metoda mogu se proizvesti celulozna vlakna promjera od 5 do 50 nm. Odnosno potrebno je koristiti više različitih metoda kako bi se dobio zadovoljavajući udio nanoceluloze uz što niži trošak energije (Naderi i sur 2015).

Mehanički postupci najčešće se koriste za proizvodnju nanoceluloze ali su energetski nepovoljni. Također dobivene vodene suspenzije nanoceluloze nakon mehaničke obrade imaju nizak udio čvrste tvari (do 5%), te su troškovi izdvajanja visoki. Stoga je istraživanje i razvoj mehaničkih metoda ograničen, a u industrijskom mjerilu se koristi isključivo ekstruderi s dva vijka (Rol i sur 2019). Vezano uz smanjivanje utroška energije i optimiranje procesa proizvodnje nanoceluloze, proveden je niz istraživanja proizvodnje nanoceluloze korištenjem kemijskih i enzimskih metoda koji su opisani u sljedećim poglavljima.

Predobrada kiselinama i lužinama (proizvodnja nanokristala celuloze)

Celulozni nanokristali nastaju otpuštanjem kristalnih područja iz celuloznih vlakana hidrolizom s anorganskim kiselinama. Proces započinje uklanjanjem strukturnih dijelova lignocelulozne biomase (hemiceluloza, lignin, masti, vosak i pektin) vezanih na površini celuloznih vlakana, a nakon toga slijedi razgradnja lakše dostupnih amorfnih područja te oslobađanje kristalnih celuloznih dijelova u obliku vlakana (Zhu i Pan 2010). Kako bi se uklonili strukturni dijelovi i olakšalo oslobađanje kristalnih regije celuloze potrebno je provesti nekoliko kemijskih predobrada

Alkalna predobrada

Prethodna obrada s lužinama uklanja određenu količinu lignina, voska i ulja koja prekrivaju vanjsku površinu celuloznih vlakana. Ova metoda mijenja strukturu lignina i pomaže u razbijanju veza između lignina i celuloze. U tu svrhu se najčešće koristi natrij-hidroksid (17% -18%). Alkalna predobrada rezultira uklanjanjem lignina i preostalih pektina i hemiceluloze. Uvjeti tijekom alkalne predobrade (temperatura, koncentracija lužine, vrijeme trajanja) moraju se pažljivo kontrolirati kako bi se izbjegla neželjena razgradnja celuloze i osiguralo provođenje hidrolize samo na površini vlakana (Cheng i sur 2008). Djelovanjem

kiselina i lužina na celulozne supstrate dolazi do uklanjanja dijela beta-1-4-vezanih jedinica glukana i usitnjavanja celuloze na nanometersku razinu. Također kiseline i lužine reagiraju s hidroksilnim grupama glukana. Ove reakcije se koriste za modifikaciju i dobivanje nanoceluloze željenih svojstava (Habibi i sur 2014).

Kiselinska hidroliza

Kiselinska hidroliza čistog celuloznog materijala koristi se za proizvodnju celuloznih nanaokristala, pod kontroliranim uvjetima (temperatura, način miješanja i vrijeme trajanja hidrolize). Također uspješnost hidrolize i svojstva nanokristala celuloze ovise o vrsti kiseline. Najčešće se koristi sulfatna kiselina, a također se koristi kloridna i fosfatna kiselina. Vrijeme reakcije je važan parametar koji se mora uzeti u obzir tijekom hidrolize (na primjer, produženo vrijeme reakcije dovodi do potpune digestije celuloze). Ukoliko je vrijeme reakcije kratko, nastati će velika nedispergirana vlakna i celulozni agregati (Rol i sur 2017).

Sulfatna i fosfatna kiselina reagiraju sa površinskim hidroksilnim grupama celuloze pri čemu nastaju celulozna vlakna s fosfatnim ili sulfatnim estrima, koji pospješuju spontanu disperziju celuloznih nanokristala u vodi.

