

Landare Zuntzetatik Isolaturiko
Nanozelulosa eta Jatorri Berriztagarria
duen Gelatinan Oinarrituriko
Bionanokonpositeak

GURUTZ MONDRAGON OTAMENDI-k

Doktore gradua lortzeko aurkeztutako txostena

Donostia, 2015ko Apirila

Eskertzak

Lehenik eta behin, lan hau Iñaki Mondragon Egañari eskaintzen diot. Zure etengabeko ikasteko gustua, lan grina, irakaste nahia eta helburuetan sinistearaztearen bultzadak, abentura honetan egotearen ardura dute. Zurekin pasa ditudan hainbat une gozo eta pasarteren ondoren, bizitzari aurre egiteko orduan eman zenizkidan hainbat izateko ezaugarri baliotsuekin geratzen naiz, ameslaria, umila, saiatua eta maitalea izatearena. Beti izanen zaitut nire bihotzean, Iñaki handia!!!

Azken urte hauetan zehar nire tesi zuzendari izan diren Aitor Arbelaiz eta Arantxa Eceiza doktoreak eskertu nahiko nituzke, zelulosazko nanoentitateen eta beraiekin sorturiko bionanokonpositeen inguruko ikerketa hau burutzeko aukera emateagatik. Egoera zailen aurrean ederki indarrak elkartu baitituzte eta urte hauetan zehar eskaini didaten babesa eta ezagutza lan hau burutzerako orduan ezinbestekoak izan baitira. Bereziki hainbeste buruhauste eta eztabaida izan ditugun pertsonaz akordatzen naiz, nigaz izan duzun pazientziagatik eskertu nahi nizuke eta gure arteko elkarrekintzak pertsonalki eta akademikoki oso aberatsak izan zaizkidalakoan.

Eusko Jaurlaritzak doktoretza programa burutu ahal izateko emandako diru-laguntza eskertu nahi nuke (doktoreak ez diren ikertzaileak prestatzeko Doktoratu Aurreko Programako laguntza (BFI-2010-210)). Bestalde, Jalel Labidi doktorea eskertu nahi nuke tesiaren nire azken fase honetan eskaini didan lan kontratuagatik. Azkenik, Euskal Herriko Unibertsitateko SGIker zerbitzuak ere eskertu nahi nituzke.

Nire eskerrik beroenak ‘Materialak + Teknologiak’ taldeko kideei helarazi nahi diet, elkarrekin pasa ditugun momentu gozoengatik. Nire ikerketa ezinezkoa litzateke beraien laguntza eta pazientziarik gabe. Aipamen espezial bat egin nahi nioke momentu ezberdinetan nire aldamenen egon zaren “golfo” maitagarri handiari, ahaztuta neuzkan hainbat gauza berpiztu baitizkidazu. Ezin ahaztu bionanokonpositeen lanean hainbeste lagundu didan nire hurbileko adiskidea.

Aipamen berezi bat egin nahi nioke nigandik askotan arduratu den lagun minari, beti gertu sentitu baitzaitut eta hainbestetan ulertu nauzulakoan. Gure irrintzi ozenez motibatuko gara: Eman egurra!

Azkenik, etxekeoengandik jasotako erabateko babesa, ulermena eta maitasuna eskertu nahiko nuke. Ama, zure posizioan oso ondo egon baitzara eta egunero asko lagundu

bainauzu. Arreba beti bezain polita eta laztanari. Eta ezin ahaztu nire bizitzan hain pertsona garrantzitsua den lagun, anai, entzule, maitagarri, aholkulari, positibo, bultzatzaile, etab ezaugarri zerrenda luze batez definitzen zaitudanari. Izan Huntsa!

“Hegoak ebaki banizkio nirea izango zen, ez zuen aldegingo.

Bainan, honela ez zen gehiago txoria izango eta nik... txoria nuen maite.”

Txoria txori – **Mikel Laboa**

“Wish YOU were here”

Pink Floyd

Laburpena

Materialen birziklapenak eta baliabide naturalen kontserbazioari buruzko eztabaida luze eta etengabeak, lehengai berriztagarrietan oinarrituriko materialenganako interesa sustatu dute. Lan honetan bildutako ikerketak, izaera berriztagarria duten eta biodegradagarriak diren biopolimeroetan oinarrituriko bionanokonpositeak ditu ardatz, matrize gisa gelatina proteina aukeratu delarik era indartzaile bezala zuntz lignozelulosikoetatik isolaturiko zelulosa nanozuntzak eta nanokristalak.

Zuntz lignozelulosikoak maila desberdinetan antolaketa hierarkikoa dute eta zenbait zeluletan oinarritzen dira, zeinak hemizelulosa, lignina eta pektinaz inguraturiko zelulosa nanozuntzez osatuak dauden. Naturan, zelulosa kateak paketaturik aurkitzen dira nanozuntzen estruktura erdikristalinoa eratuz. Alderdi kristalinoek, zelulosa nanokristal deiturikoak, erresistentzia altua eta zelulosa kristal perfektuen antzeko modulua dute, beraz bionanokonpositeetan indartzaile gisa erabiltzeko propietate paregabeak aurkezten dituzte.

Lehenengo kapituluaren berrikuspen bibliografikoa burutu da, non azken urteetan zuntz lignozelulosikoetatik nanozelulosak isolatzeko ikerketa ugari egin diren arren, gutxi dira nanozelulosak isolatzeko soilik tratamendu kimikoak erabiltzen dituztenak. Bigarren kapituluaren erabilitako materialak azaltzen dira, baita erabilitako karakterizazio teknikak eta analisi baldintzak ere. Hirugarren kapituluaren, landare ezberdinetatik (sisala, kalamua, linua) nanozuntz eta nanokristalak isolatzeko, erreakzio kimiko segida bat definitu da. Zuntz lignozelulosikoen osagai ez-zelulosikoen erauzketaz zelulosa nanozuntzak lortu dira, ondoren, lorturiko nanozuntzen hidrolisi azidoaz nanokristalak isolatu direlarik. Erreakzio kimiko segidaren etapa bakoitzaren osteko laginen analisi fisiko-kimiko, termiko eta morfologikoen, jarraituriko erreakzio kimiko segida, nanozelulosa isolatzeko egokia dela konfirmatu duten arren, tratamendu kimikoen baldintza esperimentalen optimizazio beharra ikusi da. Horrela, laugarren kapituluaren, nanozelulosen isolamendu prozesuan osagai ez-zelulosikoen erauzketan gehien eragiten duten erreakzioen (alkalizazio, azetilazio eta hidrolisi azido) baldintza esperimental ezberdinak (denbora, kontzentrazioa) aztertu dira. Erreakzio kimiko segidaren optimizazioaz, luzera eta diametro banaketa estua duten nanokristalen isolatzea lortu da. Dialisi etapako pH-ak zelulosa nanokristalen egonkortasun termikoan duen eragina ere aztertu da.

Bosgarren kapituluan, gelatina matrizean oinarritutako bionanokonposite filmak *solvent casting* metodoaz prestatu dira. Bionanokonpositeen prestaketan zelulosa nanozuntz komertzialak eta hauetatik isolaturiko itxura erlazio altuko zelulosa nanokristalak erabili dira. Bionanokonpositeen, propietate fisiko-kimikoak, mekanikoak eta oxigeno eta ur lurrunaren hesi-propietateak aztertu dira. Emaitzek gelatina/nanozuntz adhesioa eta urarekiko hesi-propietateen hobekuntzaren beharra iradokitzen dute. Seigarren kapituluan eta zazpigarren kapituluan ondorio orokorrak eta etorkizunerako lan-ildoak aurkezten dira eta eranskinak, irudi, taulen eta ikurren zerrendak biltzen dira.

Argitu beharra dago, tesi honetan doktorego lan esperimentalaren kronologia ez dela izan aurkezteko erabili den ordenaren berbera. Lehenik, zuntz lignozelulosikoetatik nanozuntzak eta nanokristalak isolatu dira. Isolaturiko nanokristalen luzera eta diametro balioen dispersio handia dela eta, bionanokonpositeen prestaketan nanozuntz komertzialak, zeinak luzera eta dispersio estuagoa aurkeztu duten, erabili dira. Azkenik, sisal zuntzetatik, bai nanozuntzen eta bai nanokristalen isolamendurako erreakzio kimiko segidako tratamendu nagusienak optimizatu dira eta kristalinitate altuko, tamaina banaketa estuko eta itxura erlazio altuko nanozuntz eta nanokristalak isolatu dira. Zuntz lignozelulosikoetatik isolaturiko nanozelulosa hauek, etorkizunean bionanokonpositeen prestaketan erabiliko dira.

AURKIBIDEA

1. Berrikuspen bibliografikoa	1
1.1 Sarrera	3
1.2 Biopolimeroak	4
1.2.1 Proteinak	4
1.2.1.1 Proteinen egitura	5
1.2.1.2 Gelatina	8
1.3 Zuntz lignozelulosikoak	9
1.3.1 Zuntz lignozelulosikoen estruktura	10
1.3.2 Zuntz lignozelulosikoen osagai nagusiak	11
1.3.2.1 Zelulosa	11
1.3.2.2 Osagai ez-zelulosikoak	13
1.4 Zelulosan oinarrituriko bionanokonpositeak	16
1.5 Erreferentziak	19
2. Materialak eta teknika esperimentalak	29
2.1 Materialak	31
2.2 Zuntz lignozelulosikoen konposizio kimikoaren analisia	31
2.3 Karakterizazio fisiko-kimikoa	32
2.3.1 Fourier transformatuaren espektroskopia infragorria	32
2.3.2 X izpien difrakzioa	32
2.3.3 Oinarrizko analisi kimikoa	33
2.4 Karakterizazio termikoa	33

2.4.1	Analisi termograbitrikoa	33
2.4.2	Ekorketa diferentzialeko kalorimetria	33
2.4.3	Analisi dinamiko-mekanikoa	34
2.5	Karakterizazio morfologikoa	34
2.5.1	Mikroskopia optikoa	34
2.5.2	Ekorketa elektronikozko mikroskopia	34
2.5.3	Indar atomikozko mikroskopia	35
2.6	Karakterizazio mekanikoa	35
2.7	Hesi-propietateak	36
2.7.1	Ur-lurrunarekiko iragazkortasuna	36
2.7.2	Oxigenoarekiko iragazkortasuna	36
2.8	Erreferentziak	37
3.	Landare zuntzetatik zelulosa nanoentitateen isolamendua	39
3.1	Helburua	41
3.2	Zelulosa nanoentitateen isolamendua	41
3.3	Emaitzak eta eztabaida	43
3.3.1	Karakterizazio kimikoa	43
3.3.2	X izpien difrakzioa	46
3.3.3	Analisi termikoa	48
3.3.4	Zuntzen morfologiaren garapena	53
3.4	Ondorioak	57
3.5	Erreferentziak	59

4. Nanozelulosa isolatzeko erabilitako erreakzio kimiko segidaren optimizazioa	63
4.1 Helburua	65
4.2 Nanozelulosa isolatzeko erreakzio kimiko nagusien azterketa zinetikoak	65
4.3 Emaitzak eta eztabaida	67
4.3.1 Alkali tratamenduaren azterketa zinetikoa	67
4.3.2 Azetilazio tratamenduaren azterketa zinetikoa	72
4.3.3 Hidrolisi azido tratamenduaren azterketa zinetikoa	76
4.4 Ondorioak	85
4.5 Erreferentziak	86
5. Gelatina matrizean eta nanozelulosan oinarrituriko bionanokonpositeak	89
5.1 Helburua	91
5.2 Zelulosa nanozuntzetik nanokristalen isolamendua	91
5.3 Bionanokonposite filmen prestaketa	91
5.4 Emaitzak eta eztabaida	92
5.4.1 Nanokristalen karakterizazioa	92
5.4.2 Bionanokonpositeen karakterizazioa	95
5.5 Ondorioak	106
5.6 Erreferentziak	108

6. Ondorio orokorrak, etorkizunerako lan-ildoak eta argitalpenak	111
6.1 Ondorio orokorrak	113
6.2 Etorkizunerako lan-ildoak	114
6.3 Argitalpen eta kongresuen zerrenda	115
Eranskinak	121
TAPPI arauak	123
Irudien zerrenda	129
Taulen zerrenda	133
Laburduren zerrenda	135
Ikurren zerrenda	136

1. KAPITULUA

BERRIKUSPEN BIBLIOGRAFIKOA

1.1 Sarrera

Gaur egun, dimentsio edo antolakuntza nanometrikoa (10^{-9} m) duten materialez arduratzen den nanozientziaren eta nanoteknologiaren arloa, interesa handia sortzen ari da (1,2). Tamaina nanometrikoa dela eta, nanomaterialak propietate paregabeak dituzte, fisikoak (erresistentzia, zurruntasuna, urradura, termikoak), kimikoak (katalitikoak, ioi-trukea, mintzak), biologikoak (mikrobio-aurkakoa, bateragarritasuna) eta elektronikoak (optikoak, elektrikoak, magnetikoak) (3-6).

Nanokonposite polimerikoak nanoteknologiaren aplikazio arlo garrantzitsuenetarikoa bilakatu da (7,8). Orokorrean, nanokonpositeak bi fase-dun materialak bezala definitu ditzakegu, non gutxienez fase-tariko batek maila nanometrikoko (1-100 nm) dimentsioak dituen (9,10). Ohiko mikrokonpositeekin alderatuz gero, nanokonpositeak propietate paregabeak dituzte (7). Gaur egun nanokonpositeek sortzen duten interesaren arrazoien artean, propietate fisiko (termiko, mekaniko eta hesi) berriak, birziklapen hobeak, gardentasuna, dentsitate baxuko material berriak, egiturak diseinatzeko eta sortzeko aurrekaririk gabeko aukera paregabeak eta industrian sortu lezakeen aukera berria, azpimarratu daitezke (8,9). Bestalde, maila nanometrikoko indartzaileak akatsez ia libre daudenez, konpositeen arloan ohiko maila mikroskopikoko indartzaileen mugak gainditzeko aukera bat irekitzen dute. Azkenik, gainazal azalera espezifiko handia dutenez, nanoentitate eduki baxuko (≤ 5 wt%) nanokonpositeek, interfase bolumen handia daukate, propietateak polimero masarekiko ezberdinak izanik. Beraz, nanopartikulen dispersioa uniformeak bada, matrize eta indartzailearen arteko interfasearen azalera handia izango da eta matrizearen mugikortasun molekularrean eta erlaxazio portaeran eragingo du, hots, propietate termiko eta mekanikoetan (8).

Materialen birziklapenak eta baliabide naturalen kontserbazioari buruzko eztabaida luze eta etengabeak, lehengai berriztagarrietan oinarrituriko materialenganako interesa berriro dute. Hortaz, egungo ingurumen arazoak eta iturri fosilen erabilerak sorturiko hondakinak gutxitu nahian (11), iturri berriztagarrietatik eratorritako polimeroetan oinarrituriko material biokonposite/bionanokonpositeen interesa sustatu dute (7,12,13).

Bionanokonpositeak honela definitu daitezke: (i) nanoentitate berriztagarriez (adibidez zelulosa nanozuntzak (ZNZ), zelulosa nanokristalak (ZNK), zelulosa bakteriala (BZ)) eta petroliotik eratorritako polimeroez (adibidez polipropileno, polietileno, epoxi) osatutako bionanokonpositeak, (ii) biopolimeroez (adibidez azido polilaktikoa eta

polihidroxialkanoatoak) eta nanoindartzaile inorganikoez (adibidez karbono nanotutuak eta nanobuztinak) osaturiko bionanokonpositeak, eta (iii) iturri berriztagarrietatik eratorritako nanoentitateak eta biopolimeroetan oinarrituriko bionanokonpositeak.

Iturri berriztagarrietan oinarrituriko material biokonposite/bionanokonpositeetan aurrerakada nabarmenak ematen ari diren arren, ez bakarrik ohiko zuntz naturaletan eta beraien nano-morfologiatan, baita ere oinarri biologikoa duten matrize berrien garapenean, arlo honetan oraindik erronka zientifiko eta teknologiko garrantzitsuak daude.

1.2 Biopolimeroak

Nanokonpositeak prestatzeko erabiltzen diren polimero gehienak iturri fosiletatik eratorriak dira; hala ere zenbait aplikazioetan polimero sintetikoak ordezkatu asmoz, polimero naturalak erabiltzeko interesa handitzen ari da (6,12,14-17). Funtsean, biopolimero bezala ezagutzen diren polimero naturalak interesgarriak dira, iturri natural berriztagarrietatik lortzeko aukera zabala dutelako eta gehienak biodegradagarriak direlako (18-20).

Biopolimeroen artean, polisakaridoak eta proteinak etorkizun handiko hautagai bezala kontsidera daitezke beraien biodegradagarritasuna, ugaritasuna eta izaera berriztagarria dela eta (21,22).

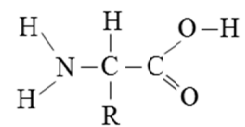
1.2.1 Proteinak

Proteinak, polipeptido bezala ere ezagunak, hiru dimentsioko egitura egonkor batetan antolatzen dira eta funtsezko hogei aminoazidoetan oinarrituriko makromolekula naturalak dira (11,23,24). Landareetatik eratorritako proteina nagusienak, soja, arto eta gari proteinak dira. Animalietatik eratorritako proteina nagusienak, kaseina, kolagenoa eta zetazko proteinak dira. Azkenik, bakteriotatik eratorritako proteina nagusienak, laktato deshidrogenasaz, kimotripsinaz eta fumarasaz eratuak daude (24).

Animali proteinen artean, proteina mota ugariena kolagenoa da (25,26). Hiru kolageno mota daude (I, II eta III), eta I motakoa arruntena eta ugariena da, nagusiki azala, hezurra eta tendoietako ehun konektiboetan aurkitzen direlarik (25,27). Gelatina (G) biopolimeroa, kolagenoaren I motaren desnaturalizazio partzialaren bidez lortzen da (28-30).

1.2.1.1 Proteinen egitura

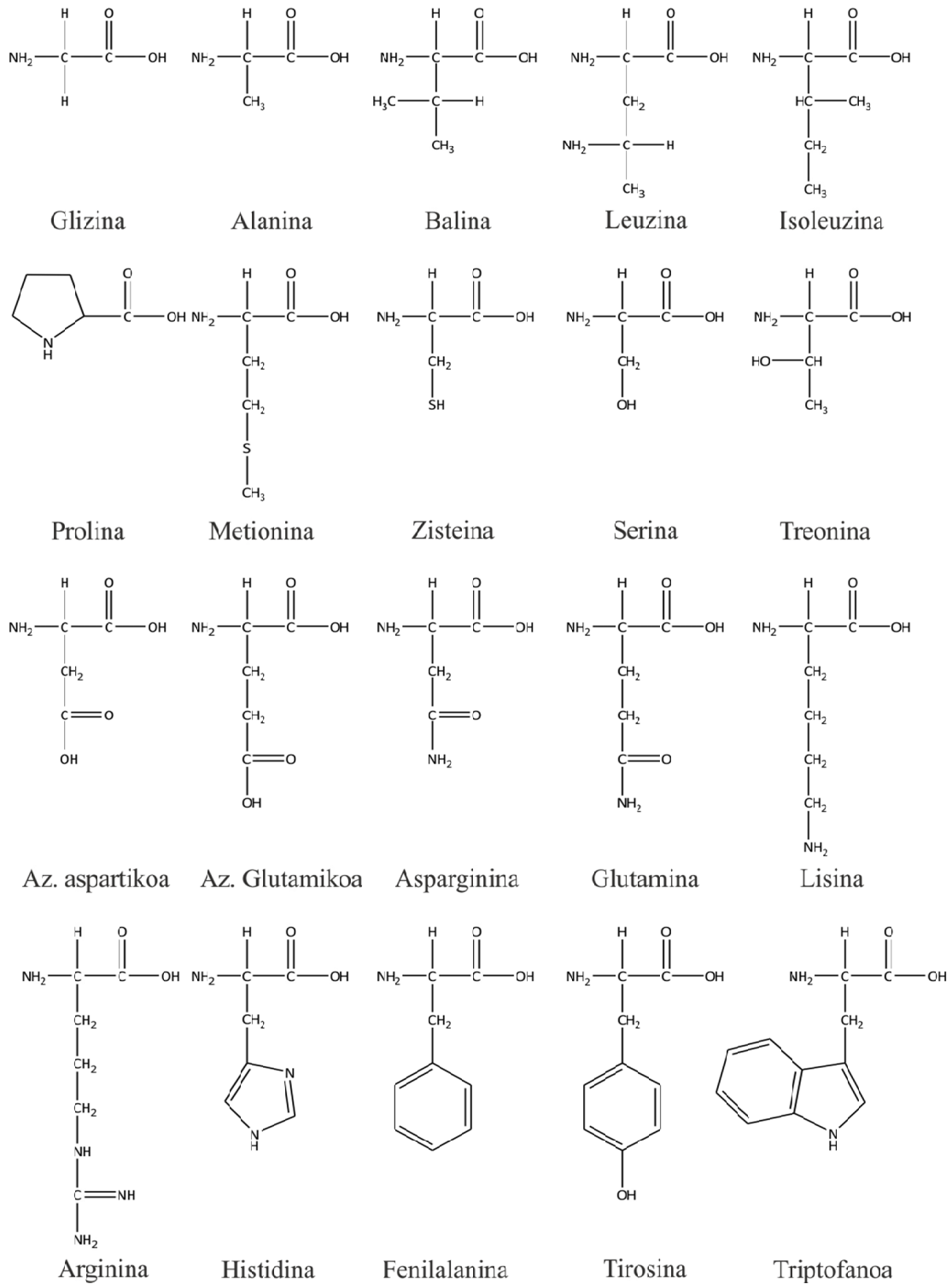
Proteinen egitura-antolaketa lau mailatan gertatzen da; egiturazko antolakuntza primarioa, sekundarioa, tertziarioa eta kuarternarioa. Egitura primarioa, polipeptido katearen aminoazido sekuentziarekin erlazionatua dago. Aminoazido bakoitza, karbono alifatiko bati lotuta dauden karboxilo talde (-COOH) batez eta amino talde (-NH₂) batez osatua dago, hots, normalean proteina bateko aminoazido guztiak, α-aminoazidoak dira (**1.1. Irudia**). Aminoazido bakoitzak, alboko talde (R) ezberdina dauka karbono alifatikoari lotuta, aminoazidoari ezaugarri bereziak ematen dizkiolarik (11,24).



1.1. Irudia. α-aminoazido baten egitura generikoa (era ez ionizatua).

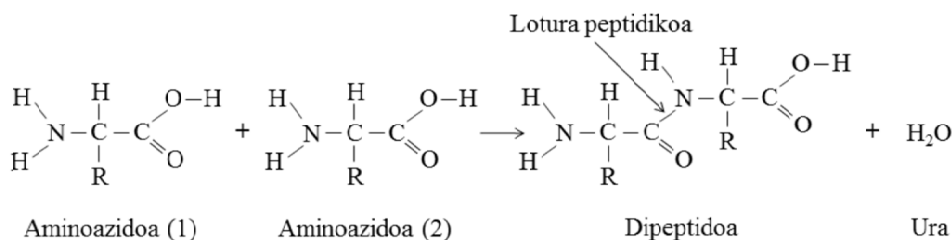
Alboko taldea, ez-polarra (hidrofobikoa), polarra neutroa (hidrofilikoa) eta 7-ko pH-an positiboki edo negatiboki kargatua egon liteke (11). Alboko taldea, H atomo bat izan daiteke glizinarekin kasu bezala, edo talde konplexu bat triptofano aminoazidoan bezala (23). **1.2. Irudian**, bizidunetan aurkitzen diren funtsezko hogeita hamar aminoazidoen egitura kimikoak (23) aurkezten dira.

1. Kapitulu



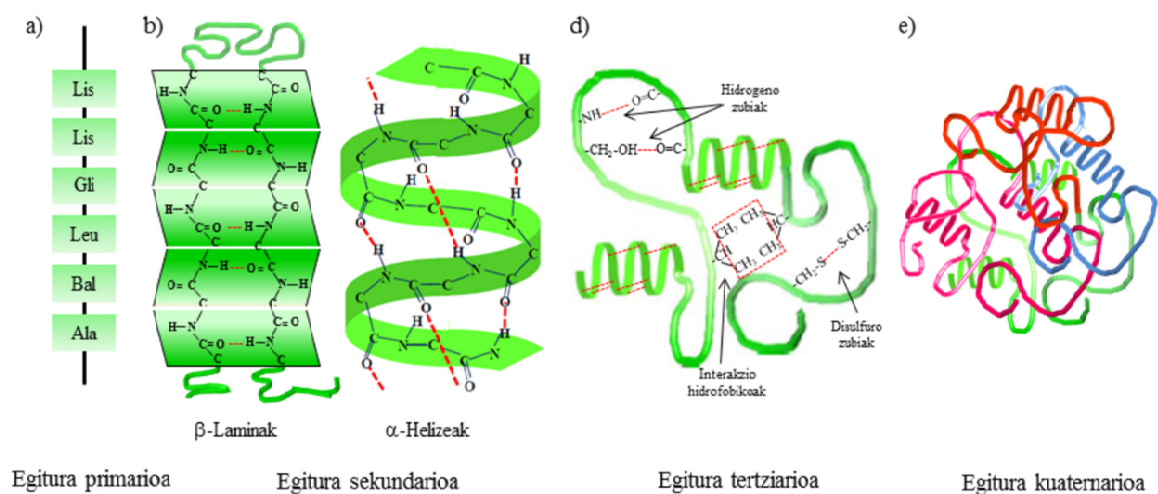
1.2. Irudia. Hogei funtsezko aminoazidoen egiturak.

Polipeptidoetan aminoazidoen polimerizazioa lotura peptidiko bidez, amida loturaz ere ezagutzen dena, gertatzen da (1.3. Irudia).



1.3. Irudia. Dipeptido baten eraketa bi aminoazidoen arteko lotura peptidikoaren bidez.

Aminoazido bakoitzaren propietate kimikoak eta kate peptidikoan duten sekuentziak (**1.4.a Irudia**) egitura eta funtzio ezberdinak dituzten proteinak eratzen dituzte (23,24).



1.4. Irudia. Proteinen egitura-antolaketa mailak: (a) egitura primarioa, (b) egitura sekundarioa, (d) egitura tertziarioa eta (e) egitura kuarternarioa.

Egitura sekundarioa helizeaz, laminaz, ukondoaz, kiribilez eta ausazko biribilketaz osatua dago. Egitura sekundarioa, nagusiki hidrogeno zubiak lotuz eratutako antolakuntza lokal bat da. Bi egitura sekundario egonkor nagusiak, α -helizeak eta β -laminak dira (**1.4.b Irudia**). α -helizea, aminoazido baten karbonilo taldearen ($-\text{C}=\text{O}$) eta kate polipeptidikoan lau unitatera dagoen aminoazidoaren amino ($-\text{NH}$) taldearen artean ematen diren hidrogeno zubiak esker, kate polipeptidikoaren eskuineranzko biribilketa espaziala ematen da. Kate polipeptidiko espazioan bi norabideetan tolestean, hidrogeno zubiak direla medio, lamina tolestua edo β -lamina egitura sekundarioa sortzen da (23,24).

Proteinen egitura tertziarioa, egitura sekundarioak, kate polipeptidikoan aminoazidoen R-taldearen arteko elkarrekintzak direla medio (disulfuro zubiak, lotura elektrostatikoak

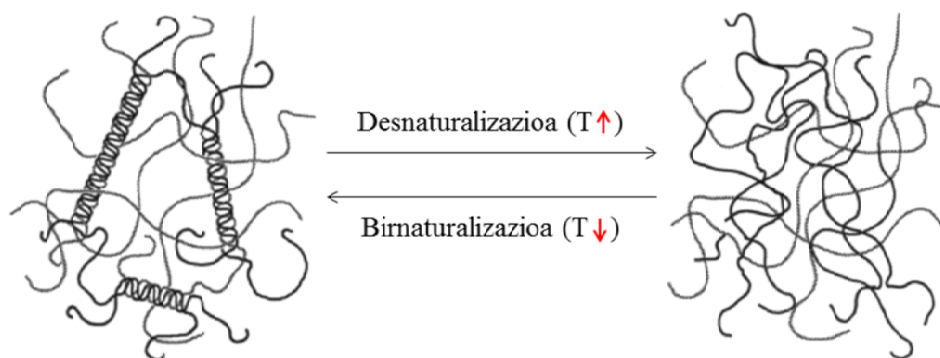
edo zubi ionikoak, interakzio hidrofobikoak eta van der Waals indarrak, hidrogeno zubiak), espazioan hartzen duen konformazio egonkorra da (23,24) (**1.4.d Irudia**).

Egitura kuarternarioa, kate polipeptidiko bat baino gehiago lotura ahulen bidez (hidrogeno zubiak, van der Waals indarrak, elektrostatikoak), supramolekula emateko elkartzen direnean, eratzen da. Egitura tertziarioarekin alderatuz, loturak antzekoak diren arren, egitura kuarternarioan loturak kateen artean ematen dira (23,24) (**1.4.e Irudia**).

1.2.1.2 Gelatina

Gelatinak, ezkererantz biribilduriko hiru kate polipeptidiko (α -kateak) elkarrekin eskuinerantz biribiltzean helize hirukoitza, superhelizea, osatzen dutelarik. Helize hirukoitzaren egitura, nagusiki, kate polipeptidikoen C=O eta N-H taldeen artean ematen diren hidrogeno zubiko lotura medio, egonkortzen da. Desnaturalizazio prozesuan, helize hirukoitzaren egitura apurtu egiten da ausazkoak diren biribilketak sortuz (**1.5. Irudia**). Ur disoluzioan, helize-ausazko biribilketa edo *helix-coil* trantsizioaren azpiko tenperatura batean hoztu ezker, gelatinaren kate batzuk beraien artean berriro elkartzen dira, kolagenoaren antza duen helize hirukoitz partziala eratzeko (**1.5. Irudia**). Kolageno antzeko helize hirukoitz partzialaren egitura aurkezten duen gelatina, birnaturalizatua edo egiturala bezala ezagutzen da.

Lotutako urak gelatina bezalako proteina askotan egitura eta funtzioa duela jakina da, izan ere lotutako urak helize hirukoitzarekin hidrogeno zubiko loturak eratzen ditu (31).



1.5. Irudia. Gelatinaren *helix-coil* eta *coil-helix* trantsizioen adierazpen eskematikoa.

Gelatinaren osagai nagusia, %85 eta 92 artean dagoena, kolageno natiboan aurkitzen diren aminoazido konposizio berdineko polipeptido molekula handiak eta konplexuak

dira. Polipeptido molekula handi hauek masa molekular banaketa zabala dute. Gainerako frakzioa gatz mineralek eta hezetasunak osatzen dute (25,27,32). Gelatinaren aminoazido arruntenak prolina (%11,5-13,2), glizina (%33,0-33,5), hidroxiprolina (%9,1-10,4), alanina (%11,4-12,2) eta azido glutamikoa (%4,8-7,2) dira (25,27,32-34).

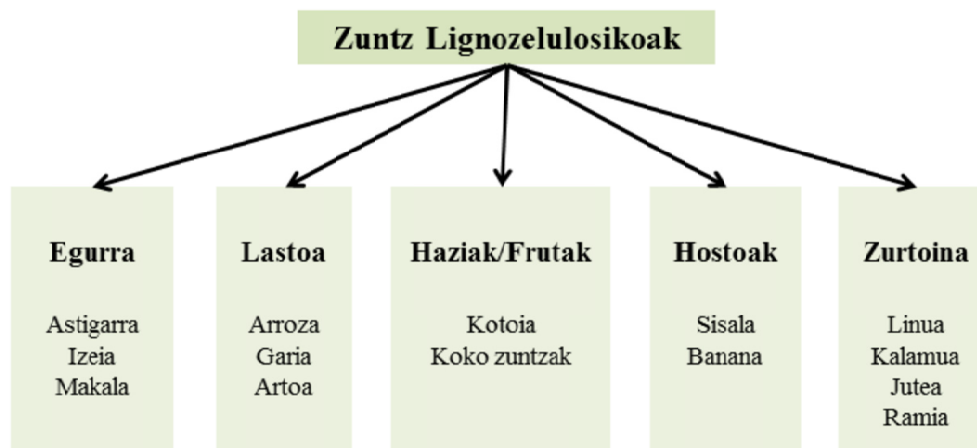
Uretan disolbaezina den kolagena tratamendu azido edo basikoaz, A motako edo B motako, hurrenez-hurren, gelatina disolbagarrian bihurtu daiteke. Tratamendu azidoan, azala edo hezurra azido diluitu baten disoluzio batetan beratzen da, egituraren apurketa partziala ematen delarik. Alkali prozesuan, kolagenoaren despolimerizazio partziala gertatzen da, egitura apurtzen delarik. Hidrolisiaren ondorioz, pH neutroan eta 60-90 °C-tan disolbagarria den gelatina sortzen da (25,26,35).

Kolageno natiboaren masa molekularra (M_w) 100-1000 KDa tartean dago (26,27) eta hidrolisi mailaren arabera, gelatinaren masa molekularra 65-300 KDa tartean aurkitzen da (34).

Gelatina ur disoluzioak 35 °C inguruko tenperatura azpitik hoztean termoitzulgarriak diren gel elastiko gardenak sortzen dituzte (35) eta soluzio-kolada edo *solvent-casting* metodoaz, gelatina filmak eratu daitezke (36,37).

1.3 Zuntz lignozelulosikoak

Zelulosak arreta bereganatu du indartzaile moduan dituen propietateengatik, hala nola, material merkea, berriztagarria, jasangarria, arina eta propietate mekaniko onak ditu (38,39). Zuntz lignozelulosikoak (linua, sisala, kalamu eta abar), duten zelulosa eduki altua eta lignina eduki baxuagatik, nanozelulosen iturri interesgarriak dira (9,40). Zuntz lignozelulosikoak hainbat iturri desberdinetatik lortu daitezke (**1.6. Irudia**) eta batez ere zelulosa, hemizelulosa eta ligninaz osatuta daude.

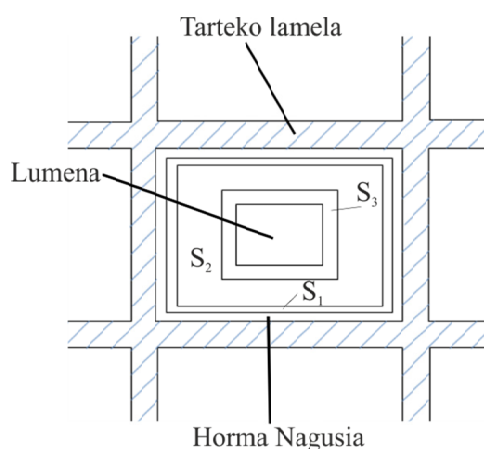


1.6. Irudia. Zuntz lignozelulosikoen iturri desberdinak.

1.3.1 Zuntz lignozelulosikoen estruktura

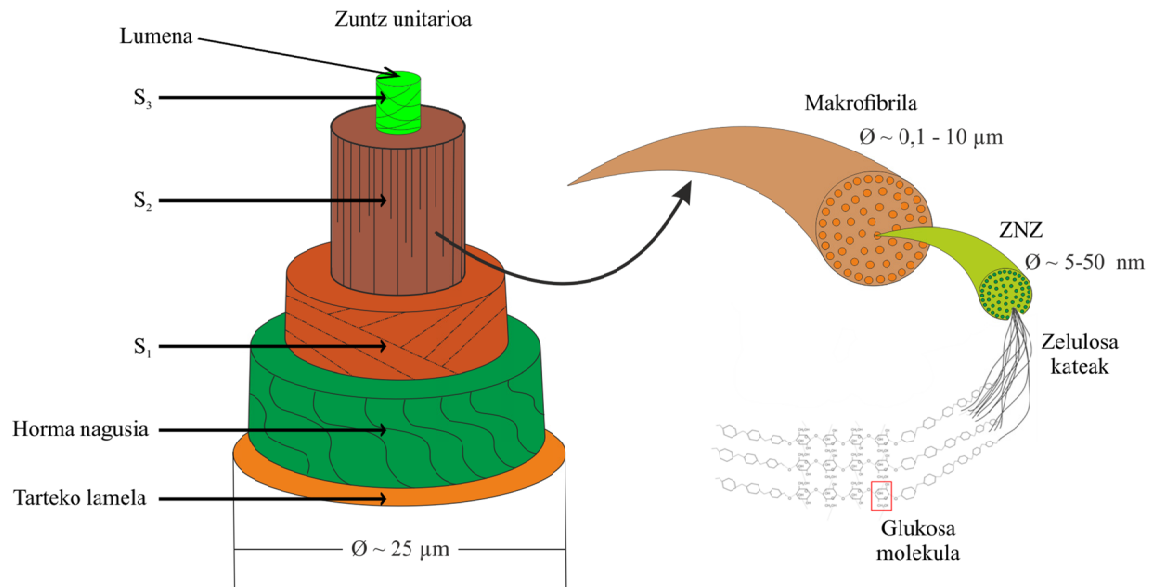
Landare zuntzak, luzeak eta horma lodiko landare zelula sortak dira. Zuntzak hodi mikroskopiko modukoak dira, non zelulen hormak lumena inguratzen duten. Lumenetik zehar ura absorbitzen dute landareek (1.7. Irudia). Zuntz lignozelulosikoak maila desberdinetan antolaketa hierarkikoa dute eta zenbait zeluletan oinarritzen dira, zeinak hemizelulosa, lignina eta pektinaz inguraturiko zelulosa nanozuntzez osatuta dauden (41-43).

Tarteko lamelaz inguraturiko zelulak, horma nagusiaz gain hiru horma sekundario ditu (S_1 , S_2 eta S_3). Horma nagusia eta sekundarioak nagusiki zelulosa, lignina eta hemizelulosaz eratuta daude, zeinak elkar loturik dauden hainbat konposite geruzak eratuz (12,44).



1.7. Irudia. Landare zelula estrukturaren irudi eskematikoa.

Zelulen horma desberdinak konposaketan eta zelulosa nanozuntzen orientazioan bereizten dira. Landare zuntz gehienetan nanozuntzek ardatz normalarekiko angelu bat osatzen dute, angelu mikrofibrilarra deritzona (**1.8. Irudia**). Horma nagusia porotsua da eta osagai ez-zelulosiko gehienak ditu, proteina, gatz inorganikoak eta kolorea ematen duten konposatuak izan ezik (12). S₂ horma sekundarioa, zelularen hormen lodieraren %80 baino gehiago da eta horma materialen gehiengo bertan kokatzen da. S₂ geruza nagusiki helikoidalki kokaturiko nanozuntzez eratuta dago (7,44). Nahiz eta horma sekundarioen osagai nagusia zelulosa den, txertaturiko zenbait lignina aurkezten dute. Horma nagusia eta sekundarioak anisotropikoak dira, hots, estruktura norantzarekin aldatzen da, aldiz tarteko lamela isotropikoa da (45).

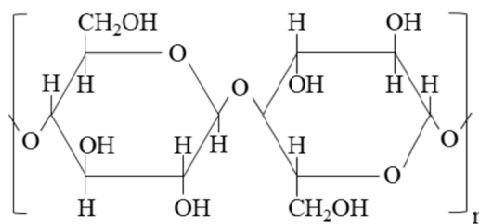


1.8. Irudia. Landare zuntz unitarioen edo zelula baten estruktura irudi eskematikoa.

1.3.2 Zuntz lignozelulosikoen osagai nagusiak

1.3.2.1 Zelulosa

Zelulosa, munduan aurkitzen den konposatu organiko oparoena, zuntz lignozelulosikoen osagai nagusia da eta estruktura funtzioa betetzen du. Zelulosa masa molekular handiko polisakarido bat da eta anhidro-D-glukosa unitateez osatuta dago, non C₁ eta C₄ karbonoak β-1,4-D-glikosidiko loturaz elkarturik dauden (**1.9. Irudia**) (44,46).



1.9. Irudia. Zelulosaren formula kimikoa.

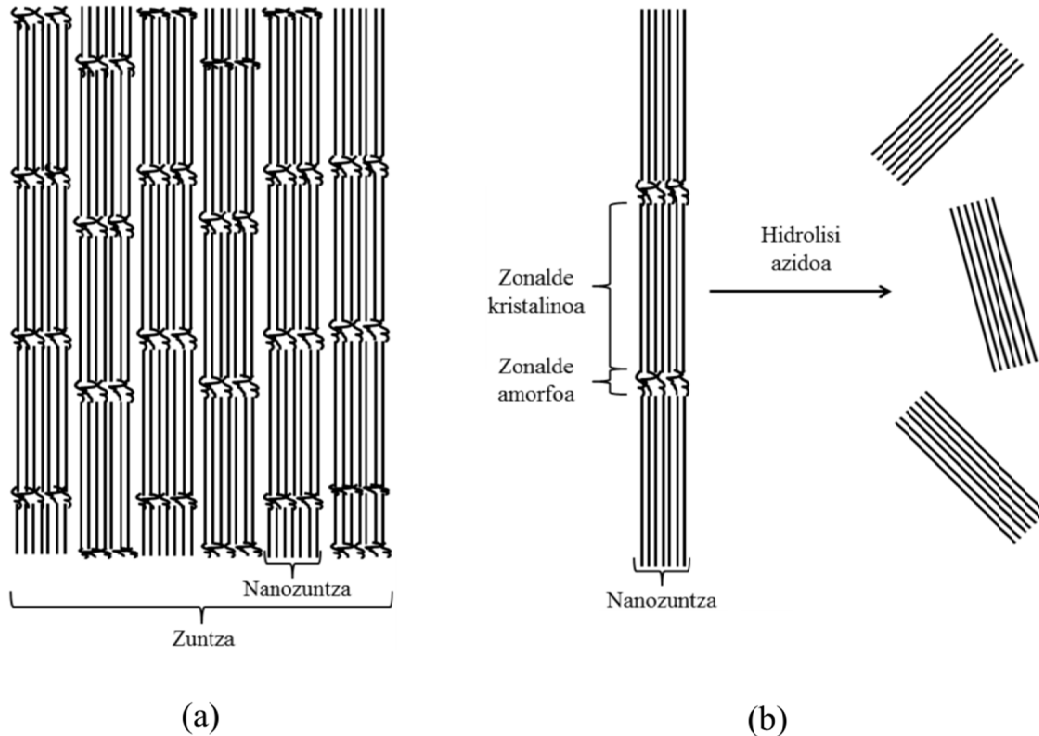
Naturan, zelulosa kateak paketaturik aurkezten dira landare zelula hormetan errepikatzen diren nanozuntzen estruktura erdikristalinoa eratzen (1.10. Irudia). Normalean, zelularen horma sekundarioan paraleloki paketaturik dauden ~ 36 zelulosa katek, 2-20 nm-ko diametroa eta 1-2 μm -tako luzera dutenak, zelulosa nanozuntzak (ZNZ) eratzen dituzte (47,48). Nanozuntzek alderdi kristalinoa eta amorfoa dute, alderdi kristalinoei zelulosa nanokristalak (ZNK) deritzote eta jatorrizko zelulosa kristal perfektuen modulu antzekoa dute (~ 150 GPa) (47,48). Zelulosaren dentsitatea baxua kontutan hartuz gero, nanokristalek ingeniartzako ohiko beste materialek baino modulu espezifikoa arinki altuagoa aurkezten dute (38,39).

Nanozelulosen isolamendua

Gaur egun nanomaterialak komertzialki ekoizteko moduan “top-down” estrategia erabiltzen da, non materialen tamaina txikituz estruktura nanometrikoak lortzen diren (2). Nanozelulosak isolatzeko modu desberdinak topatzen dira bibliografian. Zuntzen suspentsio batetik, nanozelulosak, tratamendu mekaniko bidez lor daitezke. Ebakidura indar handiak aplikatuz fibrilazio prozesuaren bidez nanozelulosak isolatzen dira (9,49-52). Erabiltzen diren lehengai eta prestaketa metodoaren arabera (homogeneizatzailea, mikrofluidifikatzailea, errota edo kriohaustea) morfologia eta itxura erlazio desberdineko nanozelulosak lor daitezke (53,54). Fibrilazio prozesuan energia asko gastatzen da eta lan tenperatura altuetan burutzen denez, zelulosa degrada daiteke. Behar energetikoa txikitzeko eta suspentsioen fibrilazio maila handitzeko, zenbait ikertzailek tratamendu mekanikoa egin aurretik, zenbait pretratamendu proposatzen dituzte, hala nola, zenbait entzima, TEMPO bidezko oxidaketa, azetilazioa, tratamendu azido eta basikoak, besteak beste (9,49,55-63).

Tratamendu kimiko egokiak konbinatuz zuntz lignozelulosikotik osagai ez-zelulosikoak erauzi daitezke eta zelulosa nanozuntzak isolatu. Tratamendu kimiko egokiekin zelulosa I estruktura kristalinoa mantentzen da eta nanozuntzek itxura erlazio handia dute (44,64)

(1.10.a Irudia). Ondoren, hidrolisi azidoa burutuz eta erreakzio baldintzak kontrolatuz (kontzentrazioa, temperatura eta denbora), zelulosazko nanokristalak lortu daitezke, zeinak propietate mekaniko espezifiko altuak eta propietate optiko apartak dituzten (65-69) (1.10.b Irudia).



1.10. Irudia. (a) Zelulosa zuntz erdikristalinoaren estruktura hierarkikoa erakusten duen irudi eskematikoa eta (b) hidrolisi azidoaz isolaturiko zelulosazko nanokristalen irudi eskematikoa.

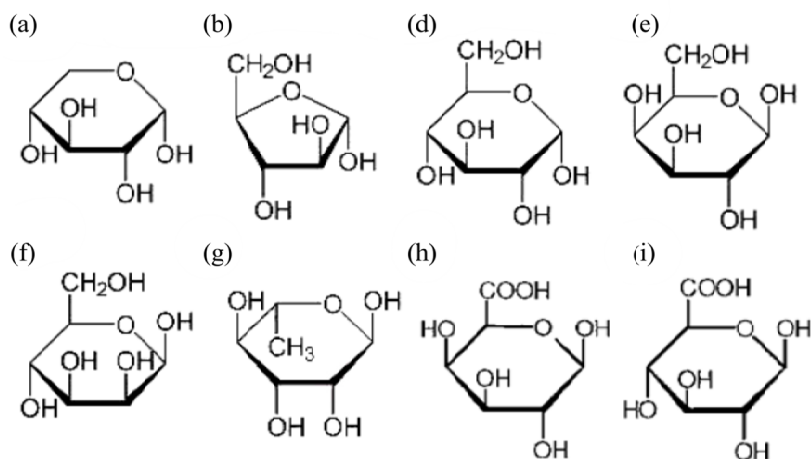
Nanozelulosa entitateak izendatzeko terminologia desberdinak erabiltzen dira literaturan, zeinak maiz zalantzak eta gaizki ulertzeak sortzen dituzten. Erabiltzen den terminologiaren zenbait adibide: nanowhiskerrak, nanokristalak, zelulosa nanokristalinoa, mikrofibrilak, mikrofibrilaturiko zelulosa, nanozuntzak, eta abar. Lan honetan erabilitako terminologia ondorengoa izan da, zelulosa nanozuntzak (ZNZ) eta zelulosa nanokristalak (ZNK). Biek nanometrotako diametroa dute, baina nanozuntzek zenbait mikretako luzera duten bitartean, nanokristalek soilik 100-700 nm-tako luzera dute.

1.3.2.2 Osagai ez-zelulosikoak

Hemizelulosak, ligninak eta pektinak, zuntz lignozelulosikoen osagai ez-zelulosiko nagusienak dira.

Hemizelulosak

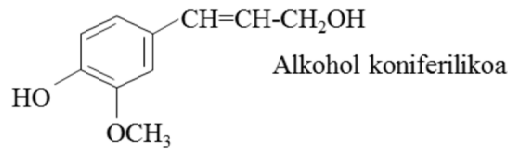
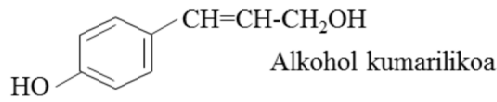
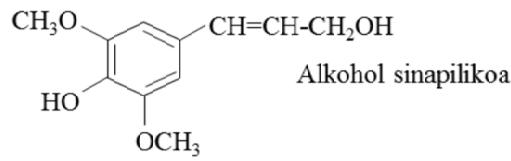
Hemizelulosak, kate adarkatu laburrak eratzen dituzten monosakarido ezberdinez eratutako osagai amorfoak dira. Zelulosaren antzeko polisakaridoa da eta zelulosarekin eta ligninarekin batera landareen zelula hormak osatzen ditu. Beraz, hemizelulosak horma zelularreko euskarri den matrizearen parte kontsidera daitezke. Orokorrean, hemizelulosak zelulosak baino masa molekular txikiagoa duenez, errektibo kimiko edo/eta bero tratamenduekin erauztea errazagoa da (44). Hemizelulosek monosakarido konposizio heterogeneoa daukate. **1.11. Irudian** hemizelulosen azukre nagusiak, hots, pentosa (D-xilosa eta L-arabinosa), hexosa (D-glukosa, D-galaktosa, D-manosa, L-ramnosa) eta azido uroniko unitateak (azido D-galakturonikoa eta azido D-glukuronikoa) aurkezten dira (44,72).



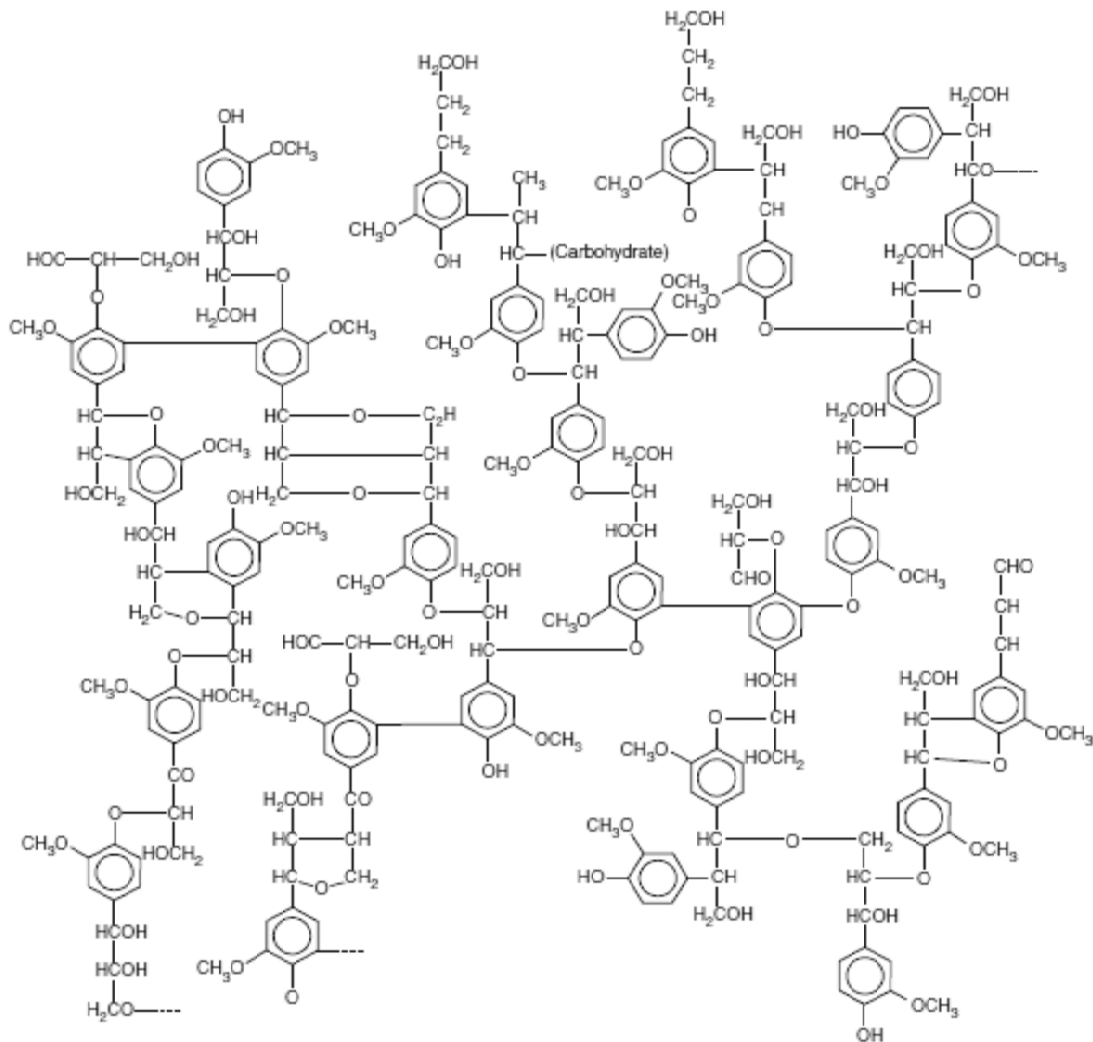
1.11. Irudia. Hemizelulosaren azukre nagusiak: a) β-D-xilopiranos, b) α-L-arabinofuranosa, d) β-D-glukopiranos, α-L-fukopiranos, e) β-D-galaktopiranos, f) β-D-manopiranos, g) α-L-ramnopiranos, h) azido β-D-galakturonikoa eta i) azido β-D-glukuronikoa.

Ligninak

Lignina irregularki elkartzen diren fenilpropanozko unitatez osatutako makromolekula da. Fenilpropano unitate nagusiak, **1.12. Irudian** aurkezten diren alkohol p-kumarilikoa (H), alkohol koniferilikoa (G) eta alkohol sinapilikoa (S) dira. Unitateen artean ematen diren C-C edo C-O-C loturak medio, hiru dimentsiotako egitura konplexu bat eratzen dute (**1.13. Irudia**). Ligninek egitura amorfoa eta polimerizazio maila oso zabala erakusten dute (72).



1.12. Irudia. Ligninaren hiru osagai nagusiak.



1.13. Irudia. Ligninaren estruktura kimikoaren modeloa.

Ligninaren eginkizuna landarea babestea da, hala nola mikrobioen erasoetatik, kanpoko eragileetatik, hezetasunetik eta higaduratik. Ligninaren egitura amorfoak landareari malgutasuna eta iragazgaiztasuna ematen dio. Lignina zelulosa/hemizelulosa polisakaridoekin interkonektatua dago (44,72).

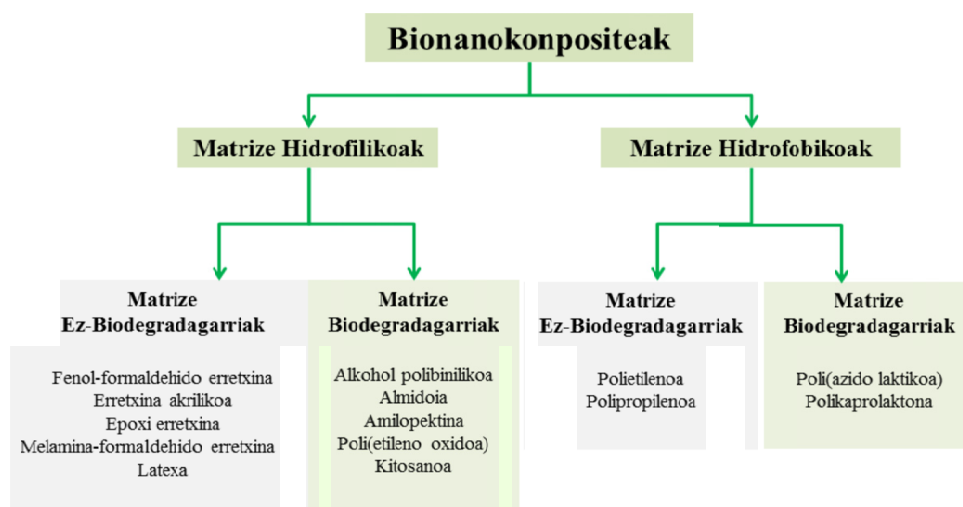
Pektinak

Pektinak masa molekular baxuko polisakaridoak dira, non polisakarido nagusienak homogalakturonanoa, ramnogalakturonanoa eta galakturonanoa diren. Pektina, tarteko lamelako osagai nagusia den arren lehenengo zelula paretan ere topatu daiteke, eta elkarren ondoan dauden bi landare zelulak elkartzen laguntzen du.

1.4 Zelulosan oinarrituriko bionanokonpositeak

Azken hamarkadan, dituen ezaugarri paregabeak kontutan izanik, nanozelulosak indartzaile moduan erabiltzeak interes handia sortu du, honela material eta nanokonposite jasangarrien arloan eman den bultzadan lagunduz. Zelulosan oinarrituriko nanokonpositeak polimero biodegradagarriekin prestatu daitezke (8,73-82).

Nanozelulosan oinarrituriko bionanokonpositeak prestatzeko polimero asko eta prozedura desberdinak erabili daitezke. Nanozelulosan oinarrituriko bionanokonpositeak, erabilitako polimero matrizearen hidrofobizitatea eta biodegradagarritasuna kontuan izanik, **1.14. Irudian** azaltzen den moduan sailka daitezke.



1.14. Irudia. Nanozelulosan oinarrituriko bionanokonpositeen sailkapena

Zelulosa nanokonposite filmak prestatzeko estrategia ezberdinak daude, hauen artean fundituan eta *solvent-casting* metodoa. Fundituan ematen den nahastearen desabantaila nagusienak ondorengoak dira: (i) matrize polimerikoan zelulosa dispertsio onak lortzea zaila da, batez ere matrize hidrofobikoak erabiltzen direnean (83), (ii) nanozelulosak liofilizatu ostean egoera lehorrean erabiltzen direnean, nanozelulosa arteko agregazioa dela eta, bionanokonpositeetan lotura sendoak eratzeko gaitasuna galtzen dute, indartzaile bezala duten eraginkortasuna txikituz (8,9,84), (iii) matrize polimerikoetan nanozelulosak gehitzean, normalean ebakidura tentsio eta tenperatura altuak jasan behar dituzte eta honek zelulosaren degradazioa sortarazi dezake (40,85).

Nanokonposite filmak prestatzeko, *casting-evaporation* edo kolada-lurruntze metodoa erabili daiteke disolbatzailea geldiro lurrunduz. Kolada eta lurruntzea bezalako prozesu geldoek, egonkortasun termiko eta indartze mekaniko handia erakusten duten hidrogeno zubiko loturaz elkartutako nanozuntzen sare zurrun baten sortzea ahalbidetzen dute (9,86).

Nanokonpositeak uretan disolbaezinak diren polimeroekin prestatu daitezke. Modu bat, polisakaridoen nanokristalak ingurune organiko egoki batetan dispertsatzea da. Ingurune organiko batetan nanozelulosa dispertsatzeko, nanoentitateen gainazala kimikoki eraldatzea edo surfaktante batekin gainestaltzea, komeni da (77,86-88). Hala eta guztiz, nanozelulosa dispertsio egokia duten suspentsioak lortzeko, nanozelulosaren masa unitateko gainazal azalera handia denez, surfaktante kantitate handiak behar dira, prozedura hau ekonomikoki bideragarria ez delarik (8,9,40,89).

Zelulosa nanokristalak ur dispertsioetan egonkorak direnez, askotan uretan dispertsagarriak edo disolbagarriak diren polimeroak aukeratu izan dira *solvent-casting* metodoaz nanokonposite filmak prestatzeko (8,14,90).

Matrize bezala uretan dispertsagarriak diren polimeroak, latex deiturikoak, polimero hidrofobikoak erabiltzeko beste aukera bat da eta gainera nanozelulosaren dispertsio onak ziurtatzen dituzte, ezinbestekoa nanokonposite homogeenak lortu nahi badira (12,86). Hala eta guztiz, normalean matrize hidrofobiko eta nanozelulosaren artean baterakortasun arazoak izaten direnez (9), matrize hidrofilikoen oinarrituriko nanokonpositeen merkaturatzeko aukera handiagoa dela pentsa daiteke. Hori dela eta, nanozelulosaren erabilera indartzaile gisa, uretan disolbagarriak diren polimeroetara

1.5 Erreferentziak

1 Kumar AP, Depan D, Tomer NS, Singh RP (2009). Nanoscale particles for polymer degradation and stabilization - Trends and future perspectives. *Prog. Polym. Sci.* 34: 479-515.

2 Azeredo HMC (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Res. Int.* 42: 1240-1253.

3 Hamad W (2006). On the development and applications of cellulosic nanofibrillar and nanocrystalline materials. *Can. J. Chem. Eng.* 84: 513-519.

4 Mittal V (2014). Polymer nanotube nanocomposites: synthesis, properties, and applications. Ed: Mittal V. Second Edition. Scrivener Publishing LLC.

5 Coulibaly S, Roulin A, Balog S, Biyani MV, Foster EJ, Rowan SJ, Fiore GL, Weder C (2014). Reinforcement of optically healable supramolecular polymers with cellulose nanocrystals. *Macromolecules* 47: 152-160.

6 Parveen A, Ali T, Wahid M, Rao S (2015). Facile biological approach for immobilization, physicochemical characterization and antibacterial activity of noble metals nanocomposites. *Mater. Lett.* 148: 86-90.

7 Kamel S (2007). Nanotechnology and its applications in lignocellulosic composites, a mini review. *eXPRESS Polym. Letters* 1: 546-575.

8 Siqueira G, Bras J, Dufresne A (2010). Cellulosic bionanocomposites: A review of preparation, properties and applications. *Polymers* 2: 728-765.

9 Siró I, Plackett D (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose* 17: 459-494.

10 Schaefer DW, Justice RS (2007). How nano are nanocomposites? *Macromolecules* 40: 8501-8517.

11 Krochta JM (2002). In book: Protein-based films and coatings. Ed: Gennadios A. CRC Press, Technology & Engineering. Chapter 1: Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. 1-41.

12 Dufresne A (2008). In book: Monomers, polymers and composites from renewable resources. Eds: Belgacem MN & Gandini A. Elsevier edition. Chapter 19: Cellulose-based composites and nanocomposites. 401-418.

13 Fan M, Collins P, Dai D (2013). Fabrication of nanocelluloses from hemp fibers and their application for the reinforcement of hemp fibers. *Ind. Crop. Prod.* 44: 192-199.

14 Samir MASA, Alloin F, Dufresne A (2005). Review of recent research into cellulosic whiskers, their properties and their application in nanocomposite field. *Biomacromolecules* 6: 612-626.

15 Niaounakis M (2013). In book: Biopolymers reuse, recycling, and disposal. Ed: Elsevier Inc. Chapter 1: Introduction to Biopolymers, 1-75.

16 Gandini A, Lacerda TM (2015). From monomers to polymers from renewable resources: recent advances. *Prog. Polym. Sci.* doi:10.1016/j.progpolymsci.2014.11.002.

17 Fabra MJ, López-Rubio A, Lagaron JM (2014). In book: Smart polymers and their applications. Eds: Aguilar De Armas MR, Román JS. Woodhead Publishing. Cambridge, UK. Chapter 15: Biopolymers for food packaging applications, 476-509.

18 Vert M (2001). In book: Biorelated polymers sustainable polymer science and technology. Part II: Biopolymer technology and applications. Eds: Chiellini E, Gil H, Braunegg G, Buchert J, Gatenholm P, Van der Zee M. Kluwer Academic/Plenum Publishers New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow. Chapter 6: Biopolymers and artificial biopolymers in biomedical applications, an overview. 63-79.

19 Shi B, Topolkaev V, James Wang J (2011). In book: Renewable and sustainable polymers. Eds: Payne GF, Smith PB. ACS Symposium Series. Chapter 8: Biopolymers, processing, and biodegradation, 117-132.

20 Ramos Berger LR, Montenegro Stamford TC, Montenegro Stamford-Arnaud Th, Cabral de Alcântara SR, Cardoso da Silva A, Marques da Silva A, Elesbão do Nascimento A, Maria de Campos-Takaki G (2014). Green conversion of agroindustrial wastes into chitin and chitosan by *Rhizopus arrhizus* and *Cunninghamella elegans* strains. *Int. J. Mol. Sci.* 15: 9082-9102.

- 21 Chambi H, Grosso C (2006). Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. *Food Res. Int.* 39: 458-466.
- 22 Mu C, Guo J, Li X, Lin W, Li D (2012). Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. *Food Hydrocolloid* 27: 9-22.
- 23 Lau JY (Ph. D. thesis) (2005). Protein structure database for structural genomics group. Graduate School-New Brunswick Rutgers, The State University of New Jersey.
- 24 Zhang L, Zeng M (2008). In book: *Monomers, polymers and composites from renewable resources*. Eds: Belgacem MN, Gandini A. Elsevier edition. Chapter 23: Proteins as sources of materials. 479-493.
- 25 Schrieber R, Gareis H (2007). In book: *Gelatine handbook: theory and industrial practice*. Publisher: Wiley-VCH, ISBN: 3527315489. 1-335.
- 26 Arvanitoyannis IS (2002). In book: *Protein-based films and coatings*. Ed: Gennadios A. CRC Press, Technology & Engineering. Chapter 11: Formation and properties of collagen and celatin films and coatings. 275-304.
- 27 Shubhra QTH (2013). In book: *Gelatin: production, applications and health implications*. Ed.: Gökhan Boran, Chapter 5: Gelatin film and fiber reinforced gelatin composites. 87-110.
- 28 Cai Z, Kim J (2010). Preparation and characterization of novel bacterial cellulose/gelatin scaffold for tissue regeneration using bacterial cellulose hydrogel. *J. Nanotechnol. Eng. Med.* 1: 1-6.
- 29 Hashim DM, Che Man YB, Norakasha R, Shuhaimi M, Salmah Y, Syahariza ZA (2010). Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. *Food Chem.* 118: 856-60.
- 30 Martucci JF, Ruseckaite RA (2009). Biodegradation of three-layer laminate films based on gelatin under indoor soil conditions. *Polym. Degrad. Stabil.* 94: 1307-1313.

- 31 Dai C-A, Chen Y-F, Liu M-W (2006). Thermal properties measurements of renatured gelatin using conventional and temperature modulated differential scanning calorimetry. *J. Appl. Polym. Sci.* 99: 1795-1801.
- 32 Thakur G (2013). In book: *Gelatin: production, applications and health implications*. Ed.: Gökhan Boran, Chapter 3: Gelatin-based matrices for drug delivery applications. 49-70.
- 33 Bertoldo M, Bronco S (2013). In book: *Gelatin: production, applications and health implications*, Ed.: Gökhan Boran, Nova Science Publishers. Chapter 1: Chemical Methods for gelatin crosslinking: a review. 1-30.
- 34 Fakirov S (2007). In book: *Handbook of engineering biopolymers: homopolymers, blends and composites*. Eds: Hanser Gardner Pubn, Chapter 14: Gelatin and gelatin-based biodegradable composites: manufacturing, properties and bio degradation behaviour. 419-461.
- 35 Ray SS, Bousmina M (2005). Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: in greening the 21st century materials world. *Prog. Mater. Sci.* 50: 962-1079.
- 36 Mogilner IG, Ruderman G, Grigera JR (2002). Collagen stability, hydration and native state. *J. Mol. Graphics Model* 21: 209-213.
- 37 Draye JP, Delaey B, Voorde AVD, Bulcke AVD, Rue BD, Schacht E (1998). In vitro and in vivo biocompatibility of dextran dialdehyde cross-linked gelatin hydrogel films. *Biomaterials* 19: 1677-1687.
- 38 Eichhorn SJ, Dufresne A, Aranguren M, Marcovich NE, Capadona JR, Rowan SJ, Weder C, Thielemans W, Toman M, Renneckar S, Gindl W, Veigel S, Keckes J, Yano H, Abe K, Nogi M, Nakagaito AN, Mangalam A, Simonsen J, Benight AS, Bismarck A, Berglund LA, Peijs T (2010). Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. *J. Mater. Sci.* 45: 1-33.
- 39 Habibi Y, Lucia LA, Rojas OJ (2010). Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. *Chem. Rev.* 110: 3479-3500.

- 40 Hubbe MA, Rojas OR, Lucia LA, Sain M (2008). Cellulosic nanocomposites: a review. *Bioresources* 3: 929-980.
- 41 Bledzki AK, Gassan J (1999). Composites reinforced with cellulose based fibres. *Prog. Polym. Sci.* 24: 221-274.
- 42 Bogoeva-Gaceva G, Avella M, Malinconico M, Buzarovska A, Grozdanov A, Gentile G, Errico ME (2007). Natural fiber eco-composites. *Polym. Compos.* 28: 98-107.
- 43 Bismarck A, Aranberri-Askargorta I, Springer J (2002). Surface characterization of flax, hemp and cellulose fibers; surface properties and the water uptake behavior. *Polym. Compos.* 23: 872-894.
- 44 Retegi A (Ph. D. thesis) (2009). Development of bionanocomposites based on cellulose microfibrils. Polytechnic School of San Sebastian.
- 45 Morvan C, And me-Onzighi C, Girault R, Himmelsbach DV, Driouich A, Akin DE (2003). Building flax fibres: more than one brick in the walls. *Plant Physiol. Bioch.* 41: 935-944.
- 46 Morán JI, Alvarez VA, Cyras VP, Vázquez A (2008). Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose* 15: 149-159.
- 47 Samir MASA, Alloin F, Paillet M, Dufresne A (2004). Tangling effect in fibrillated cellulose reinforced nanocomposites. *Macromolecules* 37: 4313-4316.
- 48 Vincent JFV (1999). From cellulose to cell. *J. Exp. Biol.* 202: 3263-3268.
- 49 Lavoine N, Desloges I, Dufresne A, Bras J (2012). Microfibrillated cellulose – its barrier properties and applications in cellulosic materials: a review. *Carbohydr. Polym.* 90: 735-764.
- 50 Turbak AF, Snyder FW, Sandberg KR (1983). Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential. *J. Appl. Polym. Sci.: Appl. Polym. Symp.* 37: 815-827.

51 Herrick FW, Casebier RL, Hamilton JK, Sandberg KR (1983). Microfibrillated cellulose: morphology and accessibility *J. Appl. Polym. Sci.: Appl. Polym. Symp.* 37: 797-813.

52 Nakagaito AN, 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. *Appl. Phys. A* 78: 547-552.

53 Bras J, Viet D, Bruzzese C, Dufresne A (2011). Correlation between stiffness of sheets prepared from cellulose whiskers and nanoparticles dimensions. *Carbohydr. Polym.* 84: 211-215.

54 Svagan AJ, Samir MASA, Berglund LA (2008). Biomimetic foams of high mechanical performance based on nanostructured cell walls reinforced by native cellulose nanofibrils. *Adv. Mater.* 20: 1263-1269.

55 Hassan ML, Hassan EA, Oksman K (2011). Effect of pretreatment of bagasse fibers on the properties of chitosan/microfibrillated cellulose nanocomposites. *J. Mater. Sci.* 46: 1732-1740.

56 Engstrom A-C, Ek M, Henriksson G (2006). Improved accessibility and reactivity of dissolving pulp for the viscose process: pretreatment with monocomponent endoglucanase. *Biomacromolecules* 7: 2027-2031.

57 Pääkkö M, Ankerfors M, Kosonen H, Nykänen A, Ahola S, Osterberg M, Ruokolainen J, Laine J, Larsson PT, Ikkala O, Lindström T (2007). Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules* 8: 1934-1941.

58 Henriksson M, Henriksson G, Berglund LA, Lindstrom T (2007). An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. *Eur. Polym. J.* 43: 3434-3441.

59 Saito T, Nishiyama Y, Putaux J-L, Vignon M, Isogai A (2006). Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose. *Biomacromolecules* 7: 1687-1691.

- 60 Okahisa Y, Yoshida A, Miyaguchi S, Yano H (2009). Optically transparent wood-cellulose nanocomposite as a base substrate for flexible organic light-emitting diode displays. *Compos. Sci. Technol.* 69: 1958-1961.
- 61 Alemdar A, Sain M (2008). Biocomposites from wheat straw nanofibers: morphology, thermal and mechanical properties. *Compos. Sci. Technol.* 68: 557-565.
- 62 Gindl-Altmutter W, Veigel S, Obersriebnig M, Toppelreither C, Keckes J (2012). In book: *Functional materials from renewable sources*. Eds: Liebner, F., Rosenau T. ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC. Chapter 1. High-modulus oriented cellulose nanopaper, 1107: 3-16.
- 63 Wang B, Sain M, Oksman K (2007). Study of structural morphology of hemp fiber from the micro to the nanoscale. *Appl. Compos. Mater.* 14: 89-103.
- 64 Frone AN, Panaitescu DM, Donescu D (2011). Some aspects concerning the isolation of cellulose micro- and nano-fibers. *U.P.B. Sci. Bull.* 73: 133-152.
- 65 Oksman K, Sain M (2006). In book: *Cellulose nanocomposites: processing, characterization, and properties*. Eds: Oksman K & Sain M. In: *Proceedings of the 229th Meeting of the American Chemical Society held 2005 in San Diego, California*. ACS Symp. Ser., Vol 938.
- 66 Wu Q, Meng Y, Concha K, Wang S, Li Y, Ma L, Fu S (2013). Influence of temperature and humidity on nano-mechanical properties of cellulose nanocrystal films made from switchgrass and cotton. *Ind. Crop. Prod.* 48: 28-35.
- 67 Fleming K, Gray DG, Matthews S. (2001) Cellulose crystallites. *Chem. Eur. J.* 7: 1831-35.
- 68 Lima MMD; Borsali R (2004). Rodlike Cellulose microcrystals: structure, properties, and applications. *Macromol. Rapid Commun.* 25: 771-787.
- 69 Araki J, Wada M; Kuga S, Okano T (1998). Flow properties of microcrystalline cellulose suspension prepared by acid treatment of native cellulose. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 142: 75-82.