Celuloza koja se koristi za pripremu celuloznih nanokristala dobiva se iz: pamuka, lana, konoplje, agave, pšenične slama, palme, pulpe drva, šećerne repe i bakterijske celuloze. Ovisno o podrijetlu celuloze i vrsti korištene kiseline, omjeri dužine i širine nanaoceluloze se mijenjaju. Ipak za većinu predobrada kiselinama i lužinama izmjerene su dimenzije od nekoliko nanometara širine i dužine od deset nanometara do nekoliko mikrometara

Primjer korištenja više različitih metoda s ciljem povećanja prinosa i dobivanja nanoceluloze željenih svojstava je istraživanje provedeno simultanim djelovanjem ultrazvučnih valova i mikro-valova (simultaneously ultrasonic wave and microwave assisted technique – SUMAT) na proizvodnju nanoceluloznih kristala (NCK) iz filter papira u sumpornoj kiselini. Ispitan je utjecaj temperature, koncentracije sumporne kiseline, mase sirovog materijala i vremena na prinos NCK. Uvjeti proizvodnje NCK su optimirani su korištenjem metode odzivnih površina, te je određen značaj pojedinih parametara na prinos nanaoceluloze (Yung i Wayman 2008).

Enzimaska predobrada

Enzimskom predobradom olakšava se razgradnja celuloze i umanjuje utrošak energije za proizvodnju nanoceluloze (Pakko i sur, 2007). Da bi se uspješno razgradila celuloza potrebno je djelovanje više enzima koje nazivamo celulolitičkim enzimima. Podjela celulolitičkih enzima na celobiohidrolaze, endoglukanaze i egzoglukanaze određuje način odnosno mehanizam njihovog djelovanja. Egzoglukanaze djeluju na celulozni lanac i proizvode disaharide i trisaharide. Celobiohidrolaze djeluju na kristalinične regije celuloze i hidroliziraju disharide i trisaharide u glukozu. Endoglukanaze djeluje nakon promjena u strukturi celuloze nastalih prethodnim djelovanjem fizikalno kemijskih ili enzimskih predobrada i hidroliziraju amorfne regije celuloze (Michelin i sur 2020, Imai i sur 2020, Zhou i Ingram 2000)

Istraživanja su pokazala da je jedan od ključnih enzima tijekom enzimске razgradnje celuloze litička polisaharidna monoooksigenaza (LPMO). Ipak, za uspješnu enzimsku razgradnju celuloze potrebno je sinergističko djelovanje više celulolitičkih enzima. S ciljem formulacije enzimskog pripravka koji će osigurati što efikasniju razgradnju celuloze pa tako i proizvodnju nanoceluloze proveden je niz istraživanja (Henriksson i sur 2007). Istraživanja su pokazala da djelovanjem endoglukanaze na celulozu dolazi do usitnjavanja celuloze na mikrometersku razinu. Nakon djelovanja enzima provedena je mehanička obrada pri čemu je primijenjena manja sila potrebna za usitnjavanje celuloze na nanometersku razinu te je ostvarena ušteda energije. Također proizvedena nanoceluloza imala je uniformniju raspodjelu veličine

čestica i molekularne mase u usporedbi s nanocelulozom proizvedenom samo djelovanjem mehaničke obrade (Henriksson et al. 2007; Pakko i sur 2007).

Slično istraživanje proizvodnje nanoceluloze djelovanjem mehaničke i enzimske predobrade provedeno je u četiri stupnja. U prvom stupnju korišten je Escher–Wyss rafiner za mljevenje kako bi se osiguralo što bolje vezanje enzima na mehanički predobrađenu površinu celuloze. U drugom stupnju korištene su endoglukanaze te je enzimski predobrađena celuloza ponovno obrađena kao u prvom stupnju. U zadnjem stupnju korišten je visokotlačni homogenizator kako bi se proizvela nanoceluloza zadovoljavajućih karakteristika, a uz što manji utrošak energije. (Lopez-Rubio i sur. 2007) Općenito, djelovanjem enzima na celulozu dolazi do smanjenja stupnja polimerizacije i povećanja indeksa kristaliničnosti. Smanjenju stupnja polimerizacije osobito doprinose endoglukanaze (Nechiporuch i sur 2015).

Noviji istraživanja ukazuju na povećanje efikasnosti djelovanja endoglukanaza uz prisutnost ksilanaza i litičke polisaharidne monooksigenaze (LPMO). Prije svega ovi enzimi djeluju kao „pomoćni“ enzimi i povećavaju dostupnost celuloze za djelovanje celulolitičkih enzima pri čemu LPMO djeluje na kristalinične dijelove celuloze. Ksilanaze selektivno uklanjaju površinski ksilan i djeluju sinergistički s celulazama pri čemu povećava poroznost i olakšavaju fibrilaciju. Pri djelovanju ovih enzima zabilježeno je značajno smanjenje stupnja polimerizacije i vlačne čvrstoće što doprinosi lakšoj mehaničkoj razgradnji i umanjuje utrošak energije tijekom proizvodnje nanoceluloze. (Nakagawa i sur 2013). Također se dobiva jednolika raspodjela veličine proizvedenih čestica nanoceluloze.