- 70 Zaini LH, Jonoobi M, Tahir PM, Karimi S. Isolation and characterization of Cellulose Whiskers from Kenaf (*hibiscus cannabinus L.*) bast fibres (2013). *J Biomater Nanobiotechnol* 4: 37-44.
- 71 Kargarzadeh H, Ahmad I, Abdullah I, Dufresne A, Zainudin SY, Sheltami RM (2012). Effects of hydrolysis conditions on the morphology, crystallinity, and thermal stability of cellulose nanocrystals extracted from kenaf bast fibers. *Cellulose* 19: 855-866.
- 72 Egüés I (Ph. D. thesis) (2013). Lignocellulosic materials as new renewable resources: extraction, purification and potential use of hemicelluloses. Polytechnic School of San Sebastian.
- 73 Mesquita JP de M, Donnici CL, Pereira FV (2010). Biobased nanocomposites from layer-by-Layer assembly of cellulose nanowhiskers with chitosan. *Biomacromolecules* 11: 473-480.
- 74 Lu J, Wang T, Drzal LT (2008). Preparation and properties of microfibrillated cellulose polyvinyl alcohol composite materials. *Composites: Part A* 39: 738-746.
- 75 Kvien I, Sugiyama J, Votrubec M, Oksman K (2007). Characterization of starch based nanocomposites. *J. Mater. Sci.* 42: 8163-8171.
- 76 Oksman K, Mathew AP, Bondeson D, Kvien I (2006). Manufacturing process of cellulose whiskers/polylactic acid nanocomposites. *Compos. Sci. Technol.* 66: 2776-2784.
- 77 Petersson L, Kvien I, Oksman K (2007). Structure and thermal properties of poly(lactic acid)/cellulose whiskers nanocomposite materials. *Compos. Sci. Technol.* 67: 2535-2544.
- 78 Dufresne A, Belgacem MN (2013). Cellulose-reinforced composites: from micro-to nanoscale. *Polímeros* 23, 277-286.
- 79 Yu H-Y, Qin Z-Y, Yan C-F, Yao J-M. Green nanocomposites based on functionalized cellulose nanocrystals: a study on the relationship between interfacial interaction and property enhancement (2014). *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2: 875-886.

- 80 Song Z, Xiao H, Zhao Y (2014). Hydrophobic-modified nano-cellulose fiber/PLA biodegradable composites for lowering water vapor transmission rate (WVTR) of paper. *Carbohydr. Polym.* 111: 442-448.
- 81 Fortunati E, Luzi F, Puglia D, Dominici F, Santulli C, Kenny JM, Torre L (2014). Investigation of thermo-mechanical, chemical and degradative properties of PLA-limonene films reinforced with cellulose nanocrystals extracted from *Phormium tenax* leaves. *Eur. Polym. J.* 56: 77-91.
- 82 Hietala M, Mathew AP, Oksman K (2013). Bionanocomposites of thermoplastic starch and cellulose nanofibers manufactured using twin-screw extrusion. *Eur. Polym. J.* 49: 950-956.
- 83 Mathew AP, Chakraborty A, Oksman K, Mohini S (2006). In book: *Cellulose nanocomposites, processing, characterization and properties*. Eds: Oksman K, Sain M. ACS symposium series, Oxford University Press. Chapter 9: The structure and mechanical properties of cellulose nanocomposites prepared by twin screw extrusion. 938: 114-31.
- 84 Bondeson D, Oksman K (2007). Polylactic acid/cellulose whisker nanocomposites modified by polyvinyl alcohol. *Composites: Part A* 38: 2486-2492.
- 85 Le Baillif M, Oksman K (2009). The effect of processing on fiber dispersion, fiber length, and thermal degradation of bleached sulfite cellulose fiber polypropylene composites. *J. Thermoplast. Compos.* 22: 115-133.
- 86 Dufresne A (2009). Polymer nanocomposites from biological sources. Ed: Nalwa HS. *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*. Volume X: 1-32.
- 87 Bergenstråhle M, Mazeau K, Berglund LA (2008). Molecular modeling of interfaces between cellulose crystals and surrounding molecules: effects of caprolactone surface grafting. *Eur. Polym. J.* 44: 3662-3669.
- 88 Braun B, Dorgan JR (2009). Single-step method for the isolation and surface functionalization of cellulosic nanowhiskers. *Biomacromolecules*, 10: 334-341.

- 89 Dufresne A (2006). Comparing the mechanical properties of high performance polymer nanocomposites from biological sources. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 6: 322-330.
- 90 Peng BL, Dhar N, Liu HL, Tam KC (2011). Chemistry and applications of nanocrystalline cellulose and its derivatives: a nanotechnology perspective. *Can. J. Chem. Eng.* 9999: 1-16.
- 91 Kvien I, Oksman K (2007). Orientation of cellulose nanowhiskers in polyvinyl alcohol. *Appl. Phys. A.* 87: 641-643.
- 92 Lu A, Ma Z, Zhuo J, Sun G, Zhang G (2013). Layer-by-layer structured gelatin nanofiber membranes with photoinduced antibacterial functions. *J. Appl. Polym. Sci.* 128: 970-975.
- 93 Peña C, Mondragon G, Algar I, Mondragon I, Martucci J, Ruseckaite R (2013). In book: *Gelatin: production, applications and health implications*. Eds: Gökhan Boran, Nova Science Publishers. Chapter 4: Gelatin films: renewable resource for food packaging. 1-15.
- 94 George J, Siddaramaiah (2012). High performance edible nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals. *Carbohydr. Polym.* 87: 2031-2037.

2. KAPITULUA

MATERIALAK ETA TEKNIKA ESPERIMENTALAK

Kapitulu honetan, nanozelulosaren isolamenduan eta bionanokonpositeen prestaketan erabili diren materialak azaltzen dira, baita erabilitako karakterizazio teknikak eta analisi fisiko-kimikoan, termikoan, dinamiko-mekanikoan, mekanikoan, morfologikoan eta hesi-propietateen determinazioan erabili diren baldintzak ere.

2.1 Materialak

Lan honetan zenbait zuntz lignozelulosiko erabili dira nanozelulosaren isolamendurako. Sisal zuntzak (S), Celulosa de Levante, S.A. (Espainia) eta linu (L) eta kalamu (K) zuntzak, Arctic Fiber Company (Finlandia) enpresak horniturikoak izan dira. Bestalde, bionanokonpositeen prestaketan, 5. Kapituluaren, Maine Unibertsitateak gel eran hornituriko zelulosa nanozuntzen (ZNZ) suspentsioa erabili da. UNE-EN ISO 638 arauaren bidez (1), nanozelulosa suspentsioaren solido edukia %1,65-koa determinatu da.

Nanozelulosaren erauzketa eta isolamendu prozesuan burutu diren tratamendu kimiko espezifikoentzat erabili diren errektiboak ondorengoak dira: Panreac etxeko etanola (%96 bolumenean) eta toluenoa, sodio hidroxido pikorrak PA-ACS-ISO, azido azetiko glaziala QP, azido nitrikoa PA-ISO (%65 purutasuna) eta azido sulfurikoa PA-ISO (%96 purutasuna) izan dira. Erreaktibo guztiak inongo purifikaziorik gabe, jaso bezala, erabili dira. Dialisian Spectra Por® 6 MWCO 8000 mintzak erabili dira.

Bionanokonpositeetan matrize gisa, txerritik eratorritako eta pretratamendu azidoa jaso duen A motako gelatina hauts komertziala (G), Sigma-Aldrich etxeak horniturikoa, aukeratu da. Jaso den moduan erabili da, inongo tratamendurik gabe. Gelatinaren Bloom zenbakia 225–325 tartean kokatzen da, bere batez besteko masa molekularra 50.000–100.000 g/mol bitartean egonik.

2.2 Zuntz lignozelulosikoen konposizio kimikoaren analisisia

Sisala, kalamu eta linu zuntzen konposizio kimikoa TAPPI (Technical Association of Pulp and Paper Industry) arauak (2-8) jarraituz analizatu da. Nahiz eta arau hauek hasiera batean egurra eta paperarekin erabiltzen ziren, gaur egun material lignozelulosikoen karakterizazioan erabiltzen dira. Arau hauek eranskinean deskribatzen dira. Jarraituriko arauak ondorengoak dira: laginen prestakuntza (TAPPI T257 cm-85), hezetasun edukia (TAPPI T264 cm-97), errautsen edukia (TAPPI T211 om-02), ur

beroan disolbagarriak (TAPPI T207 cm-99), %1 NaOH-tan disolbagarriak (TAPPI T212 om-02), etanol-tolueno soluzioarekin erauziak (TAPPI T204 cm-97), azidoetan disolbaezina den lignina (TAPPI T222 om-02). Holozelulosa edukia, Wise eta kideek 1946. urtean erabilitako prozeduraz determinatu da (9). 1983. urtean Rowell eta kideek erabilitako prozedura jarraituz α -zelulosa determinatu da (10). Azkenik, zuntzen hemizelulosen edukia, holozelulosa eta α -zelulosaren edukien arteko diferentzia eginez kalkulatu da. Emaitzak esanguratsuak izan daitezzen, prozedura esperimental bakoitza gutxienez hiru aldiz errepikatu da, honela batezbesteko bat lortuaz.

2.3 Karakterizazio fisiko-kimikoa

2.3.1 Fourier transformatuaren espektroskopia infragorria

Fourier transformatuaren espektroskopia infragorria (FTIR) zuntzen osagaiak identifikatzeko eta nanozelulosaren isolatze prozesuan zehar, erreakzio kimiko ezberdinek konposaketa kimikoan sortzen dituen aldaketak jarraitzeko erabili da. Nicolet etxeko Nexus 670 espektrometroa erabili da eta espektro guztiak 40 ekorketa burutuz lortu dira, $4000-400\text{ cm}^{-1}$ uhin zenbaki tartean, 2 cm^{-1} bereizmena erabili delarik. Laginak KBr-rekin nahastu dira eta konpresioz pastilak lortu dira.

Bionanokonpositeen karakterizazioa, ATR Golden Gate (Specac) osagarriarekin espektrometro berdinean egin da. Espektro guztiak 64 ekorketa burutuz lortu dira, $4000-750\text{ cm}^{-1}$ uhin zenbaki tartean, bereizmena 8 cm^{-1} -ekoa izan delarik.

2.3.2 X izpien difrakzioa

Jatorrizko zuntzen eta zelulosazko nanoentitateen (ZNZ eta ZNK) isolamenduan, erreakzio kimiko ezberdinen osteko laginen egitura kristalinoa, X izpien difrakzioaren (XRD) bidez analizatu da. X izpien difraktogramak, PHILIPS 1 X'PERT PRO difraktometro automatikoa erabiliz lortu dira, 40 kV eta 40 mA-tan lan eginez, theta-theta konfigurazioan, Cu-K α ($\lambda = 1.5418\text{ \AA}$) erradiazioarekin eta bigarren mailako monokromadore bat erabiliz. Datuak biltzeko, PixCel motako detektagailu bat erabili da $2\theta = 6-60^\circ$ tartean, non θ , X izpien intzidentzia eta laginaren arteko angelua den.

Zelulosa laginen kristaltasun maila (CI), Segal eta kideek proposaturiko metodo enpirikoaz kalkulatu da (11):

$$CI = \left(\frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \right) \times 100 \quad (1)$$

non I_{002} zelulosaren (002) plano kristalografikoari dagokion pikoaren intentsitatea den, $2\theta = 23^\circ$ -tan agertzen dena, eta I_{am} laginaren zati amorfoak sakabanatutako intentsitatea den, $2\theta = 18^\circ$ -tan kokatua.

2.3.3 Oinarrizko analisi kimikoa

Nanozelulosaren oinarrizko analisi kimikoa, EA 3000 analizatzailea erabiliz (Eurovector) burutu da. Lagina (4-6 mg) ezta inu kapsula batean kokatzen da oinarrizko analizatzailearen barnean, eta ondoren, modu automatikoan erretzen da. Errekuntzako produktuak, gas eramailearen bidez garraiatzen dira zutabe kromatografiko bateraino, eta bertan, bereizketa egiten da. Eroankortasun termikoko detektagailu batek seinale bat igortzen du elementu bakoitzeko. Ondoren, seinale hori, edukiaren ehunekotan adierazten da. Teknika honen bidez, laginen S edukia (%) determinatu da eta ondoren zelulosaren ordezkapen-maila (DS) kalkulatu da, hots, glukosa unitate batean dauden 3 hidroxilo taldeetatik ordezkaturiko sulfato taldeak.

2.4 Karakterizazio termikoa

2.4.1 Analisi termograbitmetrikoa

Analisi termograbitmetrikoa (TGA) tenperatura ekorketa batean, laginaren frakzio hegazkorrei atxikitutako masa aldaketen neurketa kuantitatiboan oinarritzen da. Zuntz lignozelulosikoen eta bionanokonpositeen egonkortasun termikoa TGA/SDTA 851 Mettler Toledo etxeko termobalantza baten bidez analizatu da. Laginak, 5-10 mg bitarteko masarekin, kuartozko kapsula batean 25 eta 800 °C bitartean, 10 °C min⁻¹-ko abiaduraz berotu dira. Degradazio termooxidatiboa ekiditeko, saiakerak nitrogeno fluxu konstantepean (10 mL min⁻¹) burutu dira. Masa galera eta honen denborarekiko aldaketa, tenperaturaren aurrean analizatu dira. Termogrametatik lurrunduriko ura, degradazio haste tenperatura (T_{onset}), degradazio maximoaren tenperatura (T_{max}) eta 600 edo 800 °C-tako hondakina (%) determinatu dira.

2.4.2 Ekorketa diferentzialeko kalorimetria

Mettler Toledo etxeko 822e kalorimetroarekin bionanokonpositeen ekorketa diferentzialeko kalorimetriako (DSC) datuak lortu dira, Intracooler hozte sistema erabiliz giro tenperatura baino baxuagoko portaera ezagutzeko asmoz. Tenperatura eta

bero-fluxua indio patroia erabiliz kalibratu dira. Saiaketan zehar gerta daitezkeen lagin galerak saihesteko, 4-10 mg bitarteko lagin kantitatea aluminio kapsuletan itxi dira. Kapsula hauen aluminiozko estalkian zulo bat egin da beroketan lurrundutako ura kanporatzeko. Laginen portaera termikoa aztertzeko, hiru ekorketa dinamiko burutu dira. Lehenengoa, -60 °C-tik 240 °C-tara, bigarrena, 240 °C-tik -60 °C-tara eta hirugarrena, -60 °C-tik 250 °C-tara. Hirurak 10 °C min⁻¹-eko abiadura berdina erabiliz eta nitrogeno fluxu konstantepean burutu dira. Ekorketa dinamikoen artean, lagina ekorketaren haste baldintzetara egokitu dadin, minutu bateko etapa isoterminoak tartekatu dira. Bero fluxuaren aldaketa tenperaturaren aurrean analizatuz, lehen eta bigarren mailako trantsizio termikoak lortu dira, hala nola entalpiak eta beira trantsizioak, hurrenez hurren.

2.4.3 Analisi dinamiko-mekanikoa

Lan honetan prestatutako bionanokonpositeen analisi dinamiko-mekanikoa (DMA) Gabo etxeko Eplexor 100 N analizatzailean burutu dira %0,05-eko hasierako deformazioa eta trakzio geometria erabiliz. Datu guztiak 1 Hz-ko maiztasunez, 2 °C min⁻¹-eko ekorketa abiadura erabiliz, -100 eta 250 °C tenperatura tartean lortu dira. Analisi dinamiko-mekanikorako, *solvent-casting* bidez lortutako bionanokonposite filmetatik 30x5x0,08 mm³ dimentsioa duten laginak moztu dira. Pilaketa moduluaren (E') eta galera-faktorearen (tan δ) bilakaera tenperaturaren aurrean aztertu dira.

2.5 Karakterizazio morfologikoa

2.5.1 Mikroskopia optikoa

Nikon Eclipse E600 mikroskopia optikoa (OM) erabiliaz, jatorrizko zuntzen eta tratamendu kimiko ezberdinen osteko zuntzen gainazaleko ezaugarri estruktural eta morfologikoen analisia egin da. Mikroskopia optikorako laginak, masan %1-eko suspentsioa hainbat orduz etengabe irabiatu ostean, bertatik pipeta batekin beirazko porta batean hainbat tanta isuriz prestatu dira. Laginak airean lehortu ondoren, irudiak islapen moduan lortu dira.

2.5.2 Ekorketa elektronikoazko mikroskopia

Ekorketa elektronikoazko mikroskopia (SEM), tratamendu kimiko ezberdinak jasan osteko zuntz lignozelulosikoen gainazaleko estruktura eta morfologiaren xehetasunak

aztertzeko erabili da. Bestalde, trakzio saiaketa ondorengo haustura gainazalaren mikrostrukturak aztertzeko, erabili da ere. SEM mikrografiak JEOL JSM-6400 mikroskopiaz wolframio harizpi batekin, 20 kV-tako tentsio azeleratu bat erabiliz eta 15 mm-ko lan-distantzia batekin lortu dira. Laginak, hutsuneaz baliatuz karbonozko estaldura batekin gainestalduta dira.

2.5.3 Indar atomikozko mikroskopia

Indar atomikozko mikroskopia (AFM), isolatutako zelulosa nanozuntzen eta nanokristalen morfologia aztertzeko erabili da. Irudi guztiak giro tenperaturan lortu dira, 320 kHz-ko erresonantzia-maiztasuna eta 5-10 nm bitarteko erradioa eta 125 μm -ko luzera duen siliziozko *cantilever* Nanoscope IIIa Multimode (Digital Instruments etxekoa) mikroskopiaaren bitartez, *tapping* edo aldizkako moduan lan eginez. Neurketetan zehar 0,8-1,0 lerro segundoko ekorketa abiadurak erabili da 16x16 μm^2 -ko gehienezko tartea neur dezakeen eskanerrarekin. Hainbat zonalde aztertu dira, antzeko emaitzak lortuz.

Nanozelulosaren morfologia aztertzeko, lortutako suspentsio diluituak 5-10 minutuz sonikatu ondoren mika substratuaren gainean tanta bat isurtzen da, *spin-coating* teknikaren bidez 120 segundoz eta 2000 rpm-ko biratze-abiadurarekin nanoentitateak dispersatuaz. Azkenik, 24 orduz laginak lehorgailuan lehortzen uzten dira.

Morfologiaren analisisiaz gain, indar atomikoen mikroskopia nanozelulosen dimentsioak neurtzeko ere erabili da. Nanokristalen luzera AFM altuera irudietatik kalkulatu da, 30 neurtuta kontuan hartuz. Mikroskopiaaren puntaren erradioak nanokristalen diametroen kalkuluan izan dezakeen efektua ezabatu asmoz (12,13), nanozelulosen diametroa AFM altuera profilen bidez neurtu da, Nanoscope V analisi softwarea erabiliz eta nanokristalek itxura zilindrikoa dutela kontsideratuz.

2.6 Karakterizazio mekanikoa

Gelatina/nanozelulosa bionanokonpositeen propietate mekanikoak trakzio saiaketen bidez neurtu dira, 250 N karga-zelulaz hornitua dagoen MTS Insight 10 gailu elektromekanikoa erabiliz. Trakzio saiaketak giro tenperaturan burutu dira *solvent-casting*-ez lorturiko 60-80 μm -ko lodiera duten filmetatik zakur-hezur itxura duten probetak erabiliaz. Probetak ASTM D 1708-93 araua jarraituz (14), 4,75 mm-ko zabalera eta 22,25 mm-ko luzerako sekzio estutik apurtzen dira. Bionanokonposite

sistema bakoitzarentzat 5 lagin saiatu dira. Tentsio-deformazio makurretik, Young-en modulua (E_t), trakzio erresistentzia (σ_t) eta hausturako deformazioa ($\epsilon_{\text{haustura}}$) kalkulatu dira.

2.7 Hesi-propietateak

2.7.1 Ur-lurrunarekiko iragazkortasuna

Ur-lurrunaren transmisio abiadura (WVTR) neurketak zelula grabimetriko bat erabiliz, 10^{-5} g-ko prezisioa duen Sartorius BP210D balantza batean, 25 °C-tan eta ASTM E96-95 araua jarraituz (15) burutu dira. Zelula urez betetzen da (uraren aktibitatea = 1, ur purua delako) eta zelularen ahoa bionanokonposite filmarekin itxi egiten da, honela ur-lurruna bakarrik filma zeharkatuz atera daiteke. Filmaren bi aldeetan dagoen kontzentrazio diferentziak, masa garraio bat eragiten du zelularen kanpoaldera, denboran zehar monitorizatuko den masa galera bat sortuz. Datu hauek WVTR-rekin zuzenean erlazionatu daitezke:

$$\text{WVTR} = \frac{m \times l}{A \times (a_{\text{barruan}} - a_{\text{kanpoan}})} \quad (2)$$

non, m masa galera abiadura den, l eta A filmaren lodiera eta azalera ($2,54 \text{ cm}^2$) diren, hurrenez hurren, eta a_{barruan} eta a_{kanpoan} , hezetasun erlatiboa zelularen alde banatan, hurrenez hurren. Filmen lodiera $1 \mu\text{m}$ -ko zehaztasunaz Duo Check kalibre batez neurtu dira. Lorturiko emaitzak, 3 neurketen batezbestekoak dira.

2.7.2 Oxigenoarekiko iragazkortasuna

Oxigenoaren transmisio abiadura (OTR) neurketak gasen iragazkortasuna neurtzen duen Mocon OX-TRAN 2/21 gailuarekin ASTM D3985 araua jarraituz (16), 1 atm-tan, 23 °C-tan eta %50-ko hezetasun erlatiboan, burutu dira.

Iragazkortasun analisiak egin aurretik, filmen lodierak $1 \mu\text{m}$ zehaztasuna duen Duo Check kalibre batekin neurtu dira. Lorturiko emaitzak, gutxienez, hiru neurketen batezbestekoak dira.

2.8 Erreferentziak

- 1 UNE-EN ISO 638 (2009). Paper, board and pulps - Determination of dry matter content - oven-drying method. AEN/CTN 57 – Celulosa y Papel.
- 2 TAPPI T257 cm-85 (1985). Sample preparation. Standard by Technical Association of the Pulp and Paper Industry. USA.
- 3 TAPPI T264 cm-97 (1997). Preparation of wood for chemical analysis. Standard by Technical Association of the Pulp and Paper Industry. USA.
- 4 TAPPI T211 om-02 (2002). Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525 °C. Standard by Technical Association of the Pulp and Paper Industry. USA.
- 5 TAPPI T207 cm-99 (1999). Water solubility of wood and pulp. Standard by Technical Association of the Pulp and Paper Industry. USA.
- 6 TAPPI T212 om-02 (2002). One percent sodium hydroxide solubility of wood and Pulp. Standard by Technical Association of the Pulp and Paper Industry. USA.
- 7 TAPPI T204 cm-97 (1997). Solvent extractives of wood and pulp. Standard by Technical Association of the Pulp and Paper Industry. USA.
- 8 TAPPI T222 om-02 (2002). Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Standard by Technical Association of the Pulp and Paper Industry. USA.
- 9 Wise LE, Murphy M, D'Adieco AA (1946). Chlorite holocellulose, its fractionation and bearing on summative wood analysis and on studies on the hemicelluloses. Paper Trade J. 122: 35-43.
- 10 Rowell R (1983). The chemistry of solid wood. Based on short course and symposium sponsored by the Division of Cellulose, Paper and Textile Chemistry at the 185th meeting of the American Chemical Society. USA.
- 11 Segal L, Creely JJ, Martin Jr, AE, Conrad CM (1959). An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. Text. Res. J. 29: 786-794.

12 Kvien I, Tanem BS, Oksman K (2005). Characterization of cellulose whiskers and their nanocomposites by atomic force and electron microscopy. *Biomacromolecules* 6: 3160-3165.

13 Rueda L, Saralegui A, Fernández d'Arilas B, Zhou Q, Berglund LA, Corcuera MA, Mondragon I, Eceiza A (2013). Cellulose nanocrystals/polyurethane nanocomposites. Study from the viewpoint of microphase separated structure. *Carbohydr. Polym.* 92: 751-757.

14 ASTM D 1708-93 (1993). Standard test method for tensile properties of plastics by use of microtensile specimens. In *Annual Book of ASTM Standards American Society for Testing and Materials, Philadelphia.*

15 ASTM E96-95 (1995). Standard test methods for water vapour transmission of materials. In *Annual Book of ASTM Standards American Society for Testing and Materials, Philadelphia.*

16 ASTM D 3985-10 (2010). Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor. In *Annual Book of ASTM Standards American Society for Testing and Materials, Philadelphia.*

3. KAPITULUA

LANDARE ZUNTZETATIK ZELULOSA
NANOENTITATEEN ISOLAMENDUA

3.1 Helburua

Kapitulu honen helburua, sisal, kalamu eta linu zuntzetatik zelulosa nanoentitateak (zelulosa nanozuntzak (ZNZ) eta nanokristalak (ZNK)) lortzeko erreakzio kimiko segida bat definitzea izan da. Lehenik eta behin, lignozelulosa zuntzen konposatu ez-zelulosikoen erauzketaz zelulosa nanozuntzak lortzen dira. Ondoren, lorturiko zelulosa nanozuntzak hidrolisi azidoaz tratatu dira eta zati amorfoa hidrolizatuz zelulosa nanokristalak isolatu dira.

Erreakzio kimiko segidaren etapa bakoitzaren osteko laginen egonkortasun termikoa eta konposizio kimikoa analisi termograbitrikoaz eta Fourier-en transformatuaren espektroskopia infragorriaz aztertu dira, hurrenez hurren. X izpien difrakzioaz eta teknika mikroskopikoen bidez, tratamendu kimikoek laginen eustrukturan eta morfologian duen eragina aztertu da.

3.2 Zelulosa nanoentitateen isolamendua

Zuntz lignozelulosikoen osagai ez-zelulosikoak erauzteko eta zelulosa nanoentitateak isolatzeko erabili den erreakzio kimiko segida ondorengoa izan da: erauzgarrien eliminatzea, prealkalizazioa, alkali tratamendua, azetilazioa eta hidrolisi azidoa.

Erauzketan zuntzari argizariak, gantzak eta erretxinak kentzeko, TAPPI T204 cm-97 arauan oinarrituz, jatorrizko zuntz lignozelulosikoak disolbatzaile organikoekin errefluxuan (tolueno eta etanolaren nahastea, 2:1 bolumen erlazioan) tratatu dira.

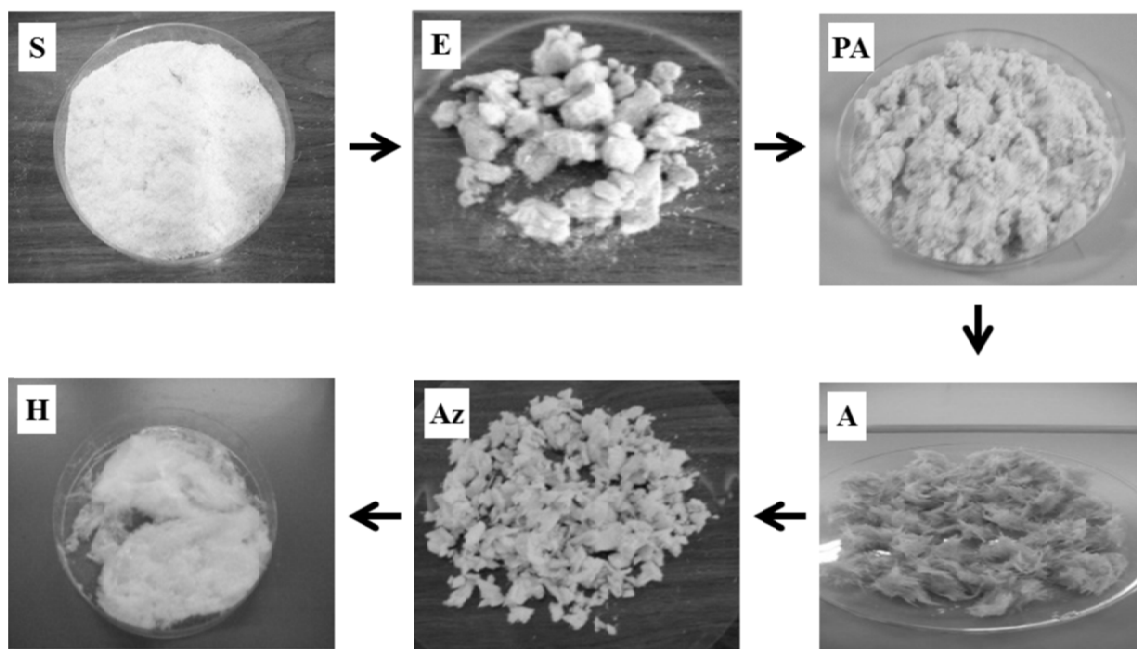
Prealkalizazioan, erauzitako zuntzak puzteko asmoarekin, TAPPI T 212 om-02 araua jarraituz, 12 orduz eta 40 °C-tan, masan %2 NaOH disoluzio batetan murgildu dira.

Alkali tratamenduan, prealkalizatutako zuntzei hemizelulosak, pektinak eta lignina zati bat erauzteko asmoan, zuntzak 90 minutuz errefluxuan masan %7,5 NaOH disoluzio batekin tratatu dira.

Azetilazioan, alkali trataturiko zuntzak neutralizatu ostean, zelulosa nanozuntzak isolatzeko, 30 minutuz errefluxuan disoluzio azido batekin (azido nitriko eta azetikoaren arteko nahastea, 1:6 bolumen erlazioan) azetilazten dira, zuntz eta disoluzio azido erlazioa 0,6:14 (g/mL) erabiliz.

Azkenik, hidrolisi azido tratamenduan, zelulosaren zati amorfoa eliminatzeko, azetilatatuko zuntzak neutralizatu ondoren, matraze batetan masan %32 azido sulfuriko disoluzio batekin 45 °C-tan eta 45 minutuz erreakzionarazten dira. Zuntz eta disoluzio azido erlazioa 1:10 (g/mL) da. Erreakzio kimikoa gelditzeko, zelulosa nanoentitateen suspentsioari ur desionizatu, kantitate handian, gehitzen zaio. Suspentsio honen azidoa eliminatzeko 2 zentrifugazio etapa (4500 rpm, 20 minutu) jarraian egiten dira, suspentsioaren zentrifugazio osteko hauspeatua, 24 orduora ura aldatuaz 4-5 pH-raino dializatzen delarik. Suspentsioan dauden nanoentitateen agregatuak banatzeko, bainu sonikatzailan 5 minutuz sonikatu ondoren plastikozko ontzietan izozkailuan gordetzen dira. Azkenik, lorturiko zelulosa nanoentitateak liofilizatu egin dira. **3.1. Irudian** zuntz lignozelulosikoetatik zelulosa nanoentitateen isolatze prozesuan tratamendu kimiko ezberdinen ostean lortzen diren laginen argazkiak azaltzen dira.

Kapitulu honetan erreakzio segidako erauzgarrien eliminatzea, prealkalizazioa, alkalizazioa, azetilazioa eta hidrolisi azido ondorengo laginak E, PA, A, Az eta H bezala izendatu dira, hurrenez hurren. Jatorrizko sisal, kalamu eta linu zuntzak, S, K eta L bezala izendatu dira.

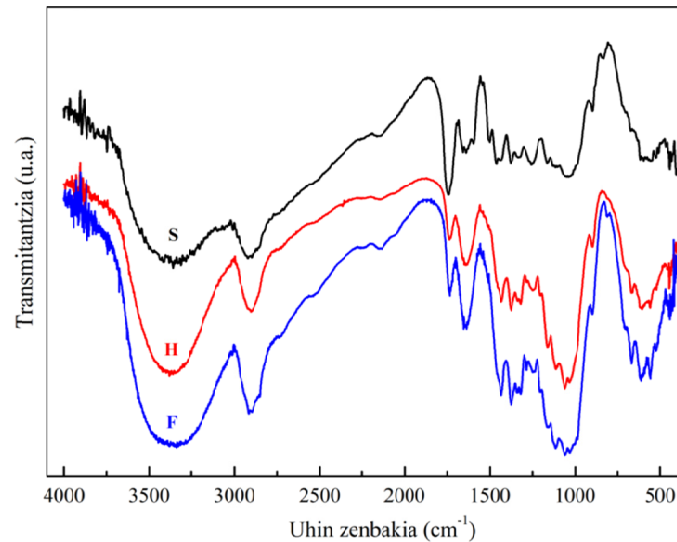


3.1. Irudia. Zuntz lignozelulosikoetatik zelulosa nanoentitateen isolamendurako erreakzio bakoitzaren ostean lortzen diren laginen argazkiak.

3.3 Emaitzak eta eztabaida

3.3.1 Karakterizazio kimikoa

Jatorrizko zuntzak eta tratamendu ezberdinak jaso dituzten zuntzen konposizio kimikoa Fourier transformatuaren espektroskopia infragorriaz aztertu da. **3.2. Irudian** sisal, kalamu eta linu zuntzen espektroak azaltzen dira.



3.2. Irudia. Sisal, kalamu eta linu zuntzen FTIR espektroak.

Espektroen laguntzaz, zuntz natural hauen osagai nagusien (zelulosa, hemizelulosa eta lignina) talde kimikoen deformazio eta tentsio bibrazioen absortzio banda ezberdinak antzeman daitezke. Zuntz guztietan osagai nagusiak berdinak diren arren, **3.1. Taulan** ikusi daitekeen moduan, konposizio kimikoa zuntzaren jatorriarekiko menpekoa denez, banden intentsitatea zuntz batetik bestera aldatzen dela ikus daiteke. Zuntzen konposizio kimikoa eranskinean azaltzen diren TAPPI arauak jarraituz determinatu da.

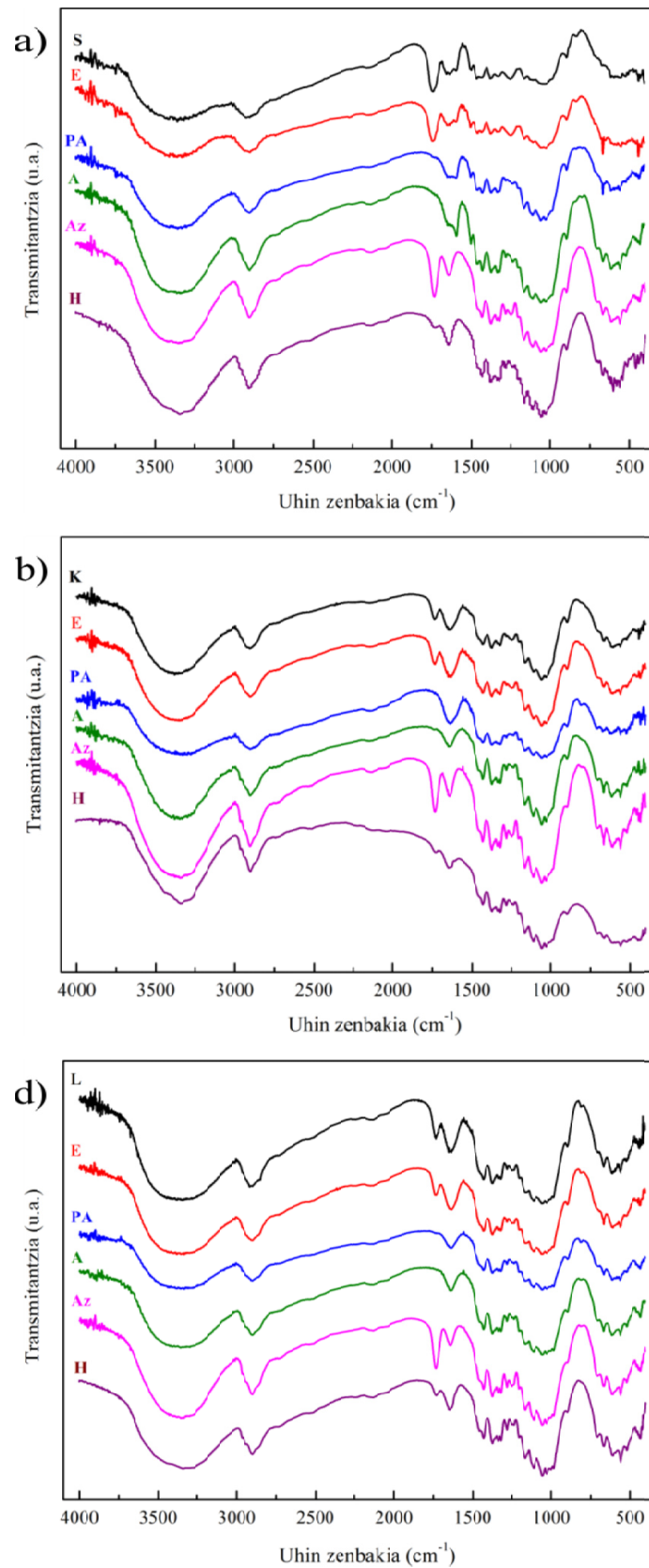
Sisal, kalamu eta linu zuntzen espektroek, $3500-3200\text{ cm}^{-1}$ uhin zenbakia tartean, zelulosa molekuletan dauden hidroxilo taldeen eta xurgatutako uraren O-H taldearen tentsio bibrazioari atxikitu dakioken banda zabal bat erakusten dute. $2900-2700\text{ cm}^{-1}$ uhin zenbakia tartean dagoen banda, zelulosan, hemizelulosan eta ligninan dauden lotura alifatikoen alkil taldeen C-H tentsio bibrazioari dagokio. 1740 cm^{-1} uhin zenbakian, hemizelulosen azetil taldeei eta ligninan dauden konposatu aromatikoaren ester taldeei dagokien C=O tentsio bibrazioari dagokion (1,2) banda ikus daiteke. 1640 cm^{-1} uhin zenbakiako banda, zelulosa zuntzaren estrukturan xurgatzen den uraren O-H

taldearen deformazio bibrazioari dagokio (3). Halaber, 1602 cm^{-1} eta 1505 cm^{-1} uhin luzeretan agertzen diren absortzio banda ahulak ligninan dauden eraztun aromatikoaren C=C loturen tentsio bibrazioekin erlaziona daitezke (4,5). 1430 cm^{-1} -ko absortzio banda zelulosan dagoen CH_2 taldeen deformazio bibrazio simetrikoari dagokio (1). 1250 cm^{-1} -ko banda hemizelulosan dagoen C-O tentsio bibrazioari edo ligninan dauden aril-alkil eter konposatuei atxiki daitezke (6). Espektrorik guztietan azaltzen diren $1170\text{-}1050\text{ cm}^{-1}$ eta 890 cm^{-1} absortzio bandak, zelulosa estrukturan piranosa eraztunean dauden C-O tentsio eta C-H deformazio bibrazioei dagozkie (4,6-8).

3.1. Taula. Sisal, kalamu eta linu zuntzen konposizio kimikoa.

Zuntza Konposizioa (%)	Sisala	Kalamua	Linua
Holozelulosa	$75,1 \pm 2,7$	$86,1 \pm 0,6$	$85,1 \pm 0,8$
Zelulosa	$62,6 \pm 2,8$	$70,6 \pm 3,6$	$66,3 \pm 3,5$
Hemizelulosa	$12,5 \pm 2,5$	$15,6 \pm 2,9$	$18,8 \pm 2,7$
Lignina	$7,9 \pm 1,0$	$4,2 \pm 0,8$	$2,2 \pm 0,1$
NaOH-tan frakzio disolagarria	$14,2 \pm 0,1$	$21,7 \pm 1,5$	$20,7 \pm 0,4$
H ₂ O-tan frakzio disolagarria	$3,2 \pm 0,3$	$5,9 \pm 0,3$	$6,9 \pm 0,1$
Erauzgarrien eliminatzea	$3,0 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,2$
Errautsa	$1,8 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$	$0,8 \pm 0,1$
Hezetasuna	$7,4 \pm 0,1$	$5,0 \pm 0,1$	$5,6 \pm 0,1$

3.3. Irudian, tratamendu kimiko ezberdinak jasan dituzten sisal, kalamu eta linu zuntz laginen espektrorik, jatorrizko zuntzaren espektrorarekin batera, azaltzen dira. FTIR espektroskopia bidez, zuntzen konposizio kimikoarengan erreakzio kimiko ezberdinek eragin dituzten aldaketak antzeman daitezke.



3.3. Irudia. Jatorrizko zuntza eta erreakzio kimiko segida etapa bakoitza osteko laginen FTIR espektroak: (a) sisala, (b) kalamua eta (d) linua.

Erauzien tratamendu osteko FTIR espektroak jatorrizko zuntzen espektroekin alderatzean, zuntzaren konposizioan aldaketa nabarmenik ez dela eman baieztatu daiteke.

Prealkali eta alkali tratamendu osteko espektroetan, jatorrizko zuntzan azaltzen den 1740 cm^{-1} -ko banda, hemizelulosen azetil taldeei eta ligninan dauden konposatu aromatikoaren ester taldeei dagokien C=O tentsio bibrazioa, ia guztiz desagertzen da (6). Horretaz gain, 1250 cm^{-1} -ko uhin zenbakian, hemizelulosan dauden C-O tentsio bibrazio (6) eta ligninan dauden aril-alkil eter konposatuei atxiki dakiokkeen bandaren intentsitatea txikitu egiten dela ikus daiteke. Aldaketa hauek, alkali tratamenduek ligninaren erauzketa partziala eta hemizelulosen erauzketa totala eman direnaren seinale dira (9).

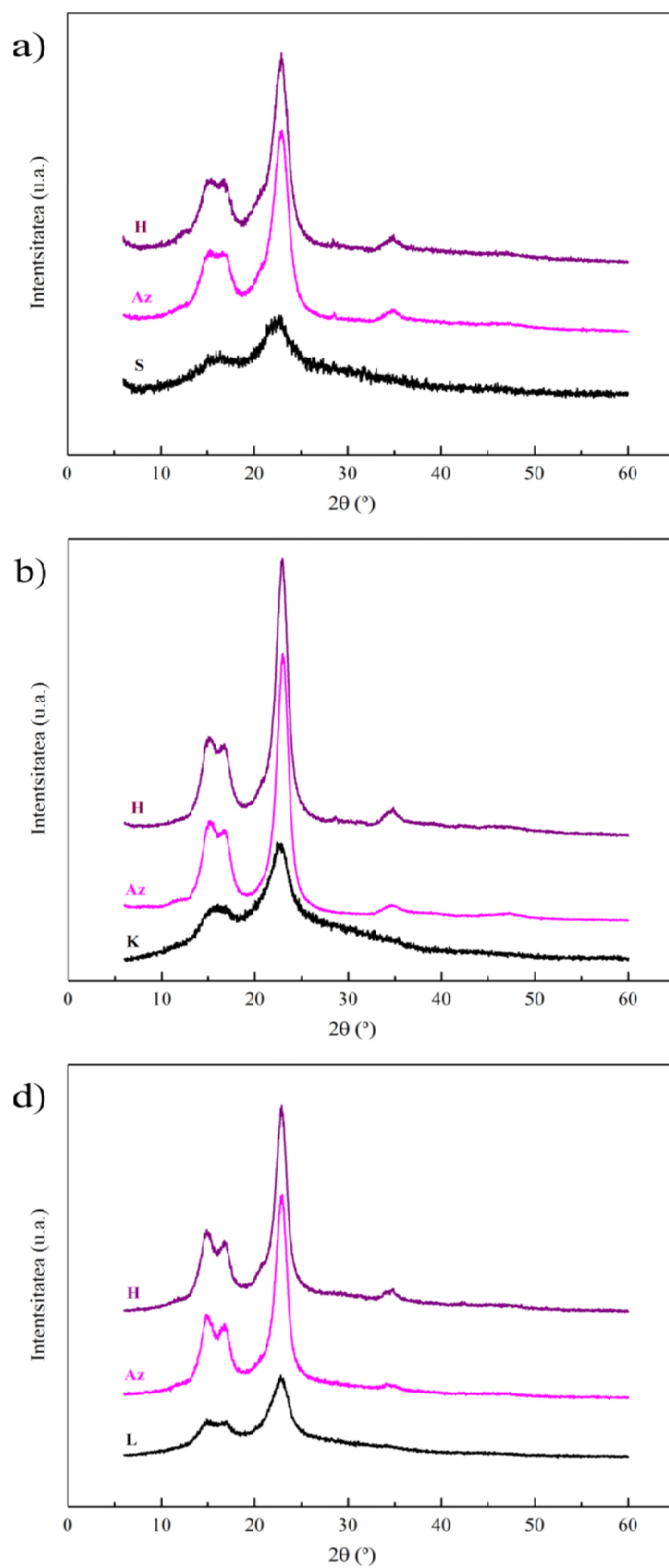
Azetilazio osteko zuntzen espektroan, $1730\text{-}1745\text{ cm}^{-1}$ eta $1235\text{-}1240\text{ cm}^{-1}$ uhin luzeratan, absortzio banda berriak agertzen dira. Lehenengo banda, ester taldeko karbonilo loturaren tentsio bibrazioari dagokio. Aldiz, $1235\text{-}1240\text{ cm}^{-1}$ uhin zenbakia tartean agertzen den banda, azetilo taldeen C-O tentsio bibrazioari atxiki daiteke (6). Azetilazio ostean 1602 cm^{-1} eta 1505 cm^{-1} uhin zenbakiatan agertzen diren absortzio banden txikitzea ligninaren frakzio handi baten erauzketarekin erlaziona daiteke. Azetilatuak kalamu eta linu zuntzen espektroetan, 1600 cm^{-1} uhin zenbakian agertzen den banda estuagoa da, lignina erauzi denaren seinale.

Hidrolisi azido tratamendu osteko laginen espektroetan, 1740 cm^{-1} -tako uhin zenbakian agertzen den bandaren txikitzeak, azetilazioa nagusiki alderdi amorfoan ematen dela iradokitzen du, hidrolisiaren ondorioz erauzten den alderdi amorfoa baita.

3.3.2 X izpien difrakzioa

3.4. Irudian jatorrizko zuntzen eta azetilazio eta hidrolisi azido tratamendu osteko laginen X izpien difraktogramak irudikatu dira. Lagin guztiek zelulosa I (zelulosa natiboa) estrukturaren ohiko difraktograma erakusten dute, $2\theta = 15,0^\circ, 16,7^\circ, 23,0^\circ$ eta $34,8^\circ$ -tan difrakzio pikoak ikusten dira, (101), (10T), (002) eta (040) plano kristalografikoei dagozkienak, hurrenez hurren (10).

3.2. Taulan jatorrizko zuntzen eta azetilazio eta hidrolisi azido osteko laginen kristaltasun mailen balioak biltzen dira.



3.4. Irudia. Jatorrizko zuntza eta azetilazio eta hidrolisi azido osteko laginen X izpien difraktogramak: (a) sisala, (b) kalamua eta (d) linua.

3.2. Taula. Jatorrizko sisal, kalamu eta linu zuntzen eta azetilazio eta hidrolisi azido osteko laginen kristaltasun mailak.

Lagina	Kristaltasun maila (%)		
	Sisala	Kalamua	Linua
Jatorrizko zuntza	47	57	65
Az	79	89	89
H	78	88	87

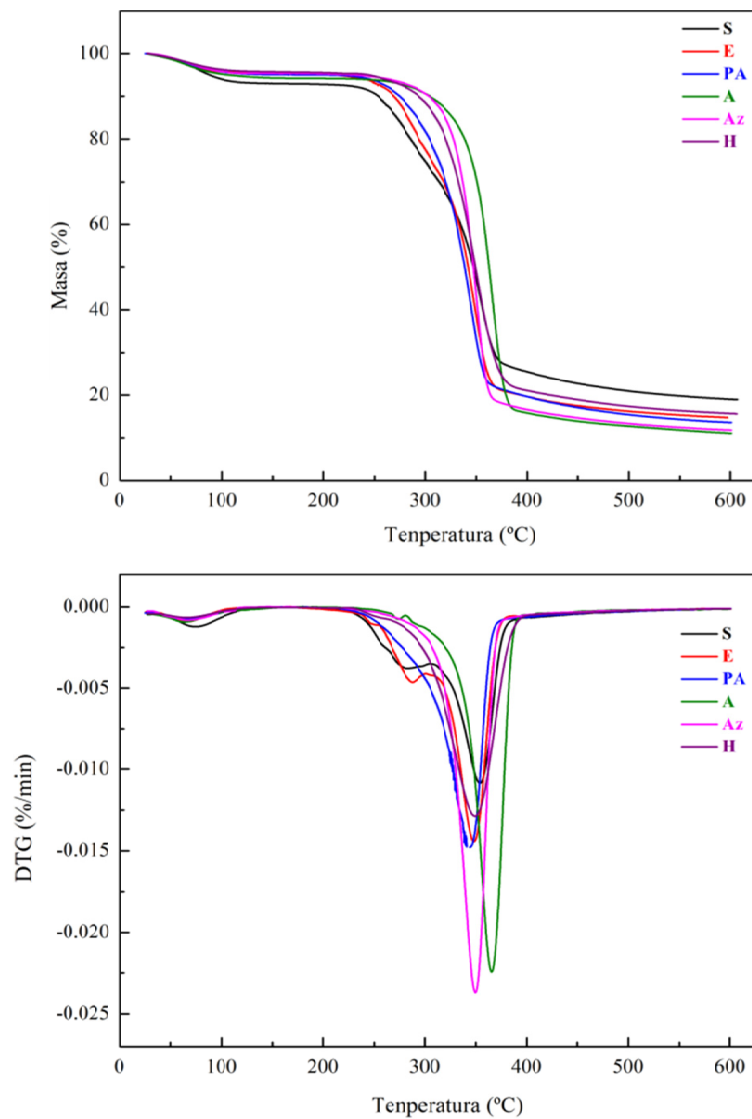
Kristaltasun maila zelulosaren alderdi amorfoa eta kristalinoaren arteko erlazio kualitatibo edo erdikuantitatiboa da (11,12), honela nanozelulosen isolamendu prozesuaren adierazgarria da. Azetilazio eta hidrolisi azido tratamendu ostean laginen kristaltasun mailak nabarmenki handitzen dira. Kristaltasun maila handitzearen arrazoia zuntzen osagai amorfoen erauzketa izanik. Osagai ez-zelusikoen erauzketak, zelulosa kateen arteko tentsioen erlaxazio bat sortarazten du, beraien artean paketatze hobeagoa emanik (13,14). Zelulosa kristalinoaren edukia handitzean, 14,8° eta 16,4°-tan agertzen diren pikoak nabarmenagoak bihurtzen dira (13). Aldiz, zuntzek material amorfo kantitate handia dutenean, hots, lignina, hemizelulosak, pektinak eta zelulosa amorfoa dutenean, bi piko hauek piko zabal bakar bat bezala ageri dira. Honetaz gain, azetilazio eta hidrolisi azido osteko zuntzetan, 23°-tan agertzen den pikoa estutu eta intentsitateaz handitzen da. Piko honen estutze eta intentsitate handitzea tratamendu kimikoen ondorioz zuntz naturalean dauden osagai amorfoen kantitate handien eliminaziori atxikitzen zaio (13). Azetilazio eta hidrolisi azido osteko laginek antzeko kristaltasun maila balioak erakusten dituzte. Azalpen posible bat erreakzio kimiko segidaren ostean hainbat zelulosa zuntzek beraien estruktura mantentzen dutela eta oraindik hainbat fase amorfo izaten jarraitzen dutela izan daiteke.

3.3.3 Analisi termikoa

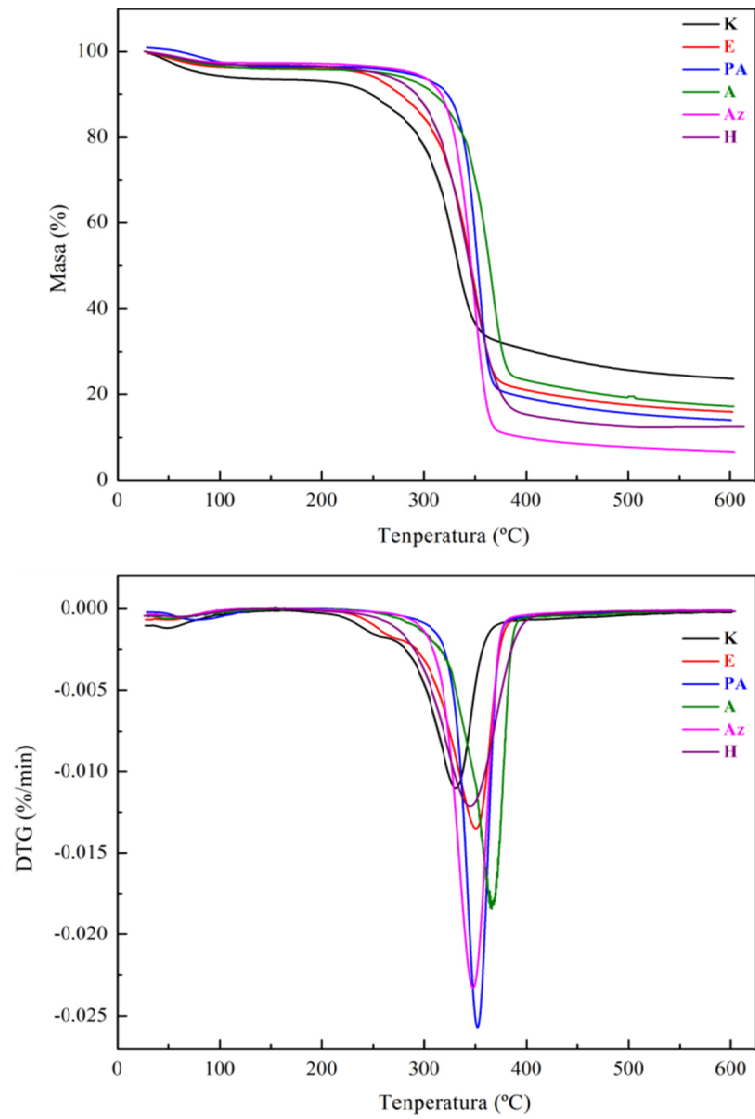
Buruturiko tratamendu kimiko bakoitzak zuntzen propietate termikoetan duen eragina aztertzeko analisi termograbitmetrikoa burutu da. Teknika honek, tratamendu kimikoek

zuntzaren egonkortasun termikoan duten eragina aztertzeaz gain, konposizioan egon daitezkeen aldaketen informazioa ematen du. Zelulosa nanoentitateen degradazio profilak, nanozelulosen erabilera bionanokonpositeetan baldintzatuko dute.

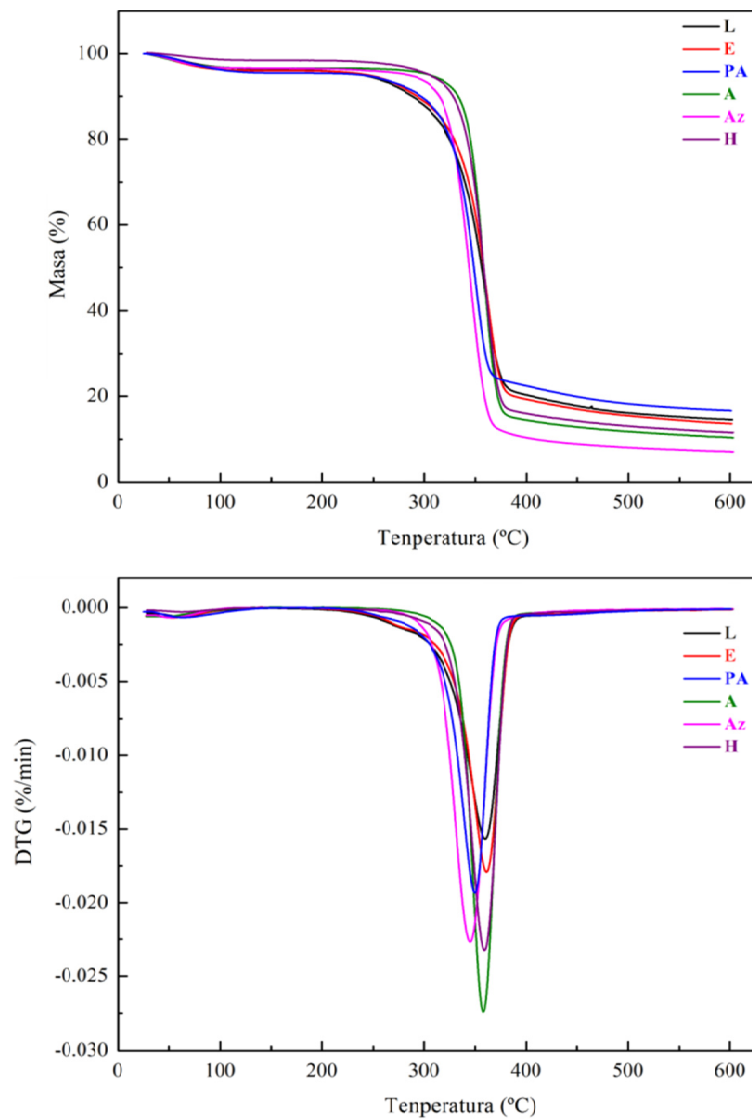
Jatorrizko sisal, kalamu eta linu zuntzen eta erreakzio kimiko segidako etapa bakoitza oondorengo laginen TGA eta DTG termogramak **3.5.**, **3.6.** eta **3.7. Irudietan** aurkezten dira.



3.5. Irudia. Jatorrizko sisal zuntza eta erreakzio kimiko segida osteko laginen TGA eta DTG termogramak.



3.6. Irudia. Jatorrizko kalamu zuntza eta erreakzio kimiko segida osteko laginen TGA eta DTG termogramak.



3.7. Irudia. Jatorrizko linu zuntza eta erreakzio kimiko segida osteko laginen TGA eta DTG termogramak.

Lagin guztien termogramak bi masa galera erakusten dituzte. 25 eta 150 °C balioen artean dagoena, uraren lurrintzeari dagokio (15,16). 200 eta 400 °C balioen artean dagoen masa galera, zuntzen osagai ez-zelulosiko eta zelulosaren degradazioari dagokio, besteak beste (15). Zuntz mota bakoitzarentzat erreakzio etapa bakoitza ostean neurtu diren masa galeren temperaturak eta 600 °C-tako hondakin portzentaia **3.3. Taulan** biltzen dira.

3.3. Taula. Tratatu gabeko eta trataturiko laginen TG kurbetatik lortutako balio esperimentalak.

Zuntza	Datu termikoak	Laginak					
		Zuntza	E	PA	A	Az	H
Sisala	1. galera (%)	7	5	6	7	5	4
	2. galera, T _{onset} (°C)	251	256	270	338	325	285
	Hondakina 600 °C-tan (%)	19	15	14	11	12	16
Kalamua	1. galera (%)	6	4	4	4	3	3
	2. galera, T _{onset} (°C)	224	237	334	339	325	308
	Hondakina 600 °C-tan (%)	24	16	14	18	7	12
Linua	1. galera (%)	4	4	4-5	3-4	3-4	3
	2. galera, T _{onset} (°C)	259	260	325	341	320	336
	Hondakina 600 °C-tan (%)	15	14	16	11	7	11

Lurrunduriko urari dagokion masa galera balio txikiak azetilazio eta hidrolisi azido osteko laginetan neurtu dira. Ur edukiera baxuagoa izatearen arrazoia laginen frakzio kristalinoaren handitzea izan daiteke, aurrez X izpien difraktogramen analisitik lortutako kristaltasun maila handitzearekin bat egonik.

200 eta 400 °C balioen arteko masa galera, hemizelulosen, pektinen, ligninaren eta zelulosaren degradazioari atxiki dakioke (15,17). Jatorrizko zuntzen eta erauziak kendu osteko laginen DTG termogrametan, 207 eta 308 °C balioen artean, pektinen eta hemizelulosen degradazioarekin erlazionaturiko sorbalda bat antzematen da. Alkali tratamenduek, hemizelulosak eta pektinak eliminatzen dituztenez, tratamendu hauen osteko DTG termogrametan aipaturiko sorbalda desargetzen da eta zuntzen egonkortasun termikoa handitzen da. Alkalizaturiko sisal, kalamu eta linu zuntzen degradazio haste tenperaturen (T_{onset}) balioak 338, 339 eta 341 °C-raino handitzen dira, hurrenez hurren.

Alkali trataturiko zuntzak prealkali trataturikoak baino degradazio haste tenperatura handiagoak erakusten dituztenez, alkali tratamendua hemizelulosak kentzeko eraginkorra dela baieztatzen da. Tratamendu azido arte, bigarren masa galerari dagokion degradazio haste tenperaturen baloreak handitzen doaz. Azetilazio tratamendu ostean, degradazio haste tenperaturak txikitzen direla ikusten da, eta are gehiago txikitzen dira hidrolisi azido tratamenduaren ostean. Ingurune azidoak zelulosa molekulako lotura β -1,4-glikosidikoa apurtzea eragin dezake (14,18), zelulosa kateen luzera laburtuz eta ondorioz egonkortasun termikoa txikituz. Roman eta Winter-ek (19) hidrolisi baldintza ezberdinak aztertu zituzten, azido sulfurikoaz hidrolizaturiko zelulosa bakterialean. Beraiek zelulosan txertaturiko sulfato taldeen eraginez zuntzen degradazio tenperatura txikitzen zela azpimarratu zuten. Johar eta kideek (20) antzeko portaera ikusi zuten, arroz aleen azaleko zuntzen hidrolisi azido osteko laginetan. Beraiek hidrolisi azido ostean, egonkortasun termiko txikiagoa zuten produktuak lortu zituzten. Beraz, lan honetan lorturiko emaitzak beste autore batzuek lortu dituztenekin bat datoz. Kasu guztietan, hidrolisi azido osteko hondakin kantitatea, 600 °C-tan azetilaturiko zuntzen hondakin kantitatea baino handiagoa da. Handitze hau hidrolisi azidoaren osteko sulfato taldeen txertaketarekin erlazionatzen delarik (19,20).

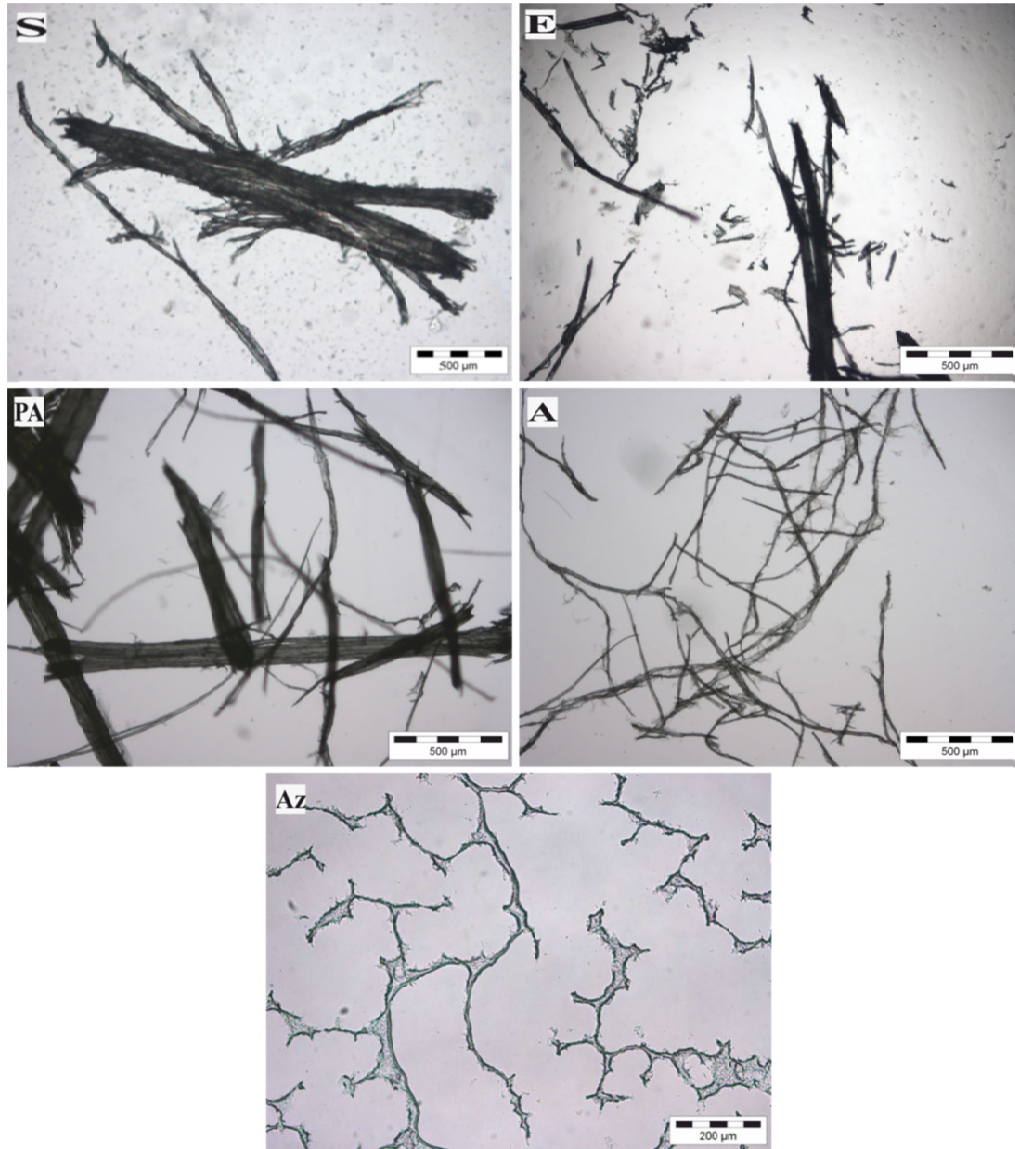
3.3.4 Zuntzen morfologiaren garapena

Tratamendu kimiko ezberdinen ostean zuntzen morfologia teknika mikroskopiko ezberdinak erabiliaz aztertu da. **3.8. Irudian** mikroskopia optikoko irudiak erakusten dira non jatorrizko sisal zuntzen eta trataturikoen morfologiaren xehetasunak erakusten diren.

Erreakzio kimiko segidan, irudietan ikus daitekeen moduan, zuntzen morfologia nabarmen aldatzen da. Jatorrizko sisal zuntzaren (S) irudian, zuntz multzo bakoitza material ez-zelulosikoez (lignina, hemizelulosa, pektina) elkaturiko hainbat zuntz unitarioz osatuta dago. Erauziak eliminatu ostean (E), morfologian ez da aldaketa handirik ikusten. Aldiz, prealkali tratamendu ostean (PA), 50–70 μ m-tako diametroa duten hainbat sisal zuntz multzo ikus daitezke, inguruan dituzten material ez-zelulosikoen erauzketarengatik, nagusiki hemizelulosak eta ligninak, FTIR espektroetan ikusi den bezala.

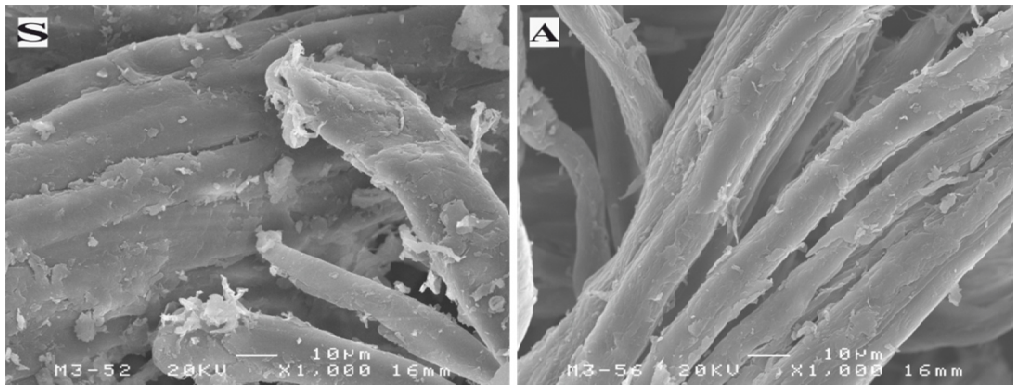
Alkali tratamendu ostean (A), osagai ez-zelulosikoen erauzketaren ondorioz, zuntz multzo hauek 10 μ m-tako diametroa duten zuntz unitarioetan banatu direla ikus daiteke.

Azetilaturiko zuntzaren irudian ikus daitekeen bezala, zuntz unitarioen egitura apurtzen dela esan daiteke.



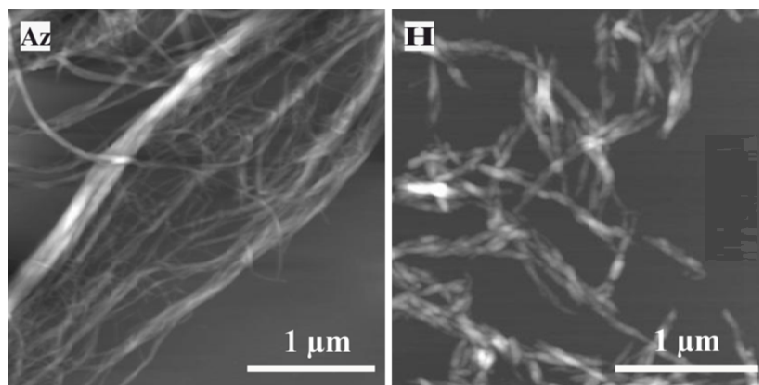
3.8. Irudia. Jatorrizko sisal zuntzaren eta tratamendu kimiko ezberdinen osteko laginen irudiak.

3.9. Irudian jatorrizko sisal zuntzen eta alkali trataturiko zuntzen SEM mikrografiak erakusten dira. Alkali trataturiko zuntzak eta jatorrizko zuntzak alderatuz gero, tamaina, gainazala eta aglomerazioa bezalako ezaugarrietan ezberdintasun handiak erakusten dituzte.



3.9. Irudia. Jatorrizko sisal zuntzen eta alkali trataturiko zuntzen SEM mikrografiak (x1000).

Erreakzio segidako azetilazio eta hidrolisi azido osteko laginen indar atomikozko mikroskopia irudiak **3.10. Irudian** erakusten dira.

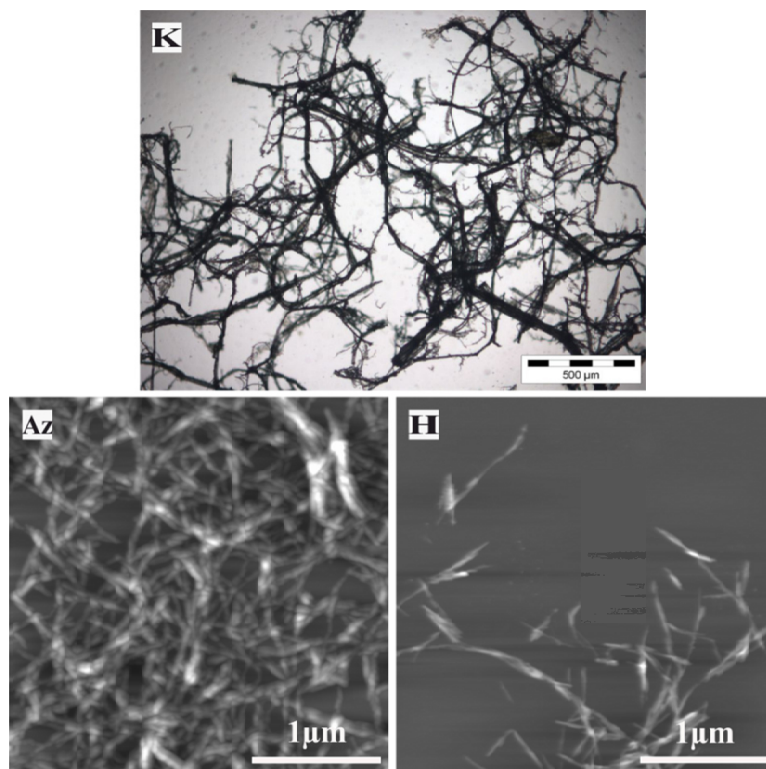


3.10. Irudia. Azetilazio eta hidrolisi azido osteko sisal zuntzen AFM altuera irudiak.

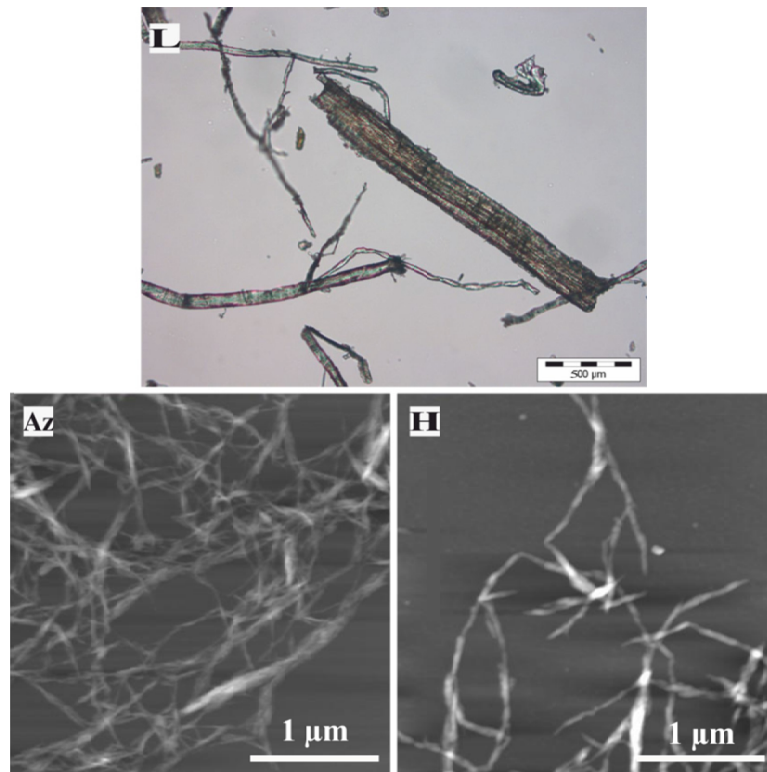
Azetilatutako zuntzen irudian, 20–50 nm-ko diametroa eta hainbat mikrometro-tako luzera duten zelulosa nanozuntzak (ZNZ) ikus daitezke, beraz erabilitako tratamendu kimiko segida ZNZ lortzeko egokia dela baieztatu daiteke. Hala ere, **3.8. Irudiko** azetilaturiko laginaren irudi optikoan oraindik 1-2 µm-tako diametroa duten zelulosa hainbat zuntz ikus daitezke. Hidrolisi azido osteko zuntzen AFM irudian, laburragoak diren nanoentitateak ikus daitezke. Hidrolisi azidoaren ondorioz zelulosa nanozuntzen zati amorfoa eliminatu dela baieztatu daiteke, lorturiko nanoentitateak nagusiki zelulosa nanokristalez (ZNK) osatuak egonik. Hala ere, erabilitako erreakzio kimiko segida ostean oraindik zenbait zuntz multzo antzeman daitezkeenez, emaitzek erreakzio kimiko segidako etapa ezberdinen baldintzak hobetu behar direla iradokitzen dutelarik. Lorturiko nanozelulosen dimentsioak AFM-ren bidez neurtu dira. AFM mikroskopia ez da zelulosa nanokristalen diametroen balioak neurtzeko teknikarik egokiena, AFM-ko

puntaren erradioaren efektua medio. Nanokristalek itxura zilindrikoa dutela suposatuz, AFM-ko altuera profiletik nanokristalen diametroak neurtu daitezke (21,22). Sisal nanokristalenzat neurturiko diametro eta luzera balioak 403 ± 159 nm eta 10 ± 5 nm dira, hurrenez hurren. Erreakzio kimikoen segidaren bidez 40-ko itxura erlazioa duten nanokristalak lortu dira. Bibliografian batezbesteko antzeko balioak aurkitu dira. Siqueira eta kideek (23) sisal zuntzetatik isolatutako ZNK-entzat transmisio elektronikoko mikroskopia erabiliaz itxura erlazio balio antzekoak lortu zituzten. Luzeren eta diametroen balioak 215 ± 67 nm eta $5 \pm 1,5$ nm inguruan zeuden, hurrenez hurren, 43-ko itxura erlazioarekin. García de Rodríguez eta kideek (24) transmisio elektronikoko mikroskopiaz, sisetatik isolatutako ZNK-entzat 60-ko itxura erlazioaren balioa neurtu zuten. Nanokristalen luzeren eta diametroen balioak 250 ± 100 nm eta 4 ± 1 nm inguruan egonik, hurrenez hurren.