Rezultati dosadašnjih istraživanja celulolitičkih enzima i razgradnje lignocelulozne biomase potvrđuju pretpostavku da je za učinkovitu razgradnju složene stjenke biljnih stanica nužno sinergističko djelovanje različitih enzima. Oksidativne litičke polisaharidne monooksigenaze (LPMOs) prepoznate su kao enzimi koji, zajedno s celobioza dehidrogenazom (CDH), razgrađuju celulozu, te svojim sinergističkim djelovanjem stimuliraju hidrolitičku aktivnost celulaza (Kracher i sur 2016). Istraživanja su također pokazala da LPMO i CDH djeluju

izravno na celulozu, što je čini dostupnijom enzimima iz CAZy skupine (aktivni enzimi za razgradnju ugljikohidrata). Oksidacijska razgradnja celuloze katalizirana LPMO enzimima zahtijeva redukcijske ekvivalente generirane od strane CDH ili primjenu reducirajućih supstrata (reducensa) male molekulske mase kao što su askorbat, galat, reducirani glutation i neke komponente lignina (Rezić i sur 2021). Enzimski hidroliza celuloze odvija se u blagim uvjetima zbog čega je potrebno duže vrijeme za efikasnu razgradnju u usporedbi s procesom kiselinske hidrolize. Zbog toga se enzimski hidroliza najčešće kombinira s drugim metodama kao što su mehaničke metode predobrade (Andlar i sur 2018, Kracher i sur 2016).

Enzimi su također koriste i u postmodifikacijama nanoceluloze. Cilj postmodifikacija je povećati broj i/ili modificirati hidroksilne grupe nanoceluloze. Primjer ovakvih istraživanja je djelovanje LPMO enzima koji povećava broj karboksilnih grupa na površini nanoceluloze. Ovakva nanoceluloza, ima slična svojstva kao celuloza dobivena TEMPO posredovanom oksidacijom uz još veći broj negativnih naboja što doprinosi smanjenju agregacije i boljoj homogenosti (raspodjeli) nanoceluloze u kompozitnim materijalima (Michelin i sur 2020).

Zaključci

Nanocelulozna vlakna, pokazuju svojstva slična gelu i proizvode se korištenjem mehaničkih postupaka homogenizacije pri visokom tlaku. Druga vrsta nanoceluloze, nanocelulozni kristali, imaju manje dimenzije i zahtijevaju isključivo kemijsku obradu kao što je kiselinska hidroliza pri čemu se uklanjaju amorfni dijelovi celuloze. Enzimski predobrada olakšava fizikalno i kemijsku predobradu i dobar je temelj za istraživanje novih postupaka predobrade korištenjem lignocelulolitičkih enzima. Izgledno je da će se u budućnosti zbog povećanja potražnje za materijalima naprednih svojstava koji u sebi sadrže nanocelulozu povećati i njezina potražnja. Stoga je potrebno uložiti dodatne napore u istraživanja i razvoj novih postupaka proizvodnje, uspostavu novih pilot postrojenja kao i uvećanje mjerila procesa na postrojenja industrijskog mjerila.