Kalamu eta linu zuntzen erreakzio kimiko segida osteko laginen morfologia, AFM-z aztertu da. **3.11.** eta **3.12.** Irudietan azetilazio eta hidrolisi azido osteko laginen AFM altuera irudiak eta jatorrizko zuntzen mikroskopia optikoko irudiak azaltzen dira.



3.11. Irudia. Kalamu zuntzen mikroskopia optikoko irudia eta azetilazio eta hidrolisi azido osteko AFM altuera irudiak.



3.12. Irudia. Linu zuntzen mikroskopia optikoko irudia eta azetilazio eta hidrolisi azido osteko AFM altuera irudiak.

Bai kalamu baita linu zelulosa nanozuntzak hainbat mikrometro-tako luzera dute, aldiz, diametro balioak 20-50 nm eta 15-45 nm tartean egonik, hurrenez hurren. Bestalde, isolatutako zelulosa nanokristalen diametroak isolatu diren zelulosa nanozuntzen orden berekoak diren arren, luzerak motzagoak dira. Kalamu eta linu zelulosa nanokristalen luzerak 580 nm eta 400 nm inguruan daude, hurrenez hurren. Balore hauek beste autore batzuk lortu dituztenen antzekoak dira (25-28).

Lan honetan isolaturiko nanokristalen bai luzera baita diametro balioak beste autoreek neurtu dituztenak baino dispersio handiagoa erakusten dituzte. Honek zelulosa nanoentitateen isolaketa prozesuaren baldintzak optimizatu behar direla iradokitzen dutelarik.

3.4 Ondorioak

Erreakzio kimikoen osteko laginen FTIR espektroek, XRD eta TGA emaitzek konposatu ez-zelulosikoen eliminatzea baieztatzen dute.

Erreakzio kimiko segidaren osteko laginek zelulosa I estruktura kristalinoa dutela baieztatzen da. Material ez-zelulosikoen erauzketak, laginen kristaltasun maila jatorrizko zuntzekiko alderatuz % 30-ko handitzea sortzen du.

Laginen egonkortasun termikoa alkalizazio etapa arte handitzen da, aldiz, zelulosa nanoentitateak lortzeko erabiltzen den ingurune azidoak, degradazio tenperatura txikiarazten du.

Azterketa morfologikoen bidez, erabili den erreakzio kimiko segida nanozelulosa isolatzeko egokia dela baieztatu da, itxura erlazio altuko ZNZ eta ZNK lortu baitira. Bestalde, tamaina banaketa estuko zelulosa nanokristalak isolatzeko helburuarekin, emaitzek erreakzio segidako tratamenduen baldintzak optimizatu beharko lirartekeela iradokitzen dute.

3.5 Erreferentziak

- 1 De Rosa IM, Kenny JM, Puglia D, Santulli C, Sarasini F (2010). Morphological, thermal and mechanical characterization of okra (*Abelmoschus esculentus*) fibres as potential reinforcement in polymer composites. *Compos. Sci. Technol.* 70: 116-122.
- 2 Haiping Y, Rong Y, Hanping C, Dong HL, Chuguang Z (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel* 86: 1781-1788.
- 3 Lojewska J, Miśkowiec P, Łojewski T, Proniewicz LM (2005). Cellulose oxidative and hydrolytic degradation: In situ FTIR approach. *Polym. Degrad. Stab.* 88: 512-520.
- 4 Garside P, Wyeth P (2003). Identification of cellulosic fibres by FTIR spectroscopy: Thread and single fibre analysis by attenuated total reflectance. *Stud. Conserv.* 48: 269-275.
- 5 Wang K, Jiang JX, Xu F, Sun RC (2009). Influence of steaming explosion time on the physic-chemical properties of cellulose from *Lespedeza* stalks (*Lespedeza crytobotrya*). *Bioresour. Technol.* 100: 5288-5294.
- 6 De Rosa IM, Kenny JM, Maniruzzaman M, Moniruzzaman Md, Monti M, Puglia D, Santulli C, Sarasini F (2011). Effect of chemical treatments on the mechanical and thermal behaviour of okra (*Abelmoschus esculentus*) fibres. *Compos. Sci. Technol.* 71: 246-254.
- 7 Chen W, Yu H, Liu Y, Hai Y, Zhang M, Chen P (2011a). Isolation and characterization of cellulose nanofibers from four plant cellulose fibers using a chemical-ultrasonic process. *Cellulose* 18: 433-442.
- 8 Alemdar A, Sain M (2008). Isolation and characterization of nanofibres from agricultural residues-wheat straw and soy hulls. *Bioresour. Technol.* 99: 1664-1671.
- 9 Liu W, Mohanty AK, Drzal LT, Askel P, Misra M (2004). Effects of alkali treatment on the structure, morphology and thermal properties of native grass fibers as reinforcements for polymer matrix composites. *J. Mater. Sci.* 39: 1051-1054.

10 Meshitsuka G, Isogai A (1996). In book: Chemical modification of lignocellulosic materials. Ed: Hon DNS, Chapter 2: Chemical structures of cellulose, hemicelluloses, and lignins. 11-34. CRC Press, Technology & Engineering. New York.

11 Park S, Baker JO, Himmel ME, Parilla PA, Johnson DK (2010). Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnol. Biofuels* 3: 1-10.

12 Beckermann GW, Pickering KL (2008). Engineering and evaluation of hemp fibre reinforced polypropylene composites: Fibre treatment and matrix modification. *Compos.: Part A* 39: 979-988.

13 Pickering KL, Beckermann GW, Alam SN, Foreman NJ (2007). Optimising industrial hemp fibre for composites. *Compos.: Part A* 38: 461-468.

14 Corrêa AC, Teixeira EM, Pessan LA, Capparelli Mattoso LH (2010). Cellulose nanofibers from curaua fibers. *Cellul.* 17: 1183-1192.

15 Arbelaiz A, Fernández B, Ramos JA, Mondragon I (2006). Thermal and crystallization studies of short flax fiber reinforced polypropylene matrix composites: Effect of treatments. *Thermochim. Acta* 440: 111-121.

16 Rosa MF, Medeiros ES, Malmonge JA, Gregorski KS, Wood DF, Mattoso LHC, Glenn G, Orts WJ, Imam SH (2010). Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydr. Polym.* 81: 83-92.

17 Abdullah SS, Yusup S, Ahmad MM, Ramli A, Ismail L (2010). Thermogravimetry study on pyrolysis of various lignocellulosic biomass for potential hydrogen production. *Int. J. Chem. Biol. Eng.* 3: 137-141.

18 Arbelaiz A, Cantero G, Fernández B, Mondragon I, Gañán P, Kenny JM (2005). Flax fiber surface modifications: effects on fiber physico mechanical and flax/polypropylene interface properties. *Polym. Compos.* 26: 324-332.

- 19 Roman M, Winter WT (2004). Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. *Biomacromolecules* 5: 1671-1677.
- 20 Johar N, Ahmad I, Dufresne A (2012). Extraction, preparation and characterization of cellulose fibers and nanocrystals from rice husk. *Ind. Crop. Prod.* 37: 93-99.
- 21 Kvien I, Tanem BS, Oksman K (2005). Characterization of cellulose whiskers and their nanocomposites by atomic force and electron microscopy. *Biomacromolecules* 6: 3160-3165.
- 22 Rueda L, Saralegui A, Fernández d'Arlas B, Zhou Q, Berglund LA, Corcuera MA, Mondragon I, Eceiza A (2013). Cellulose nanocrystals/polyurethane nanocomposites. Study from the viewpoint of microphase separated structure. *Carbohyd. Polym.* 92: 751-757.
- 23 Siqueira G, Bras J, Dufresne A (2009). Cellulose whiskers versus microfibrils: influence of the nature of the nanoparticle and its surface functionalization on the thermal and mechanical properties of nanocomposites. *Biomacromolecules* 10: 425-432.
- 24 Garcia de Rodriguez NL, Thielemans W, Dufresne A (2006). Sisal cellulose whiskers reinforced polyvinyl acetate nanocomposites. *Cellulose* 13: 261-270.
- 25 Wang B, Sain M, Oksman K (2007). Study of structural morphology of hemp fiber from the micro to the nanoscale. *Appl Compos. Mater.* 14: 89-103.
- 26 Cao X, Dong H, Li CM (2007). New nanocomposite materials reinforced with flax cellulose nanocrystals in waterborne polyurethane. *Biomacromolecules* 8: 899-904.
- 27 Cao X, Chen Y, Chang PR, Stumborg M, Huneault MA (2008). Green composites - reinforced with hemp nanocrystals in plasticized starch. *J. Mater. Sci.* 109: 3804-3810.
- 28 Chen W, Yu H, Liu Y, Chen P, Zhang M, Hai Y (2011b). Individualization of cellulose nanofibers from wood using high-intensity ultrasonication combined with chemical pretreatments. *Carbohydr. Polym.* 83: 1804-1811.

4. KAPITULUA

NANOZELULOSA ISOLATZEKO ERABILITAKO
ERREAKZIO KIMIKO SEGIDAREN OPTIMIZAZIOA

4.1 Helburua

Kapitulu honetan, aurreko atalean nanozuntz eta nanokristalak isolatzeko erabilitako erreakzio kimiko segida optimizatu da. Analisi fisiko-kimiko, termiko eta morfologikoek, aurreko kapitulu jarraituriko erreakzio kimiko segida sisal, kalamu eta linu zuntz lignozelulosikoetatik nanozelulosa isolatzeko egokia dela konfirmatu duten arren, lortutako nanozelulosen tamaina banaketa zabalak tratamendu kimikoen baldintza esperimentalak optimizatu behar direla erakusten dute.

Erreakzio baldintza esperimental ezberdinak (denbora, kontzentrazioa) aztertu dira sisal zuntz lignozelulosikoentzat, masan %7,5 NaOH burututako alkali tratamenduan, HNO₃ eta azido azetikoarekin burututako azetilazio tratamenduan eta azido sulfurikoarekin burututako hidrolisi azido tratamenduan. Karakterizazioa, Fourier transformatuaren espektroskopia infragorria, analisi termograbitrikoa, X izpien difrakzioa eta mikroskopia optikoa eta indar atomikoen mikroskopia tekniken bidez burutu da. Dialisiko pausoak zelulosa nanokristalen egonkortasun termikoan duen eragina ere aztertu da.

4.2 Nanozelulosa isolatzeko erreakzio kimiko nagusien azterketa zinetikoak

Nanozelulosen isolatze prozesua optimizatu nahian, aurreko kapitulu erabilitako erreakzio kimiko segidaren tratamendu nagusien azterketa zinetikoa egin da, hots, alkali, azetilazio eta hidrolisi azido tratamenduak. Tratamendu hauek, zuntzaren estrukturan aldaketa nagusienak sortarazten dituzte. Lehenik, prealkalizaturiko zuntzei, denbora ezberdinetan (60, 90, 120 eta 240 minutu) errefluxuan masan %7,5 NaOH disoluzioan alkali tratamendu ezberdinak burutu zaie. Denbora ezberdinetan alkalizaturiko laginak A60, A90, A120 eta A240 bezala izendatu dira, hurrenez hurren. Ondoren, zelulosa nanozuntzak isolatu nahian, errefluxupean eta denbora ezberdinetan (30, 60 eta 90 minutu) azetilazio tratamenduak gauzatu dira. Denbora ezberdinetan azetilaturiko laginak Az30, Az60 eta Az90 bezala izendatu dira, hurrenez hurren. Azkenik, zelulosa nanokristalak isolatzeko helburuarekin, azetilaturiko nanozuntzak 45 °C-tan azido sulfurikoaren kontzentrazio ezberdinekin (masan %32 eta 64) eta erreakzio denbora ezberdinetan (30, 60 eta 120 minutu) tratatu dira. Dialisi prozesuak zelulosa nanokristalen egonkortasun termikoan duen eragina aztertzeko suspentsioak pH

ezberdinetaraino dializatu dira. Masan %32 azido sulfuriko disoluzioarekin 60 eta 120 minututan hidrolizaturiko laginak, H32-60 eta H32-120 bezala izendatu dira, hurrenez hurren, eta masan %64 azido sulfuriko disoluzioarekin 30 eta 60 minututan hidrolizatutakoak, H64-30 eta H64-60 bezala, hurrenez hurren.

Kapitulu honetan burutu diren erreakzio kimiko ezberdinen baldintzak eta laginen izendapena **4.1. Taulan** laburbiltzen dira.

4.1. Taula. Tratamendu kimiko ezberdinen baldintzak eta laginen izendapena.

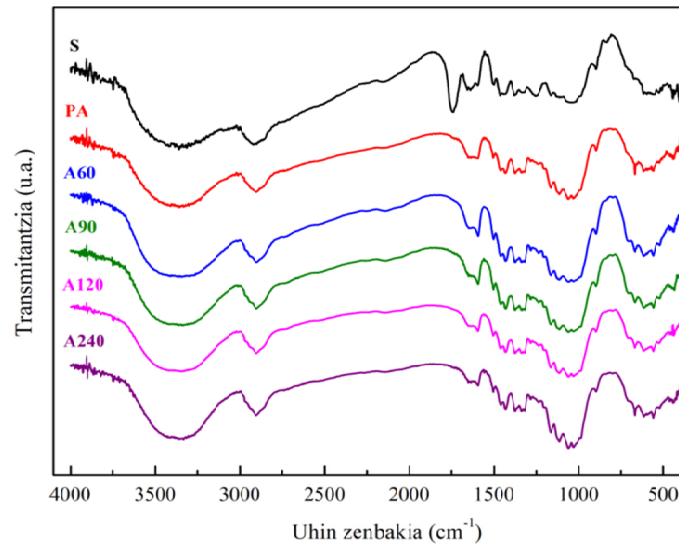
Tratamendua	Denbora (min)	Izendapena
Alkali tratamendua, errefluxuan masan %7,5 NaOH disoluzioa	60	A60
	90	A90
	120	A120
	240	A240
Azetilazioa, errefluxuan HNO ₃ eta azido azetiko bolumen erlazioa: 1:6 zuntz/disoluzio azidoa: 0,6/14 (g/mL)	30	Az30
	60	Az60
	90	Az90
Hidrolisi Azidoa masan %32 H ₂ SO ₄ , 45 °C zuntz/disoluzio azido: 1/10 (g/mL)	60	H32-60
	120	H32-120
Hidrolisia Azidoa masan %64 H ₂ SO ₄ , 45 °C zuntz/disoluzio azido: 1/10 (g/mL)	30	H64-30
	60	H64-60

Erreakzio kimiko etapa bakoitzan, denbora edo kontzentrazio ezberdinetan trataturiko laginak, Fourier transformatuaren espektroskopia infragorriaz, X izpien difrakzioaz, analisi termograbitrikoaz, mikroskopia optikoaz eta indar atomikoen mikroskopiaz aztertu dira.

4.3 Emaitzak eta eztabaida

4.3.1 Alkali tratamenduaren azterketa zinetikoa

4.1. Irudian denbora ezberdinetan burutu diren alkali tratamenduaren osteko sisal laginen espektroak azaltzen dira. Konparaketarako jatorrizko sisal zuntzaren eta prealkalizaturiko sisal zuntzaren espektroak ere irudikatu dira.

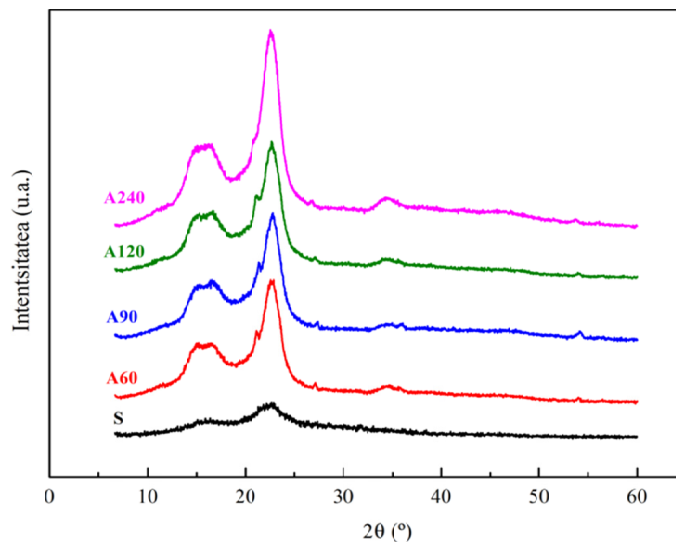


4.1. Irudia. Jatorrizko sisal zuntza, prealkalizatutakoa eta denbora ezberdinetan alkalizaturiko zuntzen FTIR espektroak.

Jatorrizko zuntzan, 1740 cm⁻¹-tan ikusten den absortzio banda, alkali tratamenduen osteko laginetan ez da ikusten. Absortzio hau hemizelulosa osagaiaren ester taldeetan dauden karbonilo taldeen tentsio bibrazioari edo ligninan dauden konposatu aromatikoari dagokiena da (1,2). Horretaz gain, 1595 cm⁻¹-tan ligninaren estruktura aromatikoaren planuko C=C taldearen tentsio bibrazio simetrikoari dagokion absortzio banda (3,4), alkalizazio denbora handitzearekin batera arinki txikitzen dela ikus daiteke. Bestalde, alkalizazio denbora handitzen den heinean, 1057 cm⁻¹-tako uhin zenbakian zelulosaren piranosa estruktura ziklikoaren C-O-C bibrazio tentsioari (5,6) dagokion absortzio banda handitzen dela ikus daiteke, alkali trataturiko zuntzaren zelulosa edukia handitzen denaren seinale. Alkali tratamenduaren osteko laginen espektroetako absortzio banden aldaketak, zuntzaren konposizioan aldaketak egon direla baieztatzen dute.

X izpien difrakzioz zuntzen estruktura kristalinoan eta kristaltasun mailan denbora ezberdinetan buruturiko alkali tratamenduak duen eragina aztertu da. **4.2. Irudian,**

jatorrizko zuntzaren eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko laginen X izpien difraktogramak irudikatu dira.



4.2. Irudia. Jatorrizko sisal zuntza eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko laginen X izpien difraktogramak.

Alkali tratamenduaren ondoren zelulosa I estrukturari loturiko $15,0^\circ$, $16,7^\circ$, $23,0^\circ$ eta $34,8^\circ$ pikoen intentsitatea handitzen dela ikusten da (7). Zelulosaren edukia handitzen doan einean, $15,0^\circ$ eta $16,7^\circ$ -tan agertzen diren pikoen intentsitatea handitzen da (8).

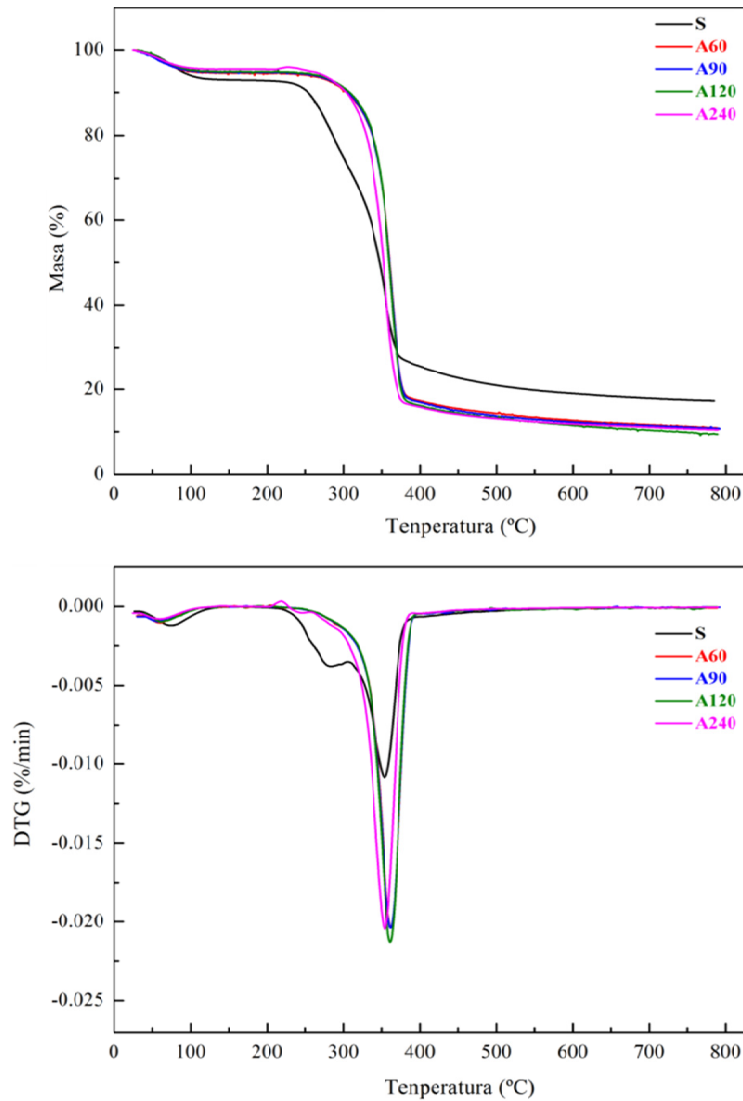
4.2. Taulan X izpien difraktogrametatik, kalkulatu diren kristaltasun mailen balioak bildu dira.

4.2. Taula. Jatorrizko sisal zuntzaren eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko zuntzen kristaltasun maila.

Tratamendua	Kristaltasun maila (%)
S	47
A60	62
A90	63
A120	65
A240	70

Alkali trataturiko laginen kristaltasun maila handitu egiten da jatorrizko zuntzarekin alderatuz. Barreto eta kideek (9), masan %5 eta %10 NaOH disoluzioekin trataturiko sisal zuntzentzat, %69 eta %66-ko kristaltasun maila balioak lortu zituzten, hurrenez hurren. Aztertu diren tratamendu denbora ezberdinen ostean lortutako kristaltasun maila balioak antzekoak dira, 240 minutuz trataturiko zuntzek balio handiena erakutsiaz. Eraitza hau FTIR espektroan zelulosari atxikitzen den 1057 cm^{-1} -tako uhin zenbakiako bandan ikusi den intentsitate handitzearekin bat dator.

Denbora ezberdinetan burutu diren alkali tratamenduek egonkortasun termikoan duten eragina aztertu da. **4.3. Irudian** jatorrizko sisal zuntza eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko zuntzen TGA eta DTG termogramak azaltzen dira.



4.3. Irudia. Jatorrizko sisal zuntzaren eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko zuntzen TGA eta DTG termogramak.

4.3. Taulan termogrametarik eta hauen deribatuetatik lorturiko balioak biltzen dira, hots, 50 eta 150 °C tartean gertatzen den lehenengo masa galera, 250 eta 350 °C tartean gertatzen den bigarren masa galeraren degradazio haste tenperatura, degradazio maximoaren tenperatura eta azkenik 800 °C-tako hondakin edukia.

4.3. Taula. Jatorrizko sisal zuntzaren eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko zuntzen TGA eta DTG termogrametarik lortutako datu termikoak.

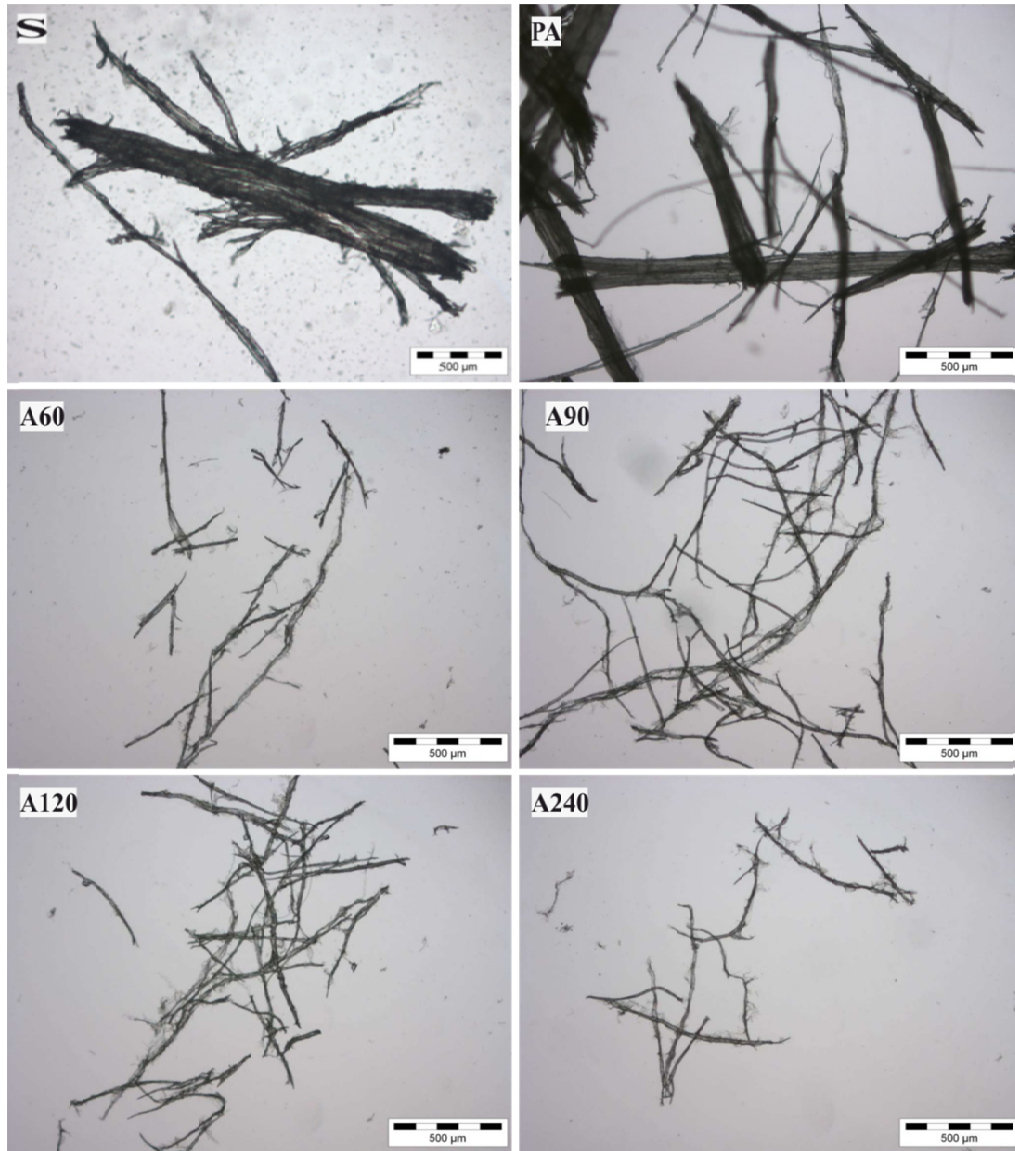
Tratamendua	1. galera (%)	2. galera T_{onset} (°C)	Degradazioa T_{max} (°C)	Hondakina 800 °C-tan (%)
S	7	253	354	17
A60	6	338	362	11
A90	6	338	362	11
A120	5	340	361	9
A240	4	327	354	10

Zuntzen lehen masa galera, laginen uraren lurruntzearekin erlazionatuta dago. Alkali tratamendu ostean, tenperatura baxuagoetan degradatzen diren hemizelulosak erauzi direnez (10), zuntzen egonkortasun termikoa handitzen dela ikusten da. Honetaz gain, alkali trataturiko zuntzek 800 °C-tara erakusten duten hondakin eduki txikiagoa hemizelulosen erauzketarekin lotuta egon daiteke. Aipatu beharra dago, 240 minutuz alkali trataturiko zuntzetan, degradazio haste tenperatura eta degradazio tenperatura maximoa txikitzen direla.

Mikroskopia optikoko irudien bidez alkali tratamenduen osteko zuntzen morfologian gertatzen diren aldaketak aztertu dira. **4.4. Irudian** jatorrizko sisal zuntzen, prealkalizaturikoen eta alkali trataturiko zuntzen irudi optikoak aurkezten dira.

Jatorrizko eta prealkalizaturiko zuntzen irudietan, osagai ez-zelulosikoez, hau da lignina, pektina eta hemizelulosa, elkartuta dauden hainbat zuntz unitarioek osatzen dituzten zuntz multzoak ikusten dira. Zuntzak masan %7,5 NaOH disoluzioarekin tratatu ostean, zementazio materialen erauzketa medio, zuntz multzoak banatzen hasten

direla ikus daiteke, 10 µm inguruko diametroa duten zuntz unitarioak lortzen direlarik. Rosli eta kideek (8), alkali trataturiko sisal zuntzak banatzen hasten zirela ere ikusi zuten.



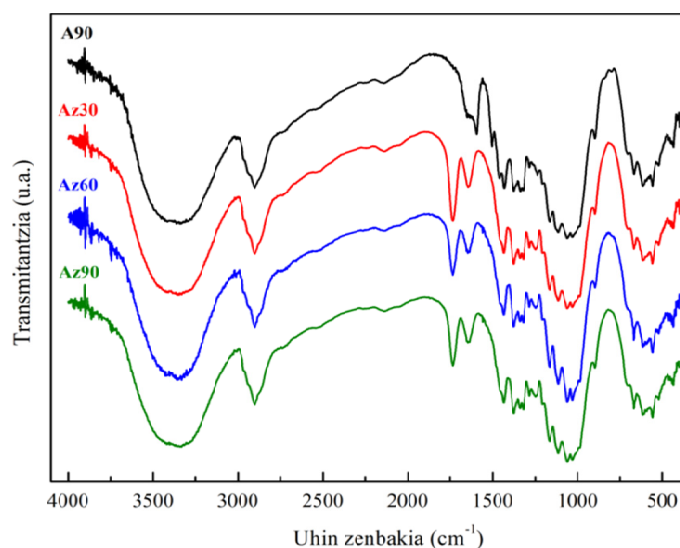
4.4. Irudia. Jatorrizko sisal zuntza, prealkalizatutakoa eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko sisal zuntzen mikroskopia optikoko irudiak.

Denbora ezberdinetan alkali trataturiko zuntzen artean, irudietan ez da zuntzen gainazal morfologian ezberdintasun nabarmenik ikusten. 240 minutuz alkali trataturiko laginek erakutsi duten degradazio haste tenperatura eta degradazio tenperatura maximo balio txikiagoak direla eta, alkalizazio denbora hau baztertzea erabaki da. Gainontzeko tratamendu denboratan lorturiko emaitzak antzekoak direnez, zuntzen alkali

tratamendurako tarteko denbora bat aukeratzea erabaki da, hain zuzen ere, 90 minutuko tratamendu denbora, ondorengo azetilazio tratamendu kimikoetan erabiliko diren zuntzak A90 izango direlarik.

4.3.2 Azetilazio tratamenduaren azterketa zinetikoa

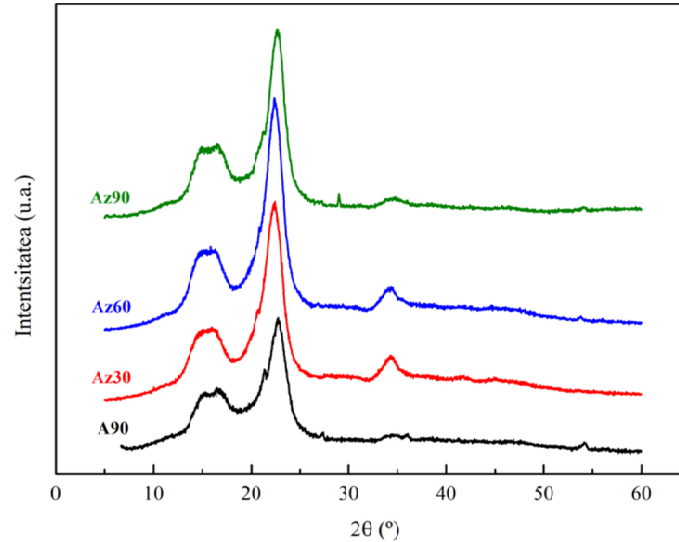
Azetilazio erreakzio denbora egokiena definitzeko asmoz, 90 minutuz alkali trataturiko zuntzei, azetilazio tratamendua denbora ezberdinetan burutu zaie. **4.5. Irudian**, A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen FTIR espektroak irudikatu dira.



4.5. Irudia. A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen FTIR espektroak.

Azetilaturiko laginen espektroetan, 1735 cm^{-1} -tan agertzen den banda, azetilo talde funtzionalaren C=O taldearen tentsio bibrazioari dagokio (11), honek azetilazio erreakzioa gertatzen dela baieztatzen duelarik. Horretaz gain, 1248 cm^{-1} -tan, azetiloen C–O–C taldeari dagokion tentsio bibrazio bandak (5,12) azetilazio erreakzioa gertatu dela ere baieztatzen dute. Bestalde, alkali tratamenduaren osteko laginetan, 1595 eta 1504 cm^{-1} -tan ligninaren estruktura aromatikoaren C=C tentsio bibrazioei atxikitzen zaion bandak, azetilaturiko laginetan desagertzen direla ikus daiteke (4,6,13). Aldaketa honek azetilazio tratamendu ostean lignina erauzi dela adierazten du. Horretaz gain, azetilazio tratamenduaren ostean, 1057 cm^{-1} -tan zelulosaren glukosa unitateen β -1,4-glikosidiko loturari atxikitzen zaion banda, A90 laginarekin alderatu ezkerok, nabarmenagoa bilakatzen dela ikus daiteke.

Denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen X izpien difraktogramak **4.6. Irudian** irudikatu dira.



4.6. Irudia. A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen X izpien difraktogramak.

Lagin guztiek zelulosa I estruktura erakusten dute. Azetilazio tratamenduaren ostean lignina erauzi denez, laginen difraktogrametan zelulosaren piko nagusiak nabarmenagoak direla ikus daitezke, FTIR espektroetan ikusi den zelulosaren bandaren nabarmentzearekin bat datorrena. **4.4. Taulan** A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen kristaltasun maila balioak biltzen dira.

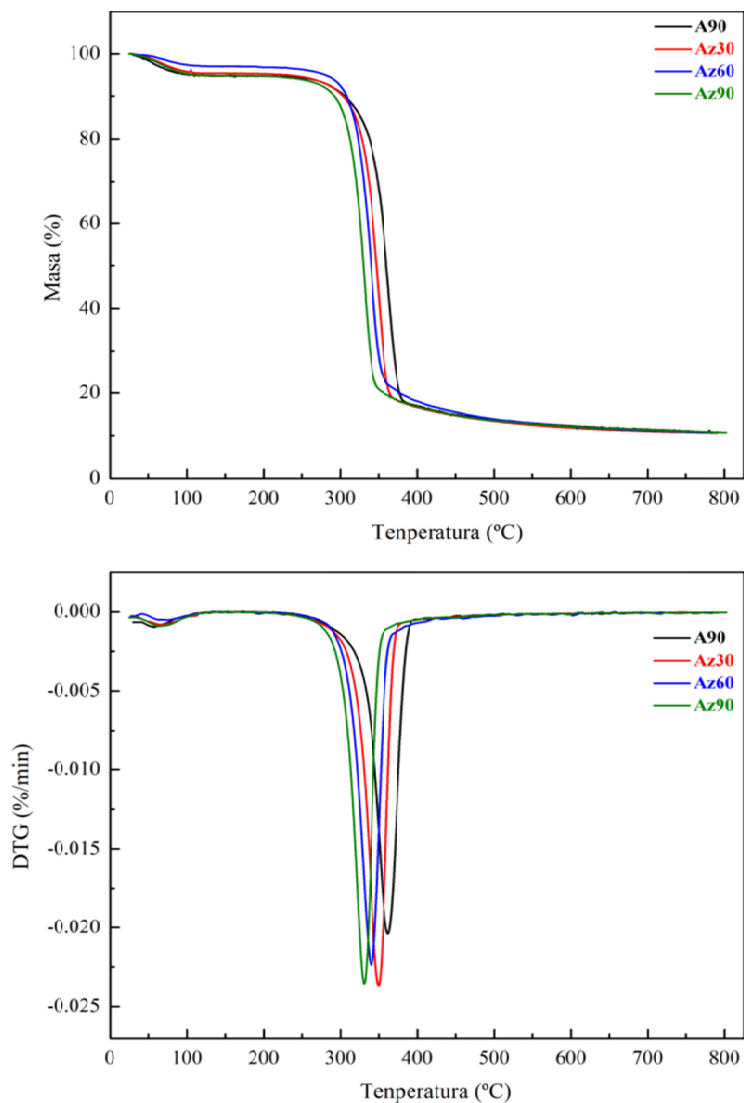
4.4. Taula. A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen kristaltasun maila.

Tratamendua	Kristaltasun maila (%)
A90	63
Az30	76
Az60	78
Az90	75

Azetilatutako laginen kristaltasun mailak, osagai ez-zelulosikoen erauzketa dela eta, alkali trataturiko laginarena baino handiagoak direla ikus daiteke. Emaitza hauek aurreko FTIR emaitzekin bat datoz.

Azetilaturiko laginen egonkortasun termikoa analisi termograbitrikoaz aztertu da.

4.7. Irudian azetilazio denbora ezberdina duten laginen termogramak irudikatu dira.



4.7. Irudia. A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen TGA eta DTG termogramak.

Termogrametatik lorturiko datu termikoak **4.5. Taulan** biltzen dira. 30 eta 60 minutuz azetilaturiko laginek degradazio haste temperatura eta degradazio temperatura maximoaren balio handienak erakusten dituzte. Aldiz, zuntzak denbora luzeagoz azetilazten direnean, degradazio haste eta temperatura maximoaren balioak txikitu egiten

dira, 90 minutuz azetilaturiko laginentzat 312 eta 331 °C-takoa izanik, hurrenez hurren. Txikitze hau azetilazio denbora luzeek zuntzen estrukturan eragiten duten kaltearekin erlazionatuta egon liteke.

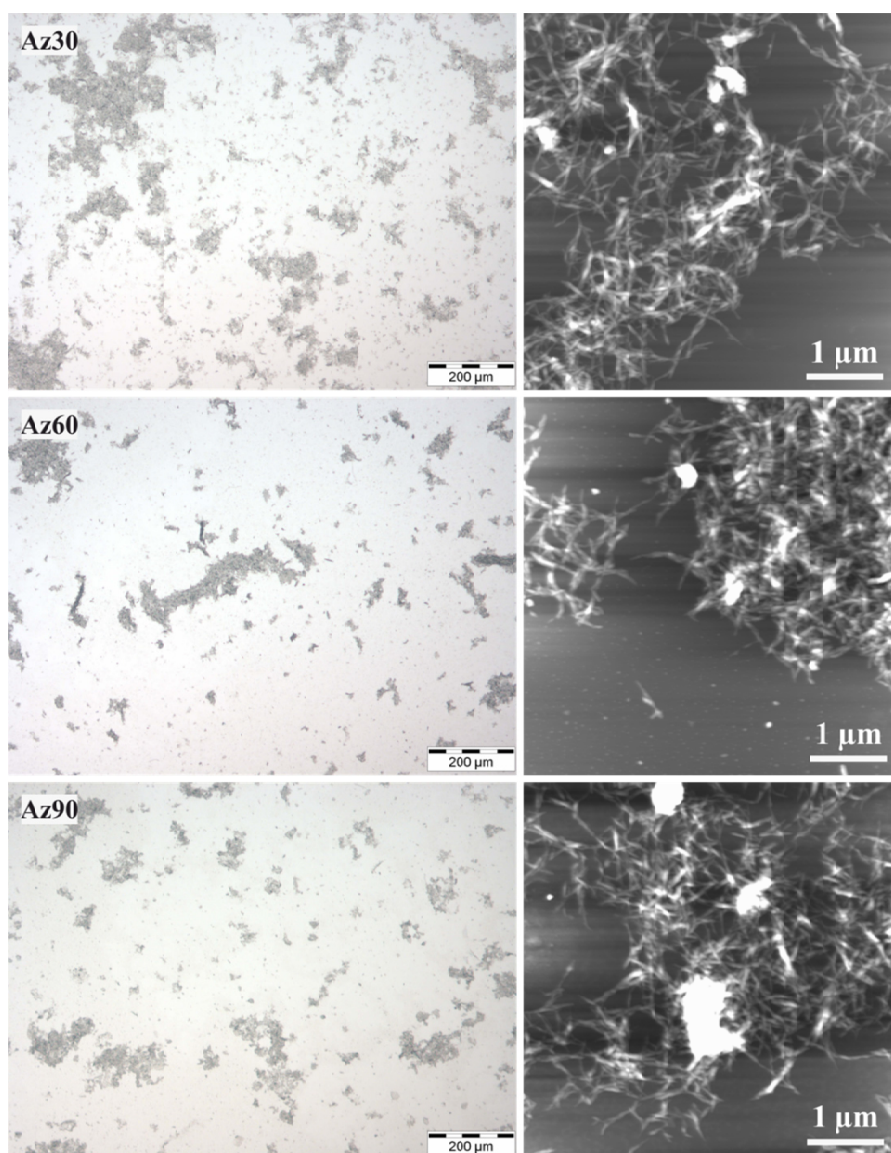
4.5. Taula. A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen TGA eta DTG termogrametatik lortutako datu termikoak.

Tratamendua	1. galera	2. galera	Degradazioa	Hondakina
	(%)	T_{onset} (°C)	T_{max} (°C)	800 °C-tan (%)
A90	6	338	362	11
Az30	4	327	350	11
Az60	3	319	350	11
Az90	5	312	331	11

Azetilazio erreakzio denbora ezbedinen ostean lorturiko zuntzen morfologia mikroskopia optikoz eta AFM-z aztertu da (**4.8. Irudian**).

Azetilaturiko laginen AFM altuera irudietan, 5-10 nm-tako diametroa eta hainbat mikratak luze duten zelulosa nanozuntzak ikus daitezke. Nanozuntzen diametroak altuera profiletatik neurtu dira. Hala ere, OM irudietan azetilaturiko zuntz batzuk oraindik beraien estruktura mantentzen dutela ikus daiteke.

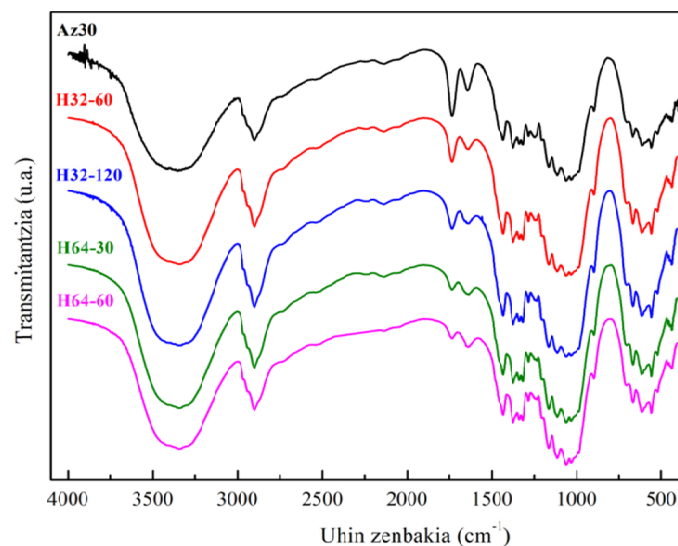
Ondorengo hidrolisi azido tratamenduak burutzeko 30 minutuko azetilazio erreakzio denbora egokitzat kontsideratu da, denbora honekin lortutako laginek degradazio haste tenperatura altuena aurkeztu dutelako.



4.8. Irudia. Denbora ezberdinetan azetilaturiko zuntzen irudiak: mikroskopia optikoa (ezkerra) eta AFM-ko altuerako irudiak (eskuina).

4.3.3 Hidrolisi azido tratamenduaren azterketa zinetikoa

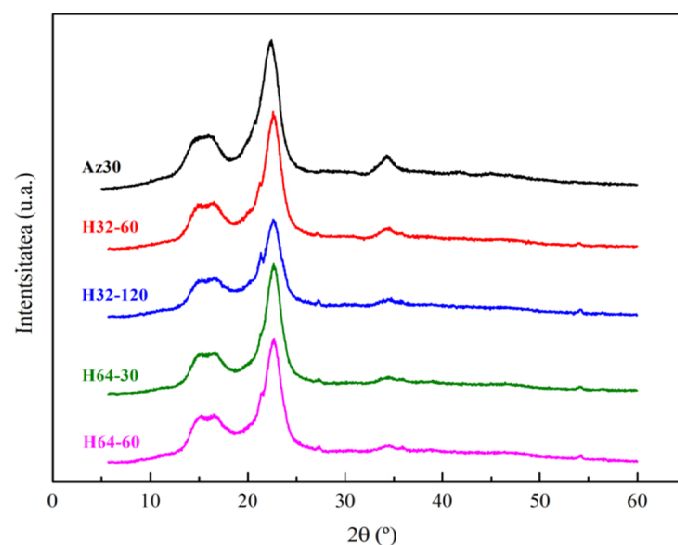
30 minutuz azetilaturiko laginek hidrolisi azido baldintza esperimental ezberdinak jasan dituzte, zelulosa nanokristalen isolamendua optimizatu nahian eta baldintza egokienak ezartzeko helburuarekin. Laginak, Fourier transformatuaren espektroskopia infragorriaz, X izpien difrakzioaz, analisi termograbitrikoaz eta indar atomikoen mikroskopiaz karakterizatu dira. **4.9. Irudian** denbora eta kontzentrazio ezberdinetan lortu diren hidrolisi azidoen osteko laginen FTIR espektroak irudikatu dira.



4.9. Irudia. Az30 eta hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko laginen FTIR espektroak.

1735 cm⁻¹-ko azetilo taldeari dagokion banda txikitzen den arren, hidrolisi azido baldintza ezberdinekin trataturiko zuntzen espektroetan banda hau oraindik ikus daiteke. Hidrolisi azido tratamenduan erabili den denbora eta azido sulfurikoaren kontzentrazioa handitzean, banda honen intentsitatea nabarmenki txikitzen dela ikus daiteke. Intentsitatearen txikitzeak, azetilazioa nagusiki alderdi amorfoan ematen dela iradokitzen du, hidrolisiaren ondorioz erazten den alderdia amorfoa baita.

4.10. Irudian, laginen X izpien difraktogramak irudikatu dira. Hidrolisi azido tratamendu ostean, zelulosa I estruktura mantentzen dela ikusten da.



4.10. Irudia. Az30 eta hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko laginen X izpien difraktogramak.

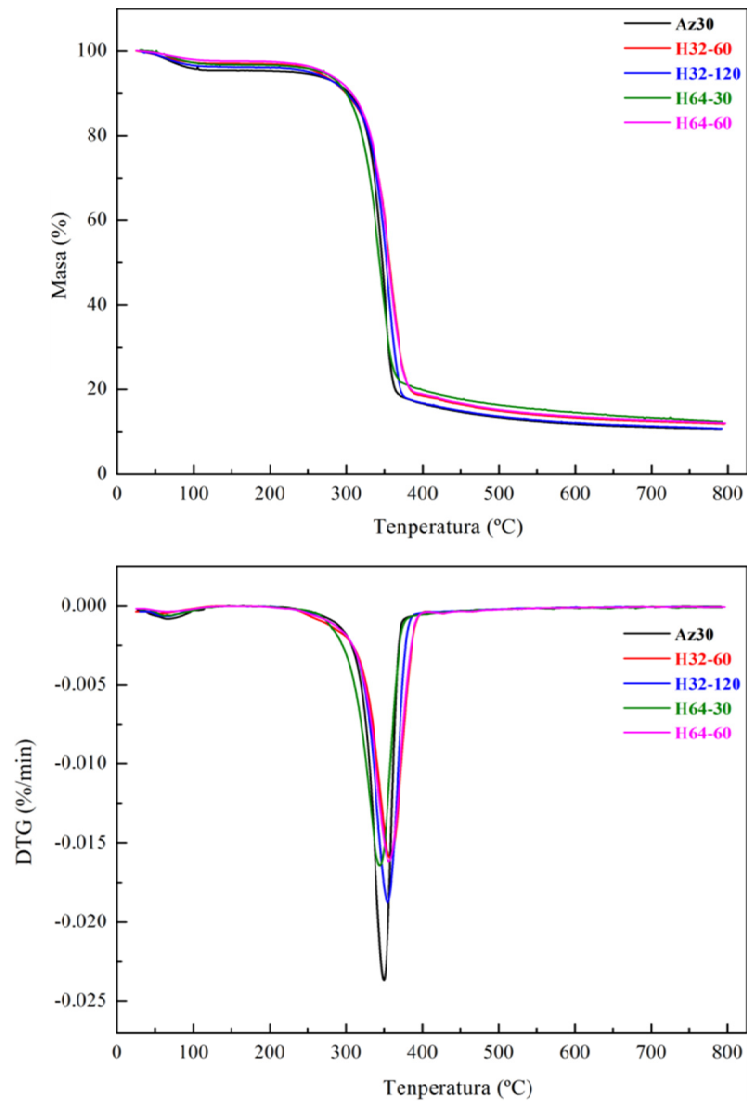
Laginen difraktogrametik **4.6. Taulan** biltzen diren kristaltasun mailak kalkulatu dira.

4.6. Taula. Az30 eta hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko laginen kristaltasun mailak.

Tratamendua	Kristaltasun maila (%)
Az30	76
H32-60	77
H32-120	67
H64-30	79
H64-60	72

Hidrolisi osteko laginen kristaltasun mailak Az30 laginaren antzekoak direla ikusten da. Autore batzuk hidrolisi azido tratamenduak zelulosaren alderdi amorfoa disolbatzeaz gain, alderdi kristalinoan ere eragiten duela adierazi dute (14-16). 60 minutuz masan %32 azido sulfuriko eta 30 minutuz masan %64 azido sulfuriko disoluzioekin hidrolizaturiko laginek, kristaltasun maila balio handienak dituzte, biak nahiko antzekoak izanik. Aldiz, hidrolisi denborak handituaz, kristaltasun maila balioak txikitu egiten dira. Emaitza hauek hidrolisi azido tratamenduaren denbora luzatzeak kristalaren e-estrukturan kalteak sortarazi ditzakeela iradokitzen dute.

Analisi termograbitrikoaz ZNK-en egonkortasun termikoa aztertu da. **4.11. Irudian** 5,5-ko pH-raino dializatutako ZNK-en TGA eta DTG termogramak irudikatu dira.



4.11. Irudia. Az30 eta hidrolisi azido ostean pH=5,5-raino dializatutako ZNK-en TGA eta DTG termogramak.

pH = 5,5-raino dializatutako ZNK-en emaitza termikoak antzekoak dira nahiz eta hidrolisi baldintza desberdinak erabili. Baldintza esperimental ezberdinez lorturiko ZNK-en lehenengo masa galera, degradazio haste temperatura, degradazio temperatura maximoa eta hondakinen balioak **4.7. Taulan** biltzen dira.

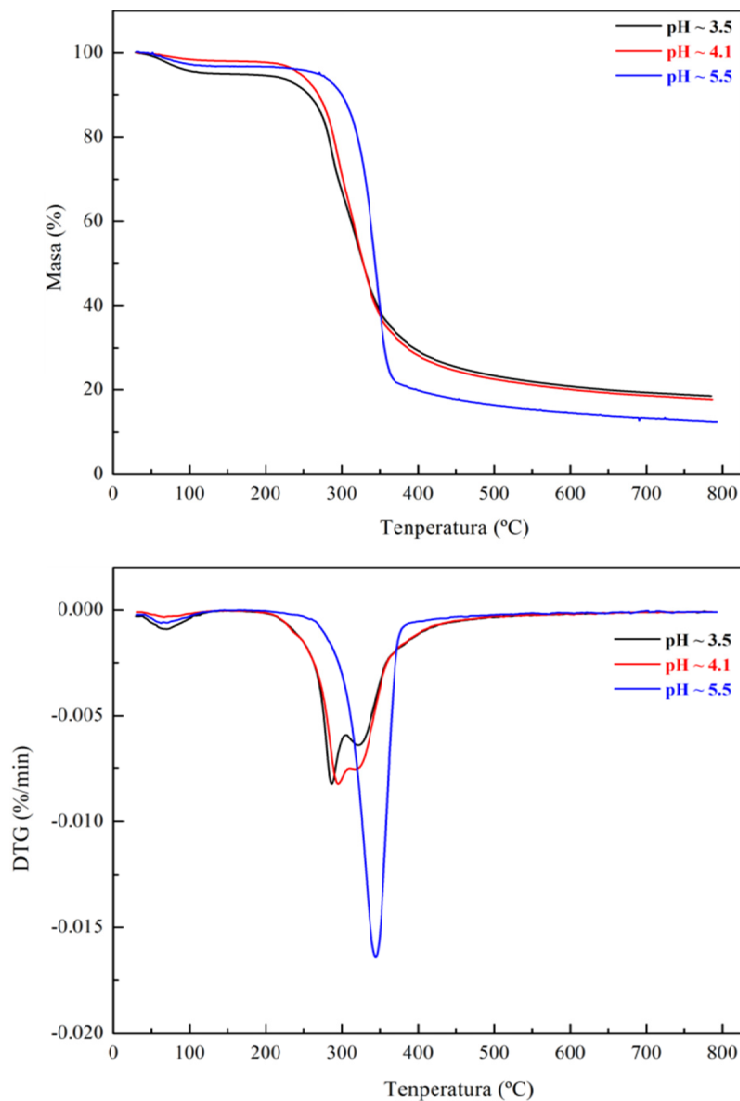
4.7. Taula. Hidrolisi azido baldintza esperimental ezberdinetan lorturiko ZNK-en datu termikoak.

Tratamendua	Dializaturiko	1. galera	2. galera	Degradazioa	Hondakina
	suspentsioaren pH-a	(%)	T _{onset} (°C)	T _{max} (°C)	800 °C-tan (%)
H32-60	3,9	3	303	335	13
	5,5	3	326	358	12
H32-120	3,8	3	304	335	11
	5,5	4	327	355	11
H64-30	3,5	5	266	287 eta 321	18
	4,1	2	268	295 eta 317	18
	5,5	3	315	345	12
H64-60	4,0	4	309	337	13
	5,5	2	328	357	12

Hidrolisi azido tratamendu berdina jasan duten ZNK-en suspentsioa pH balio ezberdinetaraino dializatu direnean, ZNK-ek egonkortasun termiko ezberdina aurkezten dute. Beraz, ZNK-en tenperaturarekiko egonkortasuna dialisi osteko ZNK-en suspentsioaren pH balioaren menpekoa dela ikusi da.

Lagin guztietan, suspentsioaren pH-a handitzen den heinean, ZNK-en egonkortasun termikoa handitzen dela ikusten da. Masan %64 azido sulfuriko disoluzioarekin 30 minutuz hidrolizaturiko zelulosazko nanokristalak izan ezik, gainontzeko laginen termogramek degradazio etapa bakarra erakusten dute.

4.12. Irudian, 30 minutuz masan %64 azido sulfuriko disoluzioarekin hidrolizatu diren eta suspentsioak pH ezberdinetaraino dializatu diren zelulosazko nanokristalen TGA eta DTG termogramak irudikatu dira.

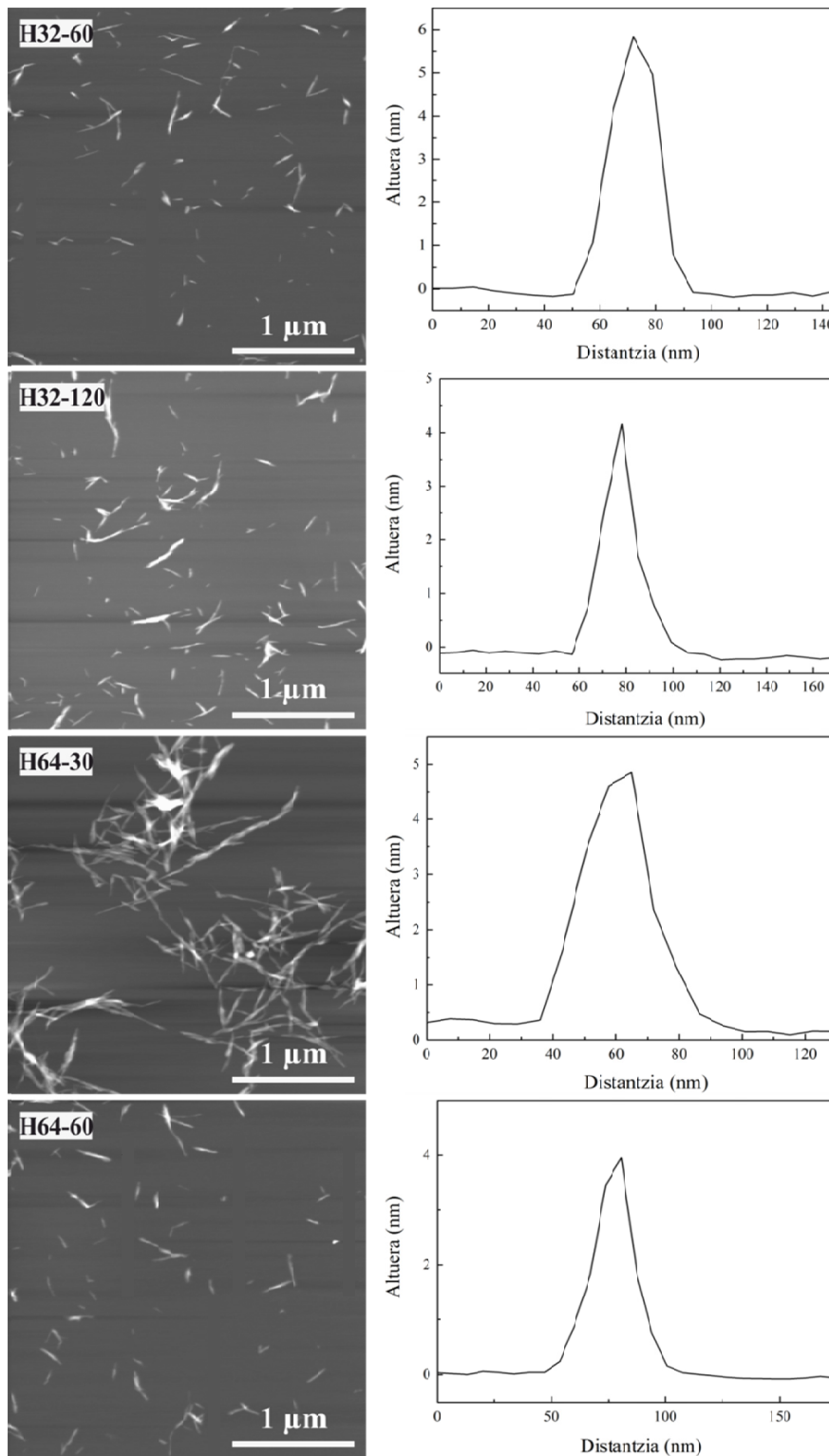


4.12. Irudia. pH ezberdinetaraino dializatu diren H64-30 zelulosa nanokristalen suspentsioen TGA eta DTG termogramak.

ZNK-en suspentsioa pH balio baxuetararte dializatu denean, hau da 3,5 eta 4,1, bi degradazio prozesu bereizten dira. Aldiz, pH-aren balioa 5,5 denean, degradazio haste temperatura handitzeaz gain, degradazioa etapa bakar batean ematen da. Degradazio osteko hondakin edukia, dializatu diren ZNK-en suspentsioaren pH-aren menpe dagoela ere ikus daiteke. Honela, pH-a 3,5 eta 4,1 denean hondakin edukia, pH ~ 5,5 denean baino handiagoa da. Hondakin kantitate handiago hau sulfato edukiarekin erlaziona daiteke (16,17). Mandal eta Chakrabarty-en (12) arabera, ingurune azidoan ZNK-etan ematen den sulfato taldeen txertaketak zelulosa kristalen egonkortasun termikoa txikitzen dute. Ingurune azidoak bi anhidroglukosa unitateen artean dagoen β -1,4-

glikosidiko loturaren apurtzea kataliza dezake (18,19), honela zelulosa kateen luzerak laburtuz. Beraz, kateen luzera txikitzea egonkortasun termikoaren txikitzearekin zuzenki erlaziona daiteke. ZNK-en suspentsioaren pH-a 5,5-rarte handitzen denean, hondakin kantitatea %12-raino txikitzen da, suspentsioko sulfato kantitatea txikitzen dela iradokiaz. Sulfato talde hauek dialisi prozesuan eliminatu diren azido libre edukiarekin erlazionatuta egon daitezke. Bestalde, pH-a 5,5 denean, laginen egonkortasun termikoa gainontzeko hidrolisi baldintzez lorturiko laginekin alderatu ezker, antzekoa dela ikus daiteke.

Hidrolisi azido baldintza ezberdinek zelulosa nanokristalen morfologiarengan duten eragina aztertu da. AFM teknikaren bidez, zelulosa nanokristalen tamainen banaketa aztertu da. **4.13. Irudian**, hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko zelulosa nanokristalen AFM altuera irudiak eta ZNK-en altuera profilak azaltzen dira.



4.13. Irudia. Hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko zelulosa nanokristalen AFM altuera irudiak eta beraien altuera profilak.

4.13. Irudiak hidrolisi azido ostean luzera banaketa estuko nanokristalak isolatu direla baieztatzen du. Nanokristalen luzera AFM altuera irudietatik kalkulatu da.

Nanokristalen diametroa aldiz, AFM altuera profilen bidez neurtu da, Nanoscope V analisi softwarea erabiliz, aipatu bezala nanokristalek itxura zilindrikoa dutela kontsideratuz (20). Hidrolisi azido baldintza esperimental ezberdinetan lorturiko 30 ZNK-en batezbesteko luzera eta diametro balioak, eta dagokien itxura erlazio balioak, **4.8. Taulan** biltzen dira. Lorturiko desbideratze estandar balio txikiek, zelulosa nanokristalen tamaina banaketa estua dela adierazten du. Lagin ezberdinentzat, antzeko luzera eta diametro balioak lortu dira, nahiz eta 30 minutuz masan %64 azido sulfuriko disoluzioarekin hidrolizatu diren ZNK-ek itxura erlazio arinki handiagoa duten.

4.8. Taula. Hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko zelulosa nanokristalen luzera, diametro eta itxura erlazio balioak.

Tratamendua	Luzera (nm)	Diametroa (nm)	Itxura erlazioa
H32-60	200 ± 37		40
H32-120	211 ± 50		42
H64-30	224 ± 53	5 ± 2	45
H64-60	198 ± 52		40

Zelulosa nanokristalen itxura erlazio balioa garrantzitsua da, hauek bionanokonpositeetan indartzaile gisa erabiltzen baitira (8). 3. Kapitulu

zelulosa nanokristalak isolatzeko erabilitako baldintzekin tamaina banaketa zabalagoa lortu da, hain zuzen ere, 403 ± 159 nm eta 10 ± 5 nm luzera eta diametro balioak, hurrenez hurren, eta ZNK-en itxura erlazioa 40 izanik. Atal honetan erabilitako hidrolisi baldintzak aurreko atalekoaren (masan %32 H₂SO₄ eta 45 minutu) ezberdinak dira. Kapitulu honetan lorturiko ZNK-en itxura erlazio balioa 3. Kapitulu

lorturikoaren antzekoa izan arren, lorturiko luzera eta diametro balioen banaketa nabarmen estuagoak dira. Datu hauek hidrolisi azidoaren baldintza esperimentalek duten garrantzia azpimarratzen dute, hidrolisi azidoaren optimizazioa beharrezkoa kontsideratuz. Bibliografian, sisal zuntzetatik isolaturiko zelulosa nanokristal

entzat antzeko luzera eta diametro balioak aurkitu dira, 215-250 nm eta 4-5 nm-tako luzera eta diametro balio tartekak, hurrenez hurren (21,22).

4.4 Ondorioak

Erreakzio kimiko segidaren optimizazioaz luzera eta diametro banaketa estua duten nanokristalen lortzea ahalbideratu da.

40-45 inguruko itxura erlazioa duten zelulosazko nanokristalak lortu dira.

Aztertu diren alkali tratamendu denboren artean, 90 minutukoa aukeratu da.

Egonkortasun termikoaren emaitzak kontuan izanik, 30 minutuko azetilazio tratamendua hautatu da.

Hidrolisi azido tratamenduari dagokionean, aztertu diren baldintza esperimental guztiak tamaina banaketa estuko zelulosa nanokristalak lortzeko egokiak izan dira. Hala ere, aztertu diren bi hidrolisi azido kontzentrazio ezberdinetan, erreakzio denbora luzeak erabiltzean kristaltasun maila balioak txikitu egiten dira, denbora luzeak kristalaren estrukturan kalteak sortzen dituztela iradokiaz. Itxura erlazio altueneko ZNK-ak, bai 30 minutuz masan %64 azido sulfuriko (H64-30), baita 60 minutuz masan %32 azido sulfuriko (H32-60) disoluzioekin lortu dira. Hala ere, H64-30 baldintzaz isolaturiko zelulosa nanokristalen kristaltasun maila eta itxura erlazio balioak besteekiko alderatuta arinki altuagoak dira.

Azkenik, lagin guztietan zelulosa nanokristalen egonkortasun termikoa handitu egiten da dializaturiko ZNK-en suspentsioen pH balioak handitzean.

4.5 Erreferentziak

- 1 De Rosa IM, Kenny JM, Puglia D, Santulli C, Sarasini F (2010). Morphological, thermal and mechanical characterization of okra (*Abelmoschus esculentus*) fibres as potential reinforcement in polymer composites. *Compos. Sci. Technol.* 70: 116-122.
- 2 Haiping Y, Rong Y, Hanping C, Dong HL, Chuguang Z (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel* 86: 1781-1788.
- 3 Garside P, Wyeth P (2003). Identification of cellulosic fibres by FTIR spectroscopy: thread and single fibre analysis by attenuated total reflectance. *Stud. Conserv.* 48: 269-275.
- 4 Wang K, Jiang JX, Xu F, Sun RC (2009). Influence of steaming explosion time on the physic-chemical properties of cellulose from *Lespedeza* stalks (*Lespedeza crytobotrya*). *Bioresour. Technol.* 100: 5288-5294.
- 5 De Rosa IM, Kenny JM, Maniruzzaman M, Moniruzzaman Md, Monti M, Puglia D, Santulli C, Sarasini F (2011). Effect of chemical treatments on the mechanical and thermal behaviour of okra (*Abelmoschus esculentus*) fibres. *Compos. Sci. Technol.* 71: 246-254.
- 6 Alemdar A, Sain M (2008). Isolation and characterization of nanofibres from agricultural residues – wheat straw and soy hulls. *Bioresour. Technol.* 99: 1664-1671.
- 7 Meshitsuka G, Isogai A (1996). In book: *Chemical modification of lignocellulosic materials*. Ed: Hon DNS, Chapter 2: Chemical structures of cellulose, hemicelluloses, and lignins. 11-34. CRC Press, Technology & Engineering. New York.
- 8 Rosli NA, Ahmad I, Abdullah I (2013). Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from *Agave angustifolia* fibre. *BioResources* 8: 1893-1908.
- 9 Barreto ACH, Rosa DS, Fachine PBA, Mazzetto SE (2011). Properties of sisal fibers treated by alkali solution and their application into cardanol-based biocomposites. *Composites: Part A*, 42: 492-500.

- 10 Arbelaiz A, Fernández B, Ramos JA, Mondragon I (2006). Thermal and crystallization studies of short flax fiber reinforced polypropylene matrix composites: effect of treatments. *Thermochim. Acta* 440: 111-121.
- 11 Sun JX, Sun XF, Zhao H, Sun RC (2004). Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. *Polym. Degrad. Stabil.* 84: 331-339.
- 12 Mandal A, Chakrabarty D (2011). Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. *Carbohydr. Polym.* 86: 1291-1299.
- 13 Chen W, Yu H, Liu Y, Hai Y, Zhang M, Chen P (2011). Isolation and characterization of cellulose nanofibers from four plant cellulose fibers using a chemical-ultrasonic process. *Cellulose* 18: 433-442.
- 14 Wang N, Ding E, Cheng R (2008). Preparation and liquid crystalline properties of spherical cellulose nanocrystals. *Langmuir* 24: 5-8.
- 15 Zaini LH, Jonoobi M, Paridah MdT, Karimi S (2013). Isolation and characterization of cellulose whiskers from kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) bast fibers. *J. Biomater. Nanobiotechnol.* 4: 37-44.
- 16 Roman M, Winter WT (2004). Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. *Biomacromolecules* 5: 1671-1677.
- 17 Wang N, Ding E, Cheng R (2007). Thermal degradation behaviors of spherical cellulose nanocrystals with sulfate groups. *Polymer* 48: 3486-3493.
- 18 Arbelaiz A, Cantero G, Fernández B, Mondragon I, Gañán P, Kenny JM (2005). Flax fiber surface modifications: effects on fiber physico mechanical and flax/polypropylene interface properties. *Polym. Compos.* 26: 324-332.
- 19 Corrêa AC, Teixeira EM, Pessan LA, Capparelli Mattoso LH (2010). Cellulose nanofibers from curaua fibers. *Cellulose* 17: 1183-1192.

20 Kvien I, Tanem BS, Oksman K (2005). Characterization of cellulose whiskers and their nanocomposites by atomic force and electron microscopy. *Biomacromolecules* 6: 3160-3165.

21 Siqueira G, Bras J, Dufresne A (2009) Cellulose whiskers versus microfibrils: influence of the nature of the nanoparticle and its surface functionalization on the thermal and mechanical properties of nanocomposites. *Biomacromolecules* 10: 425-432.

22 Garcia de Rodriguez NL, Thielemans W, Dufresne A (2006). Sisal cellulose whiskers reinforced polyvinyl acetate nanocomposites. *Cellulose* 13: 261-270.

5. KAPITULUA

**GELATINA MATRIZEAN ETA NANOZELULOSAN
OINARRITURIKO BIONANOKONPOSITEAK**

5.1 Helburua

Kapitulu honen helburua nanozelulosan (ZNZ, ZNK) eta gelatina matrizean oinarritutako bionanokonposite filmak *solvent casting* metodoaz prestatzea eta karakterizatzea izan da. Lehenik, nanozuntz komertzialetik abiatuz hainbat hidrolisi azido baldintzak erabiliz, nanokristalak isolatu dira. Bionanokonpositeen prestakuntzan, isolaturiko itxura erlazio altua duten nanokristalak erabili dira. Nanozelulosa eduki ezberdinak erabiliaz, gelatina matrizean oinarritutako hainbat bionanokonposite prestatu dira. Bionanokonpositeen propietate fisiko-kimikoak, FTIR, TGA eta DSC teknika esperimentalen bidez analizatu dira. Filmen hesi propietateak oxigeno eta ur lurrunaren iragazkortasun saiaketen bidez aztertu dira. Azkenik, gelatina matrizearen eta bionanokonpositeen trakzio propietateak eta haustura gainazalaren morfologia aztertu dira.

Kapitulu honetan, matrize bezala 2. kapituluan azaldu den Sigma-Aldrich etxeak hornituriko gelatina komertziala erabili da. Bionanokonpositeen prestaketan Maine Unibertsitateak hornituriko zelulosa nanozuntzak eta hauetatik isolaturiko zelulosa nanokristalak erabili dira.