Literatura

- Abramov O.V. (ed) (1998) High-Intensity Ultrasonics: Theory and Industrial Applications. Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands.
- Andlar M, Rezić T, Marđetko M, Kracher D, Ludwig R, Šantek B (2018) Lignocellulose degradation: an overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. *Engineering in Life Sciences*, 18 768-778.
- Arantes V., Dias I.K.R., Berto G.L., Pereira B., Marotti B.S., Nogueira C.F.O. (2020) The current status of the enzyme-mediated isolation and functionalization of nanocelluloses: Production, properties, techno-economics, and opportunities. *Cellulose*, 27 10571–10630.
- Börjesson M., Westman G. (2015) Crystalline nanocellulose—preparation, modification, and properties. In: Poletto M. , Junior H.L.O. (Eds). *Cellulose - Fundamental Aspects and Current Trends [Internet]*. London: IntechOpen, 159-191.
- Chakraborty A., Sain M., Kortschot M. (2005) Cellulose microfibrils: A novel method of preparation using high shear refining and cryocrushing. *Holzforschung*, 59 (1) 102-107.
- Chen X.Q., Deng X.Y., Shen W.H., Jia M.Y. (2018) Preparation and characterization of the spherical nanosized cellulose by the enzymatic hydrolysis of pulp fibers. *Carbohydrate Polymers*, 181 879–884.
- Cheng K.K., Zhang J.A., Ping W.X., Ge J.P., Zhou Y.J., Ling H.Z., Xu, J.M. (2008) Sugarcane bagasse mild alkaline/oxidative pretreatment for ethanol production by alkaline recycle process. *Applied biochemistry and biotechnology*, 151 (1) 43-50.
- Cheng Q., Wang S., Rials T.G. (2009) Poly (vinyl alcohol) nanocomposites reinforced with cellulose fibrils isolated by high intensity ultrasonication. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 40 (2) 218-224.
- Habibi Y. (2014) Key advances in the chemical modification of nanocelluloses. *Chemical Society Reviews*, 43 (5) 1519-1542.
- Habibi Y., Mahrouz M., Vignon M.R. (2009) Microfibrillated cellulose from the peel of prickly pear fruits. *Food Chemistry*, 115 (2) 423-429.
- Henriksson M., Henriksson G., Berglund L. A., Lindström T. (2007) An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *European polymer journal*, 43 (8) 3434-3441.
- Imai M., Horikawa Y., Kiyoto S., Imai T., Sugiyama J. (2020) Structural changes in sugarcane bagasse cellulose caused by enzymatic hydrolysis. *Journal of Wood Science*, 66 11.
- Islam M.T., Alam M. M., Patrucco A., Montarsolo A., Zoccola M. (2014) Preparation of nanocellulose: A review. *AATCC Journal of Research*, 1 (5) 17-23.
- Jaiswal A.K., Kumar V., Khakalo A., Lahtinen P.; Solin K., Pere J., Toivakka M. (2021) Rheological behavior of high consistency enzymatically fibrillated cellulose suspensions. *Cellulose*, 28 2087–2104.
- Jonoobi M., Harun J., Mathew A.P., Hussein M.Z.B., Oksman K. (2010) Preparation of cellulose nanofibers with hydrophobic surface