5.2 Zelulosa nanozuntzetik nanokristalen isolamendua

Zelulosa nanokristalak, Maine Unibertsitateak hornituriko zelulosa nanozuntzetik isolatu dira, 45 °C-tan masan %32 azido sulfuriko disoluzio batekin erreakzionaraziz. Zelulosa nanozuntzen zati amorfoa erauzteko beharrezkoa den denbora egokiena, 1, 2 eta 3 ordutan hidrolizatutako laginen karakterizazio morfologikotik determinatu da. Hidrolisia ura gehituz gelditu ondoren, 2 zentrifugazio etapa (4500 rpm, 10 minutu) jarraian egiten dira. Dialisi etapan, laginak 4-5 balio inguruko pH-a lortu arte dializatu dira. Bionanokonpositeen prestaketan erabili diren zelulosa nanokristalak, ur suspentsioan mantendu dira agregatuen eraketa ekiditeko (1).

5.3 Bionanokonposite filmen prestaketa

Solvent casting metodoaz, gelatina eta nanozelulosan oinarrituriko bionanokonpositeen filmak prestatu dira. Nanozelulosa masan %1, 3, 5 eta 10-an gehitu da. Bionanokonpositeak GxZNN eta GxZNNK bezala izendatu dira, non x nanozelulosaren masa portzentaia den.

Lehenik, nanozelulosa ur suspentsioa 2 orduz giro temperaturan irabiatu da eta ondoren 60 °C-tan bainu batetan 30 minutuz sonikatu dira. Tenperatura konstante mantenduz, nanozelulosen suspentsioei gelatina gehitu zaie, beste 25 minutuz sonikatuz. Nahastean hasierako bolumena 50 mL-ra ajustatu da, ura gehituz nanozelulosa portzentaia %5 baino txikiagoa denean eta ura lurrunduz %5 eta 10-ko edukia duten bionanokonpositeetan. Azkenik, bionanokonpositeen suspentsioak Petri platerretan isurtzen dira, 2 egunez giro temperaturan lehortuz. Bionanokonpositeen prestaketa prozedura berdina jarraituz, gelatina filmak prestatu dira. Matrize eta bionanokonposite filmak karakterizatu aurretik, 25 °C eta %50 hezetasun erlatiboa duen kamara klimatiko (Binder KBF 115) batetan egokitu dira.

5.1. Irudian bionanokonpositeen prestaketan jarraituriko prozeduraren eskema azaltzen da.



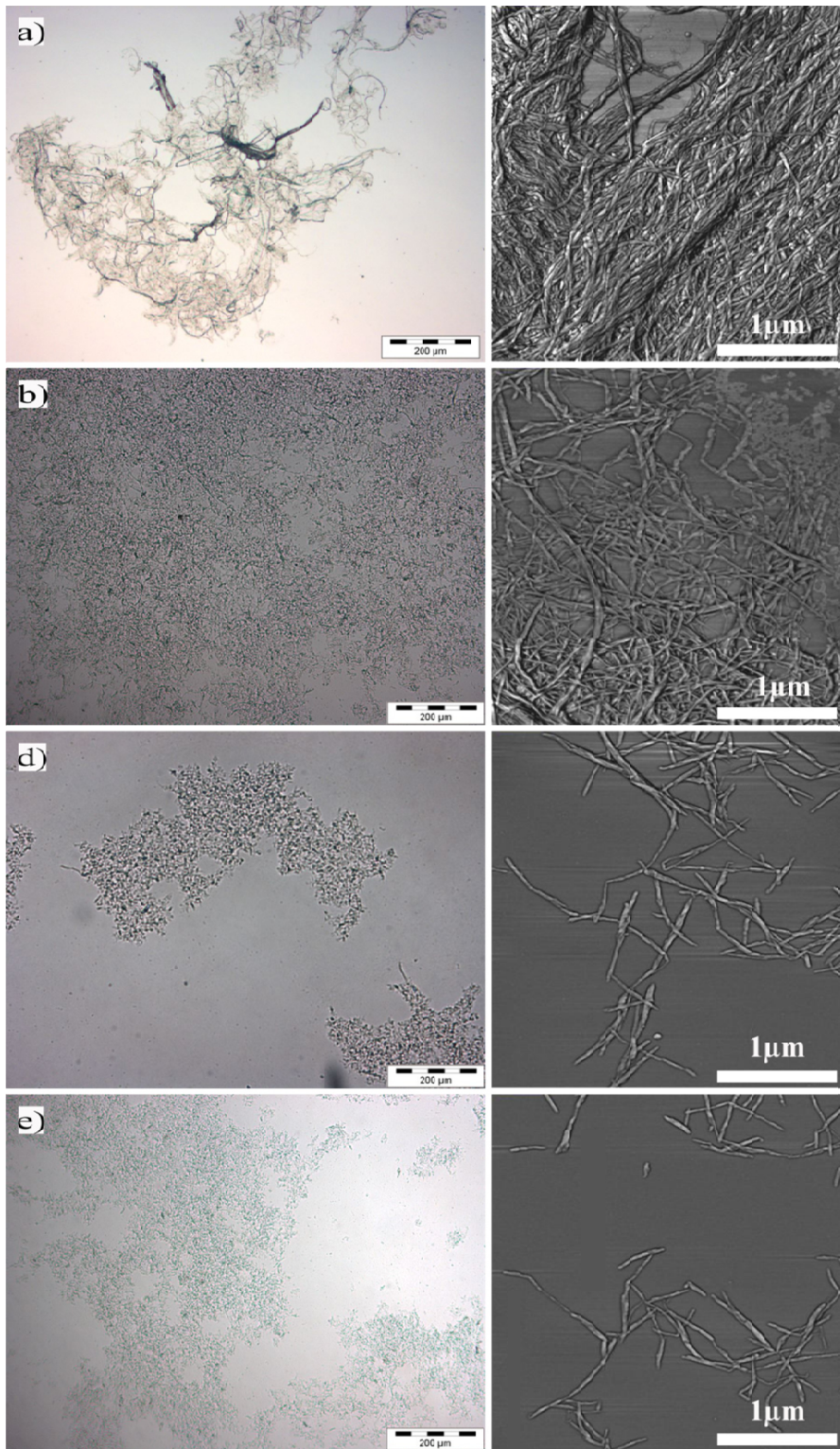
5.1. Irudia. Bionanokonpositeen prestaketan jarraituriko prozeduraren irudi eskematikoa.

5.4 Emaitzak eta eztabaida

5.4.1 Nanokristalen karakterizazioa

Bionanokonpositeetan erabili diren itxura erlazio altuena duten nanokristalak, denbora ezberdinetan hidrolizaturiko nanokristalen analisi morfologikoko emaitzak kontuan izanik aukeratu dira. OM eta AFM tekniken bidez, zelulosa nanozuntzen eta nanokristalen egitura eta tamaina banaketa aztertu dira.

5.2.a Irudian zelulosa nanozuntz komertzialaren irudi optikoa eta AFM fase irudia biltzen dira.



5.2. Irudia. Zelulosa nanozuntz komertzialak (a) eta denbora ezberdinetan hidrolizaturiko nanokristalak: 1h (b), 2h (d) eta 3h (e), mikroskopia optikoko (ezkerra) eta AFM fase irudiak (eskuina).

Nanozuntzen AFM fase irudian (**5.2.a Irudia**), 7 nm inguruko diametroa eta hainbat mikrometrotako luzera duten nanozuntzak ikus daitezke. Aldiz, OM irudian, 1-15 μm -

ko diametroa duten mikrozentz gutxi batzuk ageri dira. Beraz, ZNZ komertzial hauek lortzeko erabili den isolamendu prozesua ondoren, hainbat zuntzek oraindik estruktura mantentzen dutela ikus daiteke.

Denbora ezberdinetan hidrolisi azidoz isolaturiko zelulosa nanokristalak **5.2.b-e Irudietan** azaltzen dira. ZNK-entzat neurtu diren diametro balioak, dispersioa txikiagoa den arren, 7 nm ingurukoak dira ere. ZNK-en mikroskopio optikoko irudietan, ZNZ-etan ageri diren mikrozentzak ez dira ikusten. Ordu batez hidrolizatu ondoren AFM-ko irudian (**5.2.b Irudia**) nanozuntz gehienek oraindik beraien estruktura luzea mantentzen dutela ikus daiteke, nanokristalak guztiz isolaturik agertzen ez direlarik, hidrolisi denbora hau egokiena ez izanik. AFM fase irudien bidez, hidrolisi tratamendu denbora handitzen den heinean, ZNK-ak gero eta definituagoak ikusten direla baieztatu daiteke (**5.2.d-e Irudietan**). Hidrolisi azidoaren ondorioz, AFM fase irudietan ikus daitekeen bezala, tamaina uniformeak duten zelulosa nanokristalak isolatu dira. Irudietan zelulosa nanozuntzen alderdi amorfoaren hidrolisia dela eta, nanokristalek luzera txikiagoa erakusten dute.

Hidrolisi azido prozesuan zelulosaren anhidroglukosa unitateetan sulfato taldeen txertaketa gerta daiteke. Analisi elementalaren bidez sufre edukia determinatu da. ZNZ-en sufre edukia %0,01 neurtu da, aldiz, ZNK-en sufre edukia %0,3-0,7 bitartekoa izanik. Eraldaturiko zelulosaren ordezkapen maila ZNK-en kasuan 0,005-0,012 balioen artean egonik.

Hidrolisi azido denbora ezberdinetan hidrolizaturiko laginen AFM altuera irudien profiletik neurturiko zelulosa nanokristalen luzera eta diametroak, **5.1. Taulan** biltzen dira. Ordu bateko hidrolisi azido tratamenduaren ostean, oraindik nanozuntz gehienek mikratak luzera mantentzen dutela ikus daiteke. Emaitza hauek, ordu bateko hidrolisi tratamendu denbora, alde amorfoa guztiz erazteko nahikoa ez dela iradokitzen dute. Hidrolisi denbora handiagoekin, 2 eta 3 ordu ondoren, zelulosa nanokristal entzat 53 eta 43 itxura erlazio balioak neurtu dira, hurrenez hurren. Bionanokonpositeen propietateetan hobekuntza handiena lortzearen, hauen prestaketan itxura erlazioa altuena duten nanokristalak erabili dira, hots, 2 orduko tratamendu azidoaz isolatu direnak.

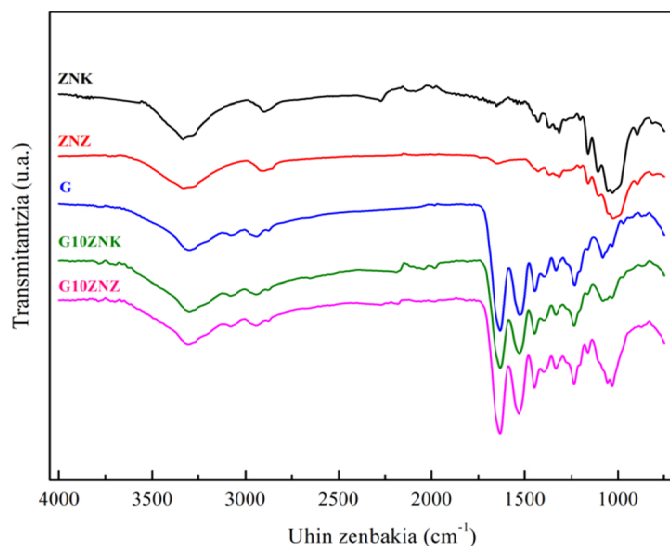
5.1. Taula. Hidrolisi azido denbora ezberdinekin isolatu diren ZNK-en luzera, diametroa eta itxura erlazioa.

Denbora (h)	Luzera (nm)	Diametroa (nm)	Itxura erlazioa
1	Mikrometro	7 ± 5	-
2	370 ± 131	7 ± 2	53
3	284 ± 100	7 ± 2	41

5.4.2 Bionanokonpositeen karakterizazioa

Kapitulu honetan zelulosa nanozuntz eta nanokristal eduki ezberdinak dituzten gelatina bionanokonpositeen emaitzak aurkezten dira.

5.3. Irudian, nanozelulosen (ZNZ eta ZNK) eta gelatina matrizearen eta prestatuturiko nanozelulosa eduki handieneko (masan %10) bionanokonpositeen FTIR espektoak irudikatu dira.



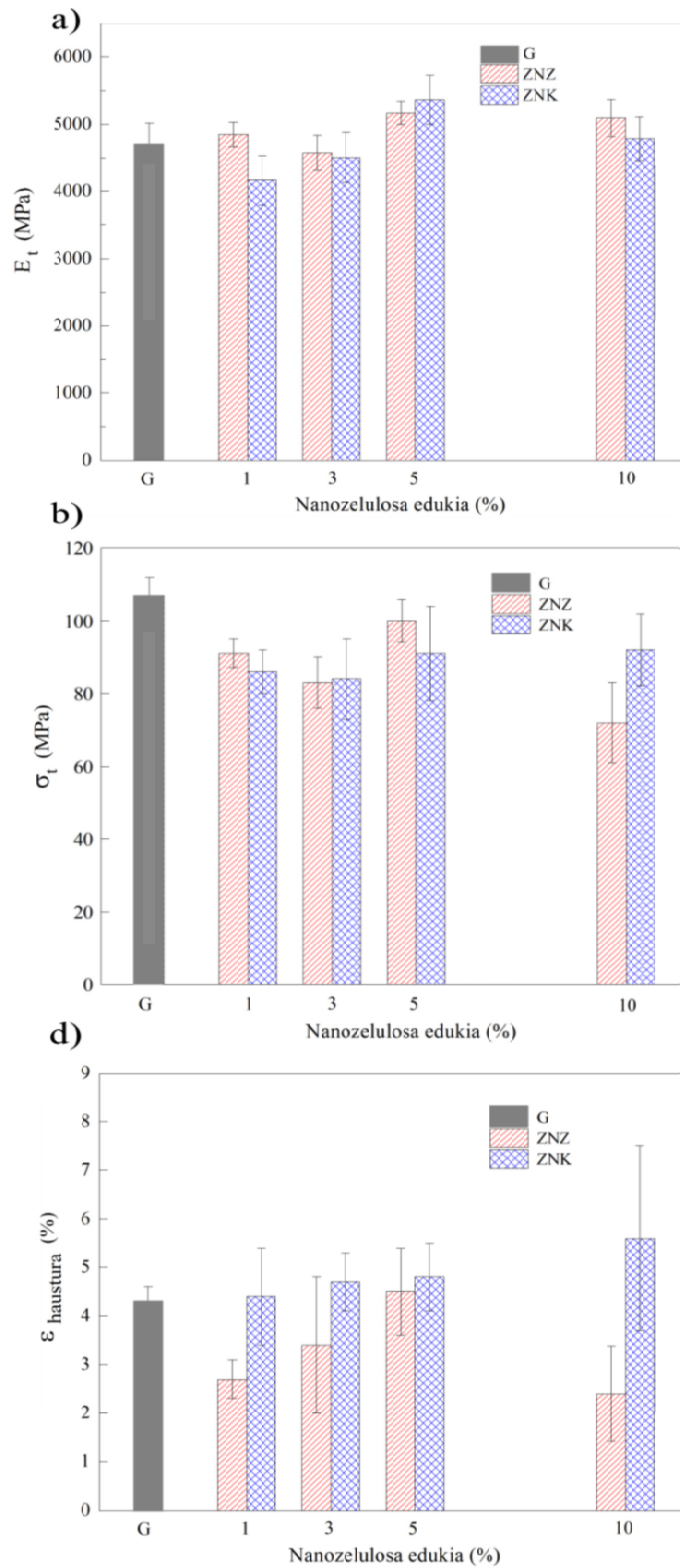
5.3. Irudia. Nanozelulosen, gelatina matrizearen eta G10ZNZ eta G10ZNK bionanokonpositeen FTIR espektoak.

Gelatinaren absortzio banda nagusiak peptidoen bibrazio modu ezberdinekin erlazioa daitezke (amida A, amida I, amida II eta amida III) (2-7). $3500-3200 \text{ cm}^{-1}$ tartean agertzen den amida A banda, hidrogeno zubiko loturaz elkartutako amida taldeen N-H

tentsio bibrazioari dagokio. Amida A bandarekin batera, uhin zenbaki tarte berdinean, ur molekulen O-H loturari dagokion tentsio bibrazio banda agertzen da. 1633 cm^{-1} uhin luzeran agertzen den banda, amidan C=O tentsio bibrazioari dagokio, amida I bezala ezagutzen dena. 1530 cm^{-1} -an C-N tentsio eta N-H deformazio bibrazioei dagokien amida II banda ikus daiteke. Azkenik, C-N tentsio bibrazioari dagokion amida III banda 1232 cm^{-1} -an ageri da. G10ZNN eta G10ZNK bionanokonpositeen eta gelatina hutsaren artean ez da aldaketa nabarmenik ikusten. Bionanokonpositeetan, 1030 cm^{-1} -an agertzen den bandaren intentsitate handitzea nanozelulosekin erlazioa daiteke. Bionanokonpositeetan gelatinari dagozkion bandak posizio berdinetan agertzen direnez, gelatina molekula eta nanozelulosaren artean elkarrekintza intermolekular sendorik ez dela gertatzen esan daiteke.

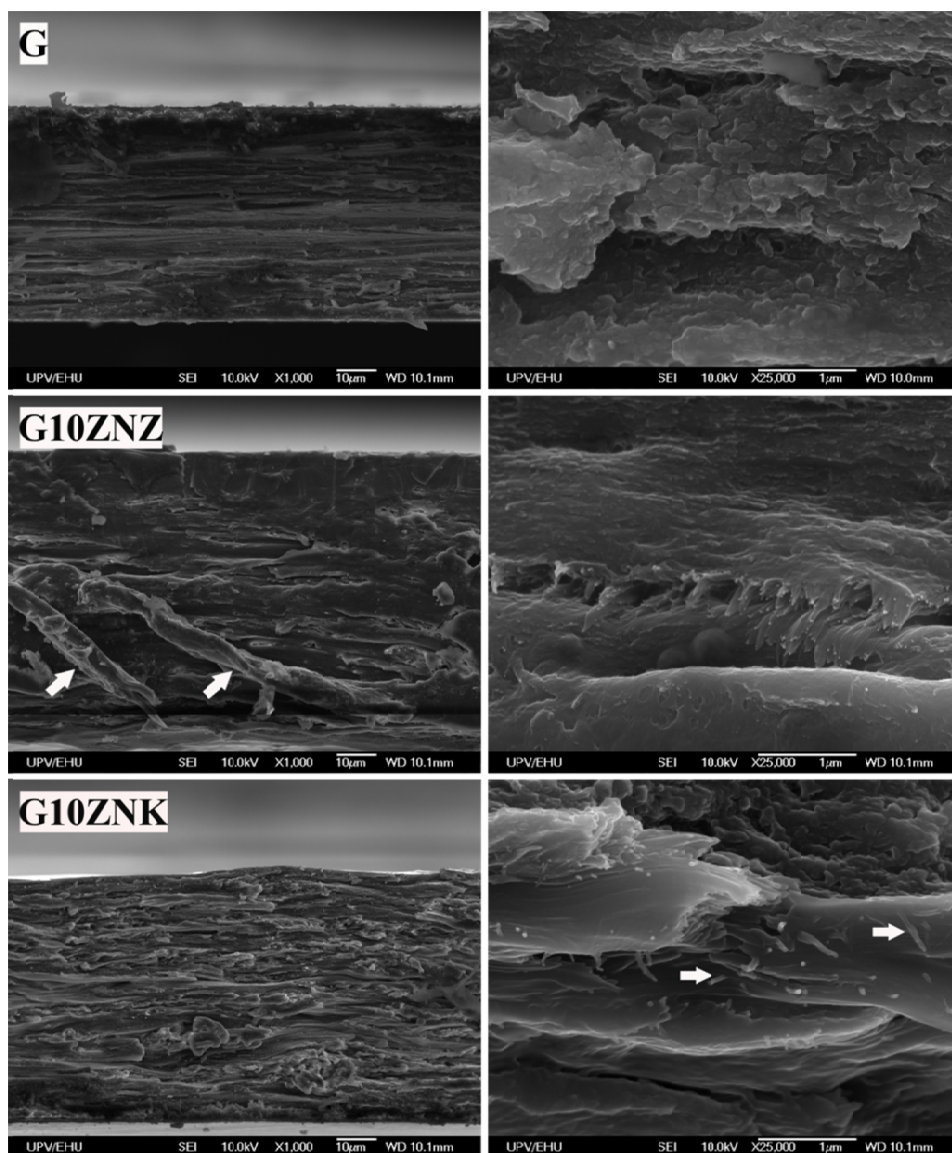
5.4.a-d Irudian, nanozelulosa edukia ezberdineko bionanokonpositeen trakzio propietateak irudikatu dira.

Bionanokonpositeen modulua gelatinaren antzekoa dela ikus daiteke. Aldiz, nanozelulosak gelatinari gehitzerakoan, trakzio erresistentzia balioak txikitu egiten dira. Emaitzek, matritzetik zuntzera tentsio transferentzia txikia dagoela iradokitzen dute. Hausturako deformazioari dagokionean, nanozelulosa gehitzean lortzen diren balioak gelatina matrizearen antzekoak edo zertxobait txikiagoak direla ikusi da. Siqueira eta kideek (8) antzeko portaera ikusi zuten, gelatinari zelulosa nanozuntzak gehitzean, hots, bionanokonpositeetan hausturako deformazio balio txikiagoak neurtu zituzten. George eta Siddaramaiah-ek (9) zelulosa bakterialaz indarturiko gelatina bionanokonpositeen hausturako deformazioa, zelulosa kantitatearen menpekota zela ikusi zuten, edukia handitzean deformazioa txikitzen zelarik.



5.4. Irudia. Gelatinaren eta bionanokonpositeen trakzio propietateak zelulosa nanoentitateen edukia-
funtzio: (a) modulu, (b) trakzio-erresistentzia eta (d) deformazioa.

Saiaketa mekaniko osteko gelatina matrizearen eta %10-ko nanozelulosa edukia duten bionanokonpositeen haustura gainazala, ekorketa elektronikoko mikroskopiaren bidez aztertu da. **5.5. Irudian** gelatina matrizearen eta bionanokonpositeen mikrografiak erakusten dira.



5.5. Irudia. Trakzio saiaketa osteko gelatina matrizearen eta G10ZNZ eta G10ZNK bionanokonpositeen haustura gainazalen SEM mikrografiak (x1000 (ezkerra) eta x25000 (eskuina)).

SEM irudiek zelulosa nanoentitateen dispersio ona erakusten dute. **5.5. Irudian**, masan %10 ZNZ komertziala duen bionanokonpositearen mikrografian, gezi zuriez 8 µm inguruko diametroa duten zelulosa mikrozentzak adierazten dira. Diametro balio hau,

5.2. Irudiko irudi optikoan mikrozentzatzat neurtu diren 1-15 μm arteko diametroekin bat dator.

5.5. Irudian magnifikazio handiagoarekin lortu diren bionanokonpositeen haustura gainazalaren mikrografiata (eskuina), G10ZNK-ri dagokion irudian, zelulosa nanokristalak matrizetik kanporatuak (gezi zuriekin adierazita) ikus daitezke. Horretaz gain, nanokristalen gainazalean ez da ikusten matrizerik itsatsita. ZNK-en gainazala garbia ikustearen arrazoia, matrizearen eta nanokristalen arteko adhesio eza egon daiteke, aurreko trakzio propietate mekanikoekin bat etorritik.

Zenbait aplikazioetarako funtsezkoa da bionanokonpositeen filmetan zehar ur lurrunaren iragazkortasuna aztertzea. **5.2. Taulan**, gelatina matrizearen eta bionanokonpositeen filmen zehar ur lurrun eta oxigeno gasen transmisio abiadura balioak biltzen dira.

5.2. Taula. Gelatina puruaren eta bionanokonposite filmetan zehar WVTR eta OTR balioak.

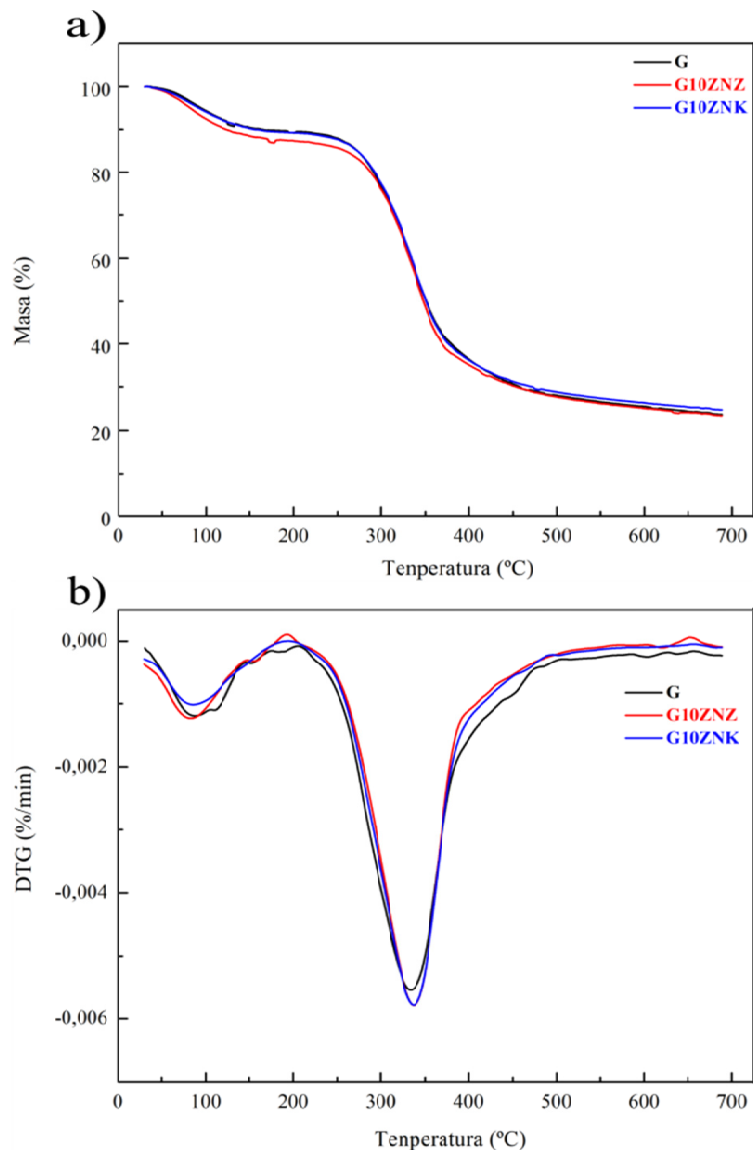
Sistema	Nanozelulosa (%)	WVTR (g mm/m² egun)	OTR (zm³ mm/m² egun atm)
G	0	93 ± 7	0,19 ± 0,01
G1ZNZ	1	95 ± 8	0,20 ± 0,01
G3ZNZ	3	86 ± 4	0,15 ± 0,01
G5ZNZ	5	97 ± 7	0,15 ± 0,02
G10ZNZ	10	102 ± 17	0,13 ± 0,02
G1ZNK	1	118 ± 1	0,22 ± 0,01
G3ZNK	3	111 ± 1	0,23 ± 0,01
G5ZNK	5	100 ± 1	0,15 ± 0,03
G10ZNK	10	144 ± 10	0,12 ± 0,04

Polimero amorfoak, beira trantsizio tenperaturaren arabera, bai beira egoeran bai kautxu edo *rubbery* egoeran egon daitezke. T_g -a baino handiagoko tenperaturan, kautxu egoeran, polimeroaren bolumen askea altua da, ondorioz, gas molekulen difusioa azkarrago eman daiteke. Aldiz, beira egoeran, gas molekulen difusio abiadura txikitu egingo da makromolekulak mugikortasun eta bolumen aske txikiagoa dutelako.

Ur lurrunarekiko transmisio abiadura saiaketatan, urak gelatinan plastifikatzaile efektua duela kontuan izanik, ur lurrunak gelatinaren T_g -a txikiarazi dezake, ondorioz, materiala beira egoera batetik kautxu egoera batera pasaraziz. Trantsizio egoera honen ondorioz, sistemaren bolumen askea eta mugikortasun molekularra handitu egiten dira (10), urarekiko iragazkortasuna handitzen delarik. Lan honetan neurtu diren WVTR balio guztiak kautxu egoerakoak direla pentsa daiteke, eta hau, gelatina matrizeari nanozelulosa gehitzean WVTR balioetan hobetze nabarmenik ez ikustearen arrazoiak izan daiteke. Ur lurrunarekiko bionanokonpositeen transmisio balioak gelatinaren antzekoak edo handiagoak dira, batez ere nanozelulosa kantitateak masan %10 direnean.

Bionanokonpositeen oxigeno gasaren transmisio abiadura balioei dagokionean, batez ere masan %5 eta %10 nanozelulosa edukiarekin, balio txikiagoak neurtu dira. Gero eta nanozelulosa kantitatea handiagoa izan, filma iragazgaitzagoa izango da (11). Nanozelulosa gehitzean hesi propietateak hobetzen direnez, OTR saiaketa baldintzetan, gelatina beira egoeran aurkitzen dela pentsa daiteke eta nanozelulosen gehitzearen ondorioz gelatinaren hesi propietateen hobetzea ikusi da. Nanozelulosak oxigenoaren iragazkortasunerako difusio bidea handitzen dutenez (12), bionanokonpositearen zehar iragazkortasuna txikitu egiten da.

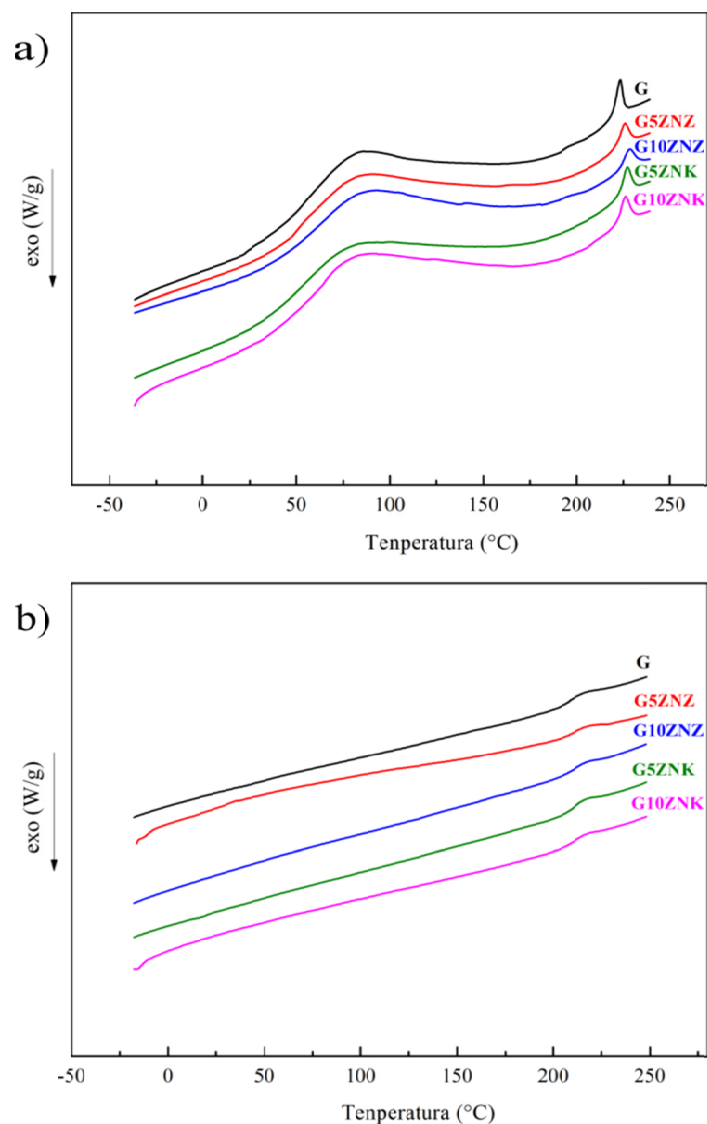
Gelatina matrizearen egonkortasun termikoan nanozelulosak duen eragina analisi termograbitrikoaz aztertu da. **5.6. Irudian** gelatina puruaren eta %10 nanozelulosa edukia duten bionanokonpositeen TGA eta DTG termogramak azaltzen dira, non bi masa galera ikus daitezkeen.



5.6. Irudia. Gelatina, G10ZnZ eta G10ZnK bionanokonpositeen TGA eta DTG termogramak.

Lehenengo masa galera, 30-200 °C temperatura tartean gertatzen da eta filmek duten uraren masa galerari, bai librea bai egiturakoa, atxikitzen zaio. Lagin guztientzat %9 inguruko masa galera neurtu da. Bigarren masa galera, 200-560 °C temperatura tartean gertatzen dena, osagai proteikoaren degradazioarekin erlaziona daiteke (13,14). Bionanokonpositeetan, zelulosa molekulen degradazioa bigarren masa galera prozesuarekin batera gertatzen da. Honela ZnZ-ak eta ZnK-ak gelatinari gehitzean, gelatina matrizearen egonkortasun termikoa handitzen dela ikusi da, bionanokonpositeen degradazio haste temperaturan 7-9 °C-tako handitze bat ematen delarik.

Ekorketa diferentzialeko kalorimetriak laginen portaera termikoaren informazioa ematen du. **5.7. Irudian** gelatinaren eta %5 eta 10 nanozelulosa edukia duten bionanokonpositeen lehenengo eta bigarren ekorketako DSC termogramak biltzen dira.



5.7. Irudia. Gelatina eta %5 eta 10 nanozelulosa edukia duten bionanokonpositeen DSC termogramak: (a) lehenengo ekorketa eta (b) bigarren ekorketa.

Lehenengo ekorketan, 20 eta 190 °C tenperatura tartean, lagin guztiek piko endotermiko zabal bat erakusten dute. Piko hau, TGA termogramatan ikusi den bezala, uraren lurruntzeari atxiki dakiok. Laginaren masa eta TGA-ren bidez determinaturiko laginaren ur kantitatea kontuan izanik, uraren lurrunketarako beharrezkoa den bero kantitatea kalkula daiteke (15). Aipaturiko tenperatura tartean, DSC bidez lorturiko termogramatan pikoaren azalera integratuz laginari dagokion beroa kalkulatu da. Bero

kantitate hau ura lurruntzeko beharrezkoa baino handiagoa dela ikusienez, uraren lurrunketa prozesuaz gain beste prozesu endotermiko bat gertatzen dela pentsa daiteke. Autore batzuk DSC termogrametan ikusitako aurreneko piko endotermikoa gelatinaren helize hirukoitza egitura kristalinoaren fusioari atxikitzen diote (16-18). *Helix-coil* trantsizioan hidrogeno zubi loturak apurtzeaz gain, helize hirukoitzaren egitura, ausazko egitura duen beste batetan berrantolatzen da (19,20). Lagin guztien gelatina masa lehorra kontuan izanik, DSC termogramatan integratutako beroa eta uraren lurrunketa beroaren arteko kenketa eginaz, *helix-coil* trantsizioaren fusio entalpiak kalkulatu dira.

5.3. Taulan kalkulaturiko entalpia balioak biltzen dira.

5.3. Taula. DSC termogrametatik lorturiko gelatina eta bionanokonpositeen balio termikoak.

Sistema	1. ekorketa				2. ekorketa
	T ₁ . trantsizioa (°C)	ΔH _{Helix-Coil} (J/g)	T ₂ . trantsizioa (°C)	ΔH _m (J/g)	T _g (°C)
G	82	75	223	12	208
G5ZNZ	83	73	226	11	211
G10ZNZ	87	54	229	11	212
G5ZNK	82	58	227	12	211
G10ZNK	82	104	226	14	212

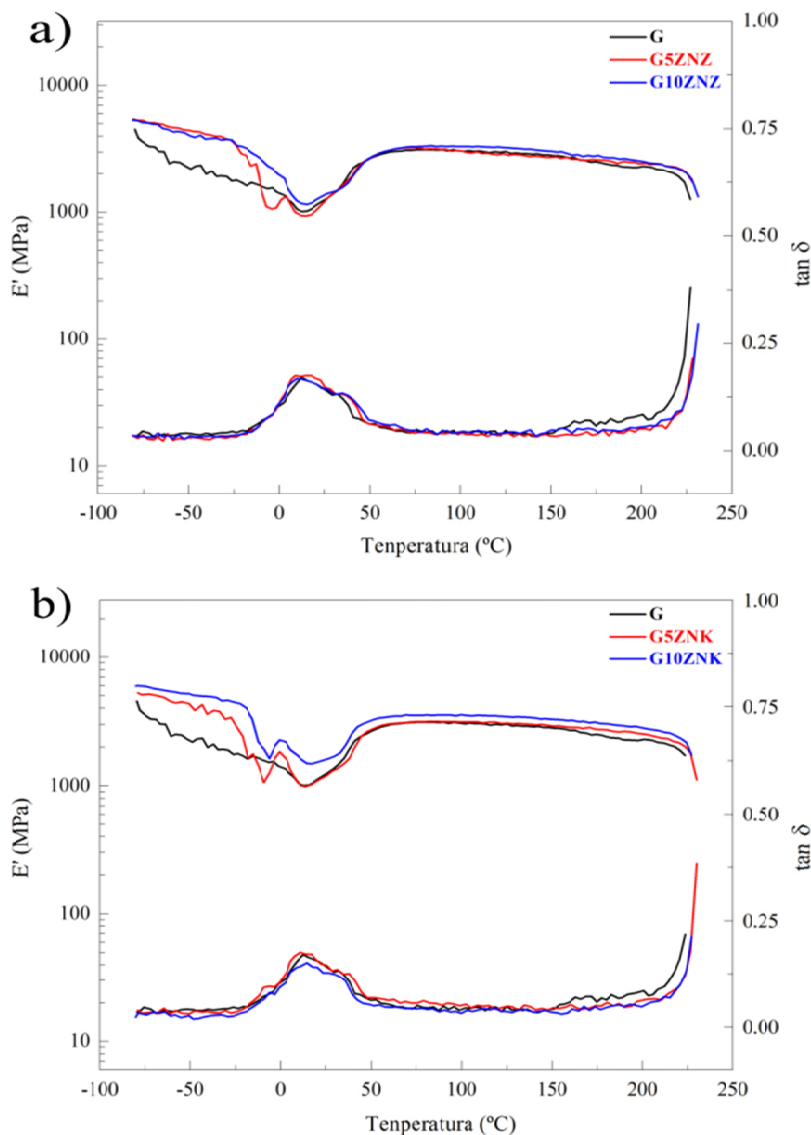
Helix-coil trantsizioarentzat kalkulatu diren balioak 54-104 J/g artean daude. Bibliografian antzeko balioak aurkitu dira. Horrela, Boanini eta kideek (19), txerri larruaren gelatinarentzat, DSC teknikaren bidez, 97 °C-tan 27 J/g-ko desnaturazio entalpia neurtu zuten. Staroszczyk eta kideek (18), txerri azalaren gelatinarentzat 152,7 J/g-ko fusio entalpia neurtu zuten. Rahman eta kideek (21), txerri gelatina komertzialarentzat argitaraturiko fusio entalpia balioak 197-281 J/g artean daude. Gelatinaren ezaugarri termikoen konparaketa zuhurtziaz egin behar da, gelatinaren isolatze metodo ezberdinak, iturriak, adina, eta abar, kontsideratu behar direlako (21,22). Lan honetan, *helix-coil* trantsizioan nanozelulosaren gehitzeak ez duela nabarmenki eragiten ikusi da.

Lehenengo ekorketan, *helix-coil* trantsizioaz gain, 220 °C inguruan beste piko endotermiko bat ikus daiteke, non gelatinaren beste egitura ordenatu bati atxikitu dakioken. Rahman eta kideek (21), txerri gelatina komertzialarentzat antzeko piko endotermiko txiki bat ikusi zuten. Reutner eta kideek (23), industrialki ekoizturiko gelatinarentzat ere 237 °C-tan antzeko piko endotermikoa neurtu zuten. Lagin guztientzat, trantsizio horri dagokion entalpia balioa 11-14 J/g artean dago.

Gelatina eta bionanokonpositeen beira trantsizio tenperaturaren determinazioa lehenengo ekorketan zaila izaten da, gelatinaren ur edukiaren menpekora delako, eta ur edukiaren arabera, uraren lurrunketa eta *helix-coil* trantsizio prozesuak tenperatura tarteberean aurkitu daitezkeelako. T_g -aren determinazioa, **5.7.a Irudian** ikusten den bezala, ez da argia. Pinhas eta kideek (24), gelatinaren propietate fisiko-kimiko eta mekanikoengan urak duen eragina aztertu zuten. Gelatinaren hezetasuna handitzearekin, T_g -an txikitzea gertatzen zela ikusi zuten. Horrela, estrusioz lorturiko eta masan %20-ko hezetasuna zuen gelatina batentzat, 40 °C-tako T_g balioa neurtu zuten.

Gelatina eta bionanokonpositeen bigarren ekorketan (**5.7.b Irudia**) ez da uraren lurrunketa eta *helix-coil* trantsizioari loturiko piko endotermikorik ikusi, eta 210 °C inguruan egoera lehorreko T_g argi bat ikusi da. Lehenengo ekorketan ura lurrundu ondoren, gelatina lehorraren T_g -a, **5.3. Taulan** ikus daitekeen bezala, tenperatura balio altuetan agertzen da. Bionanokonpositeentzat lorturiko T_g balioak gelatinarentzat lorturikoak baino zertxobait handiagoak dira. Honen arrazoia, uraren eliminazioaren ondorioz, gelatina eta nanozelulosaren arteko elkarrekintzen areagotzea izan daiteke. Guztiz lehorturiko gelatinarentzat bibliografian antzeko balioak ikusi dira, horrela, Sobral eta kideek (17,25) 220 °C inguruko balioa neurtu zuten.

Analisi dinamiko-mekanikoa, prestaturiko gelatina matrizearen eta bionanokonpositeen pilaketa moduluaren (E') eta galera faktorearen ($\tan \delta$) bilakaera, tenperatura eta nanozelulosa edukiaren aurrean aztertzeko erabili da. **5.8. Irudian** gelatina matrizearen eta %5 eta 10 ZNZ eta ZNK edukia duten bionanokonpositeen propietate dinamiko-mekanikoen tenperaturarekiko bilakaera azaltzen da.



5.8. Irudia. Gelatina eta %5 eta 10 nanozelulosa edukia duten bionanokonpositeen pilaketa modulua eta galera faktorea: (a) ZNZ oinarritutakoak eta (b) ZNK oinarritutakoak.

ZNZ eta ZNK-ak gelatinari gehitzean prestatutako bionanokonpositeetan, $T < 0$ °C temperatura tartean pilaketa modulua handitze bat ikus daiteke, zurruntasunaren handitze batekin erlaziona daitekeelarik. 0-50 °C temperatura tartean, $\tan \delta$ makurretan, lagin guztiek bi sorbalda dituen piko bat erakusten dute. E' makurretan ikusten den erorketa izotzaren urtze tartean gertatzen da, beraz, lehenengo sorbalda izotzaren urtzearekin erlaziona daiteke, lagin guztiek TGA termogramen bidez uraren lurrunketa erakutsi baitute.

15-20 °C tartean dagoen pikoak, gelatinaren beira trantsizioarekin erlaziona daiteke eta 40 °C inguruan ikus daitekeen sorbalda, gelatinaren *helix-coil* trantsizioari atxikitu

dakiokeelarik. Pilaketa moduluan ematen den txikitzearen ondoren, plastifikatzaile bezala jokatzen duen uraren lurrunketa ostean, pilaketa modulua berriro handitu egiten da, ondorioz, materialen zurruntasunaren handitzea gertatzen delarik. Azkenik, 215 °C inguruan, pilaketa modulua erortzen da, materialen fusioa, DSC-z ikusi bezala, eta degradazioa, TGA-n ikusi bezala, aldi berean edo bata bestearen jarraian gerta daitezkeela adieraziz.

5.5 Ondorioak

AFM-ko irudiek, hidrolisi azidoaren bidez, 2 eta 3 orduko tratamenduekin zelulosa nanokristalak isolatu direla baieztatzen dute. Hidrolisi azidoaren denbora ezberdinek, zelulosaren itxura erlazioan eragiten dutela ikusi da. 2 orduko hidrolisi azido tratamendu osteko nanokristalak itxura erlazio handiena dute.

Bionanokonpositeen FTIR espektroetan, gelatinaren absortzio banda bereizgarrienak antzeko posizioetan daudela ikusirik, gelatina eta zelulosa nanoentitateen arteko elkarrekintza intermolekularrak ahulak direla iradokitzen dute.

Bionanokonpositeek gelatina matrizeak baino trakzio erresistentzia balio txikiagoak erakusten dituzte, matritzetik zuntzetara tentsio transferentzia txikia dagoela iradokiaz. SEM irudiek gelatina matrizearen eta zelulosa nanokristalen arteko adhesio eza baieztatzen dute, trakzio saiaketa lorturiko balioekin bat etorriaz.

Gelatina matrizean nanozelulosa gehitzeak, WVTR balioetan ez du nabarmenki eragiten, portaera honen arrazoia gelatina saiaketa baldintzetan kautxu egoeran dagoela izan daiteke. Aldiz, bionanokonpositeen OTR balioei dagokionean, gelatina matrizeari nanozelulosa gehitzean, masan %5 eta 10 edukian batez ere, txikitu egiten direla ikusi da. Saiaketa baldintza hauetan gelatina beira egoeran dago eta nanozelulosa gehitzean difusiorako ibilbidea handitu egiten da.

Gelatina matrizeari nanozelulosa gehitzean bionanokonpositeen egonkortasun termikoa handitzen dela ikusi da. Lehenengo DSC ekorketan, lagin guztietan bi piko endotermiko ikus daitezke. 20 °C-tik 190 °C bitartean piko endotermiko zabal bat dago, uraren lurruntzearekin eta *helix-coil* trantsizioarekin erlazionatzen dena. 220 °C-tan agertzen den bigarren piko endotermikoa, gelatinaren beste egitura ordenatu batekin erlaziona daiteke. Lehenengo ekorketa ondoren, ura lurrundu denez, gelatina lehorraren T_g -a 210 °C inguruan agertzen da. Nanozelulosa gehitzeak, *helix-coil* trantsizioaren

entalpiarengan nabarmenki eragiten ez badu ere, bigarren ekorketan kalkulaturako T_g -a temperaturak balio altuagotara desplazatzen dira. Honen arrazoia, egoera lehorrean gelatina molekulen eta nanozelulosaren arteko elkarrekintzak areagotzen direla izanik.

DMA analisisan, 0-50 °C tartean, $\tan \delta$ pikoak bi sorbalda erakusten ditu. Lehenengoa, izotzaren fusioarekin erlazionatzen da. 15-20 °C bitartean agertzen den pikoa, gelatinaren beira trantsizioari dagokio eta 40 °C-tako sorbalda, gelatinaren *helix-coil* trantsizioari atxikitzen zaio. 215 °C inguruan, laginen fusioa antzemateaz gain degradazio prozesua ere ematen da. Emaidza hauek DSC-ko lehenengo ekorketarekin eta TGA-ko emaitzekin bat datoz.

5.6 Erreferentziak

- 1 Lavoine N, Desloges I, Dufresne A, Bras J (2012). Microfibrillated cellulose – its barrier properties and applications in cellulosic materials: a review. *Carbohydr. Polym.* 90: 735-764.
- 2 Hashim DM, Che Man YB, Norakasha R, Shuhaimi M, Salmah Y, Syahariza ZA (2010). Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. *Food Chem.* 118: 856-60.
- 3 Kong J, Yu S (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Bioch. Bioph. Sin.* 39: 549-559.
- 4 Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG (2004). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chem.* 86: 325-332.
- 5 Nur Hanani ZA, Roos YH, Kerry JP (2012). Use of beef, pork and fish gelatin sources in the manufacture of films and assessment of their composition and mechanical properties. *Food Hydrocolloid* 29: 144-151.
- 6 Nur Hanani ZA, Beatty E, Roos YH, Morris MA, Kerry JP (2013). Development and characterization of biodegradable composite films based on gelatin derived from beef, pork and fish sources. *Foods* 2: 1-17.
- 7 Taokaew S, Seetabhawang S, Siripong P, Phisalaphong M (2013). Biosynthesis and characterization of nanocellulose-gelatin films. *Mater.* 6: 782-794.
- 8 Siqueira G, Bras J, Dufresne A (2010). Cellulosic Bionanocomposites: a review of preparation, properties and applications. *Polymers* 2: 728-765.
- 9 George J, Siddaramaiah (2012). High performance edible nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals. *Carbohydr. Polym.* 87: 2031-2037.
- 10 D’Cruz NM, Bell LN (2005). Thermal unfolding of gelatin in solids as affected by the glass transition. *J. Food Sci.* 70: 64-68.

- 11 Aulin C, Gällstedt M, Lindström T (2010). Oxygen and oil barrier properties of microfibrillated cellulose films and coatings. *Cellulose* 17: 559-574.
- 12 Belbekhouche S, Bras J, Siqueira G, Chappey C, Lebrun L, Khelifi B, Marais S, Dufresne A (2011). Water sorption behavior and gas barrier properties of cellulose whiskers and microfibrils films. *Carbohydr. Polym.* 83: 1740-1748.
- 13 Arfat YA, Benjakul S, Prodpran T, Osako K (2014). Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin. *Food Hydrocolloid* 39: 58-67.
- 14 Zadeh EM, Yu A, Fu L, Dehghan M, Sbarski I, Harding I (2014). Physical and thermal characterization of graphene oxide modified gelatin-based thin films. *Polym. Compos.* 2043-2049.
- 15 Orue A, Corcuera MA, Peña C, Eceiza A, Arbelaiz A (2013). Bionanocomposites based on thermoplastic starch and cellulose nanofibers. *J. Thermoplast. Compos.* DOI: 10.1177/0892705714536424.
- 16 Ma W, Tang C-H, Yin S-W, Yang X-Q, Wang Q, Liu F, Wei Z-H (2012). Characterization of gelatin-based edible films incorporated with olive oil. *Food Res. Int.* 49: 572-579.
- 17 Sobral PJA, Habitante AMQB (2001). Phase transitions of pigskin gelatin. *Food Hydrocolloid* 15: 377-382.
- 18 Staroszczyk H, Pielichowska J, Sztuka K, Stangret J, Kołodziejska J (2012). Molecular and structural characteristics of cod gelatin films modified with EDC and TGase. *Food Chem.* 130: 335-343.
- 19 Boanini E, Rubini K, Panzavolta S, Bigi A (2010). Chemico-physical characterization of gelatin films modified with oxidized alginate. *Acta Biomater.* 6: 383-388.
- 20 Farris S, Schaich KM, Liu LS, Cooke PH, Piergiovanni L, Yam KL (2011). Gelatin-pectin composite films from polyion-complex hydrogels. *Food Hydrocolloid* 25: 61-70.

- 21 Rahman MS, Al-Saidi GS, Guizani N (2008). Thermal characterisation of gelatin extracted from yellowfin tuna skin and commercial mammalian gelatin. *Food Chem.* 108: 472-481.
- 22 Bell LN, Touma DE (1996). Glass transition temperatures determined using a temperature-cycling differential scanning calorimeter. *J. Food Sci.* 61: 807-828.
- 23 Reutner P, Luft B, Borchard W (1985). Compound formation and glassy solidification in the system gelatin-water. *Colloid Polym. Sci.* 263: 519-529.
- 24 Pinhas M-F, Blanshard JMV, Derbyshire W, Mitchell JR (1996). The effect of water on the physicochemical and mechanical properties of gelatin. *J. Therm. Anal.* 47: 1499-1511.
- 25 Sobral PJA, Habitante AMQB, Monterrey-Quintero ES (2003). Effect of the conditioning time on gelatin phase transitions. *Braz. J. Food Technol.* 6: 327-331.

6. KAPITULUA

ONDORIO OROKORRAK, ETORKIZUNERAKO
LAN-ILDOAK ETA ARGITALPENAK

6.1 Ondorio orokorrak

Landare zuntzetatik nanozelulosaren isolamendua

Erreakzio kimikoen osteko laginen FTIR espektroek, XRD emaitzek, eta TGA termogramek konposatu ez-zelulosikoen eliminatzea baieztatzen dute.

Erreakzio kimiko segidaren osteko laginek zelulosa I estruktura kristalinoa dute eta laginen kristaltasun maila jatorrizko zuntzekiko alderatuz % 30 handitzea da.

Laginen egonkortasun termikoa alkalizazio etapa arte handitzen da, aldiz, erabiltzen diren ingurune azidoak, degradazio tenperaturak txikiarazten dituzte.

Azterketa morfologikoen bidez, erabili den erreakzio kimiko segida nanozelulosa isolatzeko egokia dela baieztatu da. Gainera, erreakzio kimiko segidaren optimizazioaz luzera eta diametro banaketa estua eta 40-45 inguruko itxura erlazioa duten zelulosazko nanokristalak lortu dira.

Hidrolisi azido erreakzio denbora luzeak erabiltzean kristaltasun maila balioak txikitu egiten dira, denbora luzeak kristalaren estrukturan kalteak sortzen dituztela iradokiaz. 30 minutuz masan %64 azido sulfurikorekin isolaturiko zelulosa nanokristalaren kristaltasun maila eta itxura erlazio balioak besteekiko alderatuta arinki altuagoak dira.

Zelulosa nanokristalaren egonkortasun termikoa handitu egiten da dializaturiko suspentsioen pH balioak handitzean.

Gelatina matrizean eta nanozelulosan oinarritutako bionanokonpositeak

AFM-ko irudiek, zelulosa nanokristalak soilik 2 eta 3 orduko hidrolisi azido tratamenduekin isolatu direla baieztatzen dute, 2 ordu ostean itxura erlazio handiena duten nanokristalak lortu direlarik.

Bionanokonpositeen FTIR espektroetan, gelatinaren absortzio banda bereizgarrienak antzeko posizioetan daudela ikusirik, gelatina eta zelulosa nanoentitateen arteko elkarrekintza intermolekularrak ahulak direla iradokitzen dute. Bionanokonpositeen trakzio propietateak eta SEM irudiak gelatina matrizearen eta zelulosa nanokristalaren arteko adhesio eza baieztatzen dute.

Hesi-propietateei dagokionez, gelatina matrizeari nanozelulosa gehitzeak, WVTR balioetan nabarmenki eragiten ez duen arren, OTR balioei dagokionean, batez ere %5 eta 10 edukieran, txikitu egiten da.

Lehenengo DSC ekorketan, 20 eta 190 °C bitartean, uraren lurruntzearekin eta *helix-coil* trantsizioarekin erlazionatzen den piko endotermiko zabal bat ikusten da. Nanozelulosa gehitzeak, *helix-coil* trantsizioaren entalpiarengan nabarmenki eragiten ez badu ere, bigarren ekorketan kalkulaturako T_g -a balioak tenperatura altuagotara desplazatzen ditu. TGA termogrametan nanozelulosaren gehitzeak bionanokonpositeen egonkortasun termikoa handitzen dela ikusi da.

DMA analisisian, 0-50 °C tartean, $\tan \delta$ pikoak bi sorbalda erakusten ditu. Lehenengoa, izotzaren fusioarekin erlazionatzen da. 15-20 °C bitartean agertzen den pikoa, gelatinaren beira trantsizioari dagokio eta 40 °C-tako sorbalda, gelatinaren *helix-coil* trantsizioari atxikitzen zaio. 215 °C inguruan, laginen fusioa antzemateaz gain degradazio prozesua ere ematen da.

6.2 Etorkizunerako lan-ildoak

Sisal zuntzetik isolaturiko tamaina banaketa estuko nanozelulosak erabiliaz gelatina matrizean oinarrituriko bionanokonpositeen prestaketa. Honela, 5. Kapituluaren prestaturiko bionanokonpositeekin alderatuko dira.

Gelatina eta nanozelulosan oinarrituriko bionanokonpositeen adhesioa, deformakortasuna eta urarekiko sentikortasuna hobetzeko estrategia ezberdinak proposatzen dira, hots, nanozelulosaren gainazal eraldaketa eta matrizearen eraldaketa masa molekular txikiko plastifikatzaileak gehituz edo nahaste polimerikoak prestatuz.

Isolaturiko nanozelulosa eta beste biopolimero hidrofílicoetan oinarrituriko bionanokonpositeen prestaketa, hots, mikrobio eta onddo aurkako eta biobateragarria den kitosanoarekin.

Isolaturiko nanozelulosen gainazal eraldaketa biopolimero hidrofóbikoetan oinarrituriko bionanokonpositeak prestatzeko.

Industria mailan ohikoak diren prozesatze tekniken bitartez, extrusioa, injekzioa,..., bionanokonpositeen prestaketa.

6.3 Argitalpen eta kongresuen zerrenda

Lan honetan zehar lorturiko emaitzak ondorengo aldizkari, liburu eta kongresu zientifikoetan aurkeztuak dira.

Argitalpenen zerrenda

Egileak	Mondragon G, Peña-Rodríguez C, Eceiza A, Arbelaiz A.
Izenburua	Optimization of chemical reaction conditions for nanocellulose isolation
Aldizkaria	Carbohydrate Polymers
Urtea	2015 (<i>Berrikuspenean</i>)
Impaktu-faktorea	4,221
Posizioa	13/183 (Materials Science, Polymer and Plastics)
Egileak	Mondragon G, Peña-Rodríguez C, Gonzalez A, Eceiza A, Arbelaiz A.
Izenburua	Bionanocomposites based on gelatin matrix and nanocellulose
Aldizkaria	European Polymer Journal 62, 1-9
Urtea	2015
Impaktu-faktorea	3,385
Posizioa	20/183 (Materials Science, Polymer and Plastics)
Egileak	Mondragon G, Fernandes S, Retegi A, Peña C, Algar I, Eceiza A, Arbelaiz A.
Izenburua	A common strategy to extracting cellulose nanoentities from different plants
Aldizkaria	Industrial Crops and Products 55, 140-148
Urtea	2014
Impaktu-faktorea	3,47
Posizioa	42/311 (Agricultural and Biological Science, Agronomy and Crop Science)

Egileak Peña C, Mondragon G, Algar I, Mondragon I, Martucci J, Ruseckaite R.
Izenburua Gelatin films: renewable resource for food packaging
Liburua Gelatin: production, applications, and health implications
Kapitulu zenbakia 4. Kapituluua ,71-86
Argitaletxea Gökhan Boran
Urtea 2013

Egileak Vargas G, Trifol J, Algar I, Arbelaiz A, Mondragon G, Fernandes SCM, Mujika F, Eceiza A.
Izenburua Nanostructured composite materials reinforced with nature-based cellulose nanofibres
Liburua Design and Nature VI
Kapitulu zenbakia doi:10.2495/DN120211, 237-247
Argitaletxea WITPress
Urtea 2012

Kongresuen zerrenda

Egileak Mondragon G, Peña C, Arbelaiz A, Eceiza A.
Izenburua Optimization of chemical reaction conditions for the isolation of nanocellulose
Kongresua COMAT2015 - 6th International Conference on Science and Technology of Composite Materials
Parte-hartzea Posterra
Urtea 2015
Lekua Buenos Aires, Argentina

Egileak Mondragon G, Peña C, González A, Santamaría-Echart A, Arbelaiz A, Eceiza A.
Izenburua Properties of bionanocomposites based on gelatin and nanocellulose

Kongresua	COMAT2015 - 6th International Conference on Science and Technology of Composite Materials
Parte-hartzea	Posterra
Urtea	2015
Lekua	Buenos Aires, Argentina
Egileak	Mondragon G, Fernandes S, Retegi A, Peña C, Algar I, Eceiza A, Arbelaiz A.
Izenburua	Cellulose nanoentities obtained from flax fibres
Kongresua	5th Workshop Green Chemistry and Nanotechnologies. ECLIPSE Workshop. BIOPURFIL Workshop
Parte-hartzea	Posterra
Urtea	2015
Lekua	Donostia-San Sebastián, Espainia
Egileak	Mondragon G, Peña-Rodríguez C, Eceiza A, Arbelaiz A.
Izenburua	Kalamu zuntzetik lortutako zeulosazko nanoentitateak
Kongresua	Materialen Zientzia eta Teknologia II kongresua
Parte-hartzea	Posterra
Urtea	2014
Lekua	Donostia-San Sebastián, Espainia
Egileak	Mondragon G, Peña-Rodríguez C, Eceiza A, Campo S, Arbelaiz A.
Izenburua	Gelatin-based nanobiocomposites combined with cellulose nanoentities
Kongresua	BIOPOL 2013 - 4th International Conference on Biodegradable and Biobased Polymers
Parte-hartzea	Posterra
Urtea	2013
Lekua	Erroma, Italia

Egileak	Mondragon G, Fernandes SCM, Algar I, Retegi A, Peña-Rodriguez C, Eceiza A, Arbelaiz A.
Izenburua	Aislamiento de nanoentidades de celulosa a partir de fibras de sisal
Kongresua	MATCOMP'13 - X Congreso Nacional de Materiales Compuestos
Parte-hartzea	Ahozko komunikazioa
Urtea	2013
Lekua	Algeciras, Espainia
Egileak	Vargas G, Trifol J, Algar I, Fernandes SCM, Mondragon G, Arbelaiz A, Mujika F, Mondragon I.
Izenburua	Nanostructured composite materials reinforced with nature-based cellulose nanofibres
Kongresua	Design and Nature VI, Comparing design in nature with Science and Engineering
Parte-hartzea	Ahozko komunikazioa
Urtea	2012
Lekua	Coruña, Espainia
Egileak	Fernandes SCM, Mondragon G, Algar I, Gutierrez J, Trifol J, Urresti O, Vargas G, Arbelaiz A, Retegi A, Gabilondo N, Tercjak A, Peña C, Gañán P, Castro C, Zuluaga R, Mondragon I.
Izenburua	Biomass-based polymer composites reinforced with bacterial and nature-based cellulose nanofillers
Kongresua	BIPoCo
Parte-hartzea	Ahozko komunikazioa
Urtea	2012
Lekua	Siófok, Hungria

Egileak	Fernandes SCM, Mondragon G, Algar I, Trifol J, Arbelaiz A, Retegi A, Peña C, Mondragon I.
Izenburua	Cellulose-based materials adventures at nm-scale
Kongresua	Workshop on Biopolymers and Bioplastics from Renewable Materials
Parte-hartzea	Ahozko komunikazioa
Urtea	2011
Lekua	Alessandria, Italia
Egileak	Mondragon G, Fernandes SCM, Algar I, Retegi A, Peña C, Mondragon I.
Izenburua	A common strategy to extracting cellulose nano-fillers from different plants
Kongresua	4 th ECNP Young Research Conferences, ECNP Training Workshop on interfaces in nanomaterials and Industrial meeting
Parte-hartzea	Ahozko komunikazioa
Urtea	2011
Lekua	Lyon, Frantzia
Egileak	Mondragon G, Arbelaiz A, Retegi A, Algar I, Peña C, Fernandes SCM, Mondragon I.
Izenburua	Extracción de nano-refuerzos de celulosa a partir de biomasa
Kongresua	MATCOMP'11 - IX Congreso Nacional de Materiales Compuestos
Parte-hartzea	Ahozko komunikazioa
Urtea	2011
Lekua	Girona, Espainia
Egileak	Mondragon I, Mondragon G, Arbelaiz A, Retegi A, Algar I, Peña C, Fernandes SCM, Aucejo S.
Izenburua	Nanocomposites basados en matrices renovables y nanocelulosas

Kongresua	MATCOMP'11 - IX Congreso Nacional de Materiales Compuestos
Parte-hartzea	Ahozko komunikazioa
Urtea	2011
Lekua	Girona, Espainia

ERANSKINAK

TAPPI arauak

Atal honetan zuntz lignozelulosikoen konposizioaren analisisian erabili diren TAPPI arau ezberdinak zehatz mehoz deskribatzen dira.

Laginen prestakuntza (TAPPI T257 cm-85)

Zuntzen konposizio kimikoaren analisiak burutu aurretik, tamaina egokitu behar da. Ondorengo analisi kimikoetarako, zuntzen tamaina 0,25 eta 0,4 mm tartekoa izan behar da. Tamaina txikitzeko Retsch 2000 errota bat erabili da 0,4 mm-tako poroa duen bahe bat erabiliz, ondorengo analisisetan erabiltzeko material xehatua lortu delarik.

Hezetasunaren edukia (TAPPI T264 cm-97)

Zuntzen hezetasun edukia determinatzeko, taratutako prezipitatu ontzi batetan xehatutako laginaren $2 \pm 0,001$ g balantza analitiko batetan pisatzen dira. 105 ± 3 °C-tan dagoen labe batetan 2 orduz lehortzen dira eta lehorgailu batetan hoztu ostean, pisatzen dira. Berrir, 105 ± 3 °C-tan dagoen labean sartzen dira eta lehorgailuan hoztu ostean pisatzen da, etapa hau masa konstantea lortu bitartean behin da berriz errepikatzen delarik.

Laginaren hezetasuna ondorengo ekuazioaz kalkulatzen da:

$$\text{Hezetasuna (\%)} = \left[\frac{(A-B)}{A} \right] \times 100$$

non A eta B, hasierako eta lehortu osteko laginen masak (g) diren, hurrenez hurren.

Errautsen edukia (TAPPI T211 om-02)

Zuntzen errautsen edukia, mineral ez-organikoekin (Na, K, Mn, Fe, Si, ...) lotuta dago. Arauak dioenez, laginaren erreketeta saihestu behar da, beraz errauts partikula beltzak eratzea ekidin behar da. Errautsen edukia determinatzeko arrago batetan laginaren $1 \pm 0,01$ g balantza analitiko batetan pisatzen dira. Arragoa eta lagina 300 °C-tan dagoen labe batetan sartzen dira eta tenperatura poliki-poliki 525 °C-taraino igotzen da, tenperatura horretan 3 orduz mantentzen delarik. Arragoa labetik ateratzen da eta lehorgailu batean hozten uzten da, ondoren masa neurtzen delarik.

Laginaren errautsen edukia ondorengo ekuazioaz kalkulatu da:

$$\text{Errautsak (\%)} = \frac{A \times 100}{B}$$

non A eta B, errauts laginen eta hezetasunik gabeko hasierako laginaren masak (g) diren, hurrenez hurren.

Disolbagarritasuna ur berotan (TAPPI T207 cm-99)

Zuntzak ur beroarekin tratatu ostean, osagai ez-organikoen gehiengoa disolbatzeaz gain, gomak, taninoak, almidoiak, koloratzaileak eta holozelulosaren degradazio partzialetik eratorritako azukreak ere, disolbatzen dira. Ur berotan disolbagarriak diren osagaien edukia determinatzeko, laginaren $2 \pm 0,1$ g 250 mL-ko ondo borobileko matrize batetan jartzen dira eta 100 mL ur destilatua gehitzen dira. Nahastea 3 orduz errefluxupean irakin ostean, hutsunepean plaka iragazki (2 zenbakikoa) batekin iragazten da eta 200 mL ur destilatu beroarekin ($60\text{ }^{\circ}\text{C}$) garbitzen da. Iragazitako zuntza $105 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ -tan dagoen labean 24 orduz lehortzen da, eta lehorgailuan hoztu ondoren, masa neurtzen da. Ur beroan disolbagarriak diren frakzioa ondorengo ekuazioaz kalkulatu da:

$$\text{Ur beroan disolbagarriak (\%)} = \left[\frac{(A-B)}{A} \right] \times 100$$

non A eta B, lagin lehorraren hasierako masa eta ur beroarekin osagaiak erauzi osteko laginaren masa (g) diren, hurrenez hurren.

Disolbagarritasuna %1 NaOH-tan (TAPPI T212 om-02)

Zuntzak sosa beroarekin tratatu ostean, zelulosan eta hemizelulosan dauden masa molekular baxuko karbohidratoak erauzten dira. Sosa kaustiko disoluzio bero batekin disolbagarriak diren osagaien edukia determinatzeko, Erlenmeyer matrize batean laginaren $2 \pm 0,1$ g masan %1 NaOH disoluzio baten 100 mL-rekin nahasten dira, eta erloju beira batekin tapatu ondoren, $97\text{--}100\text{ }^{\circ}\text{C}$ -tan dagoen olio-bainu batetan ordu batez nahastea tarteka irabiatzen da. Ondoren, nahastea hutsunepean plaka iragazki (1 zenbakikoa) batekin iragazten da eta 100 mL ur destilatu beroarekin garbitzen da. Hutsune bonba deskonektatu ondoren, nahasteari bolumenean %10 azido azetiko disoluzio baten 25 mL gehitzen zaizkio eta minutu batez beratu ondoren, azido azetiko garbiketa etapa hau, beste behin errepikatzen da. Azkenik, hutsunepean ur destilatu

beroarekin nahastea garbitzen da. Iragazitako zuntza 105 ± 3 °C-tan dagoen labean 24 orduz lehortzen da, eta lehorgailuan hoztu ondoren, masa neurtzen da.

Laginaren sosa disolbagarria den frakzioa ondorengo ekuazioaz kalkulatu da:

$$S (\%) = \left[\frac{(A-B)}{A} \right] \times 100$$

non A eta B, lagin lehorraren hasierako masa eta sosa beroarekin osagaiak erauzi osteko laginaren masa (g) diren, hurrenez hurren.

Erauzi disolbagarriak (TAPPI T204 cm-97)

Erauziak, disolbatzaile organiko neutroetan disolbagarriak diren osagaiak dira. Nahiz eta etanol-bentzeno disoluzioarekin osagai hauen erauzketa etekin handiena lortu, lan honetan bentzenoaren izaera arriskutsuagoa dela eta, toluenoa erabili da.

Zuntzaren frakzio disolbagarriak, argizariak, gantzak, erretxinak eta uretan disolbagarriak diren osagaiak (masa molekular baxuko karbohidratoak eta gantzak) osatzen dute.

Erauzien frakzioa determinatzeko, matraxe, soxhlet eta Dimroth hozkailuak osatzen duten erauzketa muntaia erabili da. Erauzien edukia determinatzeko, zelulosazko kartutxo lehor batean laginaren $4,0 \pm 0,1$ g pisatzen dira eta kartutxoa goitik itxi ondoren, soxhlet gorputzean jartzen da. Matrazea etanola-tolueno nahastearen (bolumenean 1:2 erlazioan) 150 mL-rekin betetzen da. Sistema errefluxupean 6 orduz mantentzen da, denbora horretan gutxienez 24 erauzketa eman behar direlarik. Kartutxoa, zuntzarekin, 105 ± 3 °C-tan dagoen labean 24 orduz lehortzen da eta lehorgailuan hoztu ondoren pisatzen da. Entseguaren lagin txuri bezala erauzketa prozesuan erabili diren disolbatzaile organikoen nahastea erabili da. Matrazea disolbatzaile nahastearen 150 mL-rekin betetzen da eta hauek lurrundu ostean, hondakina pisatzen da.

Erauzitako osagaien frakzioa ondorengo ekuazioaz kalkulatu da:

$$\text{Erauziak (\%)} = \left[\frac{(W_e - W_b)}{W_p} \right] \times 100$$

non W_e , W_b eta W_p , erauzitako lagin lehorraren, lagin txuri lehorraren eta hezetasunik gabeko hasierako laginaren masak (g) diren, hurrenez hurren.

Azidotan disolbaezina den lignina (TAPPI T222 om-02)

Azido sulfurikoak zuntzaren holozelulosa eta lignina frakzio bat disolbatzen du. Prozedura honekin, azido sulfurikoan disolbagarria ez den lignina-frakzioa kalkulatu da, Klason lignina izenarekin ezagutzen dena.

Klason lignina edukia determinatzeko, erauziak kendu osteko lagin lehorraren $1,0 \pm 0,1$ g, 20 ± 1 °C-tan dagoen 1 L-ko matrize ondo borobil batetan sartzen dira. Zuntzak dispersatzeko masan %72 azido sulfuriko disoluzio baten 15 mL poliki-poliki gehitzen dira eta 2 ordu mantendu ondoren, ur destilatuaren 575 mL gehitzen dira eta errefluxupean beste 4 orduz mantentzen da. Ondoren, nahastea hutsunepean plaka iragazki (3 zenbakikoa) batekin iragazten da eta ur destilatu beroarekin pH neutroa lortu arte garbitzen da. Azidoan disolbagarria ez den lignina 24 orduz 105 ± 3 °C-tan dagoen labean lehortzen da. Lehorgailuan hoztu ondoren, masa neurtzen da.

Azidoan disolbagarria ez den ligninaren (Klason lignina) frakzioa ondorengo ekuazioaz kalkulatu da:

$$\text{Klason lignina (\%)} = \left[\frac{A}{W} \right] \times 100$$

non A eta W, azidoan disolbagarria ez den lignina laginaren eta erauziak kendu osteko lagin lehorraren masak (g) diren, hurrenez-hurren.

Holozelulosa edukia (Wise et al., 1946)

Holozelulosa, landareetan dauden uretan disolbaezinak diren karbohidratoen frakzioari atxikitzen zaio. Beraz, zuntzetan dauden hemizelulosa eta zelulosa frakzioen batura bezala defini daiteke. Wise-ren metodoan, klorito sodikoarekin eginiko hainbat tratamendu ostean askatzen den kloro dioxidoak lignina disolbatzen du, karbohidratoengan eragiten ez duelarik.

Holozelulosa edukia determinatzeko, Erlenmeyer matrize batetan erauziak kendu osteko lagin lehorraren $2,5 \pm 0,1$ g pisatzen dira eta 80 mL ur destilatu beroa (70-80 °C) gehitzen dira. Nahastea, 70 °C-tan dagoen bainu termostatizatu batean sartzen da eta orduoro, 0,5 mL azido azetiko eta 2,6 mL masan %25 sodio klorito gehitzen zaio 6-8

ordutan, nahastea tarteka irabiatuz. Nahastea tapatzen da eta beste 12 orduz bainuan uzten da. Ondoren, hondakin solidoa (holozelulosa) hutsunepean plaka iragazki