- characteristics. *Cellulose*, 17 (2) 299-307.
- Jowkarderis L., van de Ven T.G.M. (2014) Intrinsic viscosity of aqueous suspensions of cellulose nanofibrils. *Cellulose*, 21 (4) 2511-2517.
- Keerati-U-Rai M., Corredig M. (2009) Effect of dynamic high pressure homogenization on the aggregation state of soy protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (9) 3556-3562.
- Abdul Khalil H.P.S., Davoudpour Y., Islam Md.N., Mustapha A., Sudes, K., Dungani R., Jawaid M. (2014) Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: a review. *Carbohydrate Polymers*, 99 649–665.
- Klemm D., Kramer F., Moritz S., Lindström T., Ankerfors M., Gray D., Dorris A. (2011) Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie International Edition*, 50 (24) 5438-5466.
- Kracher D., Ludwig R. (2016) Cellobiose dehydrogenase: An essential enzyme for lignocellulose degradation in nature – A review. *Journal of Land Management Food and Environment*, 67 145-163
- Lavoine N., Desloges I., Dufresne A., Bras J. (2012) Microfibrillated cellulose—its barrier properties and applications in cellulosic materials: a review. *Carbohydrate Polymers*, 90 735–764.
- López-Rubio A., Lagaron J.M., Ankerfors M., Lindström T., Nordqvist D., Mattozzi A., Hedenqvist M.S. (2007) Enhanced film forming and film properties of amylopectin using micro-fibrillated cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 68 718-727.
- Michelin M., Gomes D.G., Romani A., Polizeli M.L.T.M., Teixeira J.A. (2020) Nanocellulose Production: Exploring the Enzymatic Route and Residues of Pulp and Paper Industry. *Molecules*, 25 3411.
- Moon R.J., Martini A., Nairn J., Simonsen J., Youngblood J. (2011) Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40 3941–3994.
- Naderi A., Lindström T., Sundström J. (2015) Repeated homogenization, a route for decreasing the energy consumption in the manufacturing process of carboxymethylated nanofibrillated cellulose? *Cellulose*, 22 (2) 1147-1157.
- Nakagaito A.N., Yano H. (2004) The effect of morphological changes from pulp fiber towards nano-scale fibrillated cellulose on the mechanical properties of high-strength plant fiber based composites. *Applied Physics A*, 78 (4) 547-552.
- Nakagawa Y.S., Eijsink V.G.H., Totani K., Vaaje-Kolstad G. (2013) Conversion of alpha-chitin substrates with varying particle size and crystallinity reveals substrate preferences of the chitinases and lytic polysaccharide monoxygenase of *Serratia marcescens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 11061-11066.
- Nechyporchuk O., Belgacem, M.N., Bras, J. (2016) Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. *Industrial Crops and Products*, 93 2-25.
- Nechyporchuk O., Pignon F., Belgacem M.N. (2015) Morphological properties of nanofibrillated cellulose produced using wet grinding as an ultimate fibrillation process. *Journal of Materials Science*, 50 (2) 531-541.
- Pääkkö M., Ankerfors M., Kosonen H., Nykänen A., Ahola S., Österberg M., Ruokolainen J., Laine J., Larsson P. T., Ikkala O., Lindström T. (2007) Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules*, 8 (6) 1934-1941.
- Rezić T., Vrsalović A., Kurtanjek Ž. (2021) New approach to the evaluation of lignocellulose derived by-products impact on lytic-polysaccharide monoxygenase activity by using molecular descriptor structural causality model. *Bioresour. Technol.* 342 125990.
- Rol F., Belgacem M.N., Gandini A., Bras, J. (2019) Recent advances in surface-modified cellulose nanofibrils. *Progress in Polymer Science*, 88 241-264.
- Rol F., Karakashov B., Nechyporchuk O., Terrien M., Meyer V., Dufresne A., Belgacem M.N., Bras J. (2017). Pilot-scale twin screw extrusion and chemical pretreatment as an energy-efficient method for the production of nanofibrillated cellulose at high solid content. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5 (8) 6524-6531.
- Siqueira G., Tapin-Lingua S., Bras J., da Silva Perez D., Dufresne A. (2010) Morphological investigation of nanoparticles obtained from combined mechanical shearing, and enzymatic and acid hydrolysis of sisal fibers. *Cellulose*, 17 (6) 1147-1158.
- Siró I., Plackett D. (2010) Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose*, 17 (3) 459-494.
- Teixeira R. S. S., da Silva A.S., Jang J.-H., Kim H.-W., Ishikawa K., Endo T., Lee S.H., Bon E.P.S. (2015) Combining biomass wet disk milling and endoglucanase/ β -glucosidase hydrolysis for the production of cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 128 75– 81.
- Thakur V., Guleria A., Kumar S., Sharma S., Singh K. (2021) Recent advances in nanocellulose processing, functionalization and applications: a review. *Materials Advances*, 2 1872-1895.
- Tortorella S., Vetri Buratti V., Maturi M., Sambri L., Comes Franchini M., Locatelli E. (2020) Surface-Modified Nanocellulose for Application in Biomedical Engineering and Nanomedicine: A Review. *International Journal of Nanomedicine*, 15 9909–9937.
- Wang B., Sain M. (2007) Dispersion of soybean stock-based nanofiber in a plastic matrix. *Polymer International*, 56 (4) 538-546.
- Wang S., Cheng Q. (2009) A novel process to isolate fibrils from cellulose fibers by high-intensity ultrasonication, Part 1: Process optimization. *Journal of Applied Polymer science*, 113 (2) 1270-1275.
- Wang X., Cheng S., Li Z., Men Y., Wu J. (2020) Impacts of Cellulase and Amylase on Enzymatic Hydrolysis and Methane Production in the Anaerobic Digestion of Corn Straw. *Sustainability*, 12 5453
- Yang B., Wyman C. E. (2008) Pretreatment: the key to unlocking low-cost cellulosic ethanol. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2 (1) 26-40.
- Yeh A.-I., Huang Y.-C., Chen S.H. (2010) Effect of particle size on the rate of enzymatic hydrolysis of cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 79 192–199.
- Zhou S., Ingram L.O. (2000) Synergistic hydrolysis of carboxymethyl cellulose and acid-swollen cellulose by two endoglucanases (CelZ and CelY) from *Erwinia chrysanthemi*. *Journal of Bacteriology*, 182 (20) 5676-5682.
- Zhu J.Y., Pan X.J. (2010) Woody biomass pretreatment for cellulosic ethanol production: technology and energy consumption evaluation. *Bioresource Technology*, 101 (13) 4992-5002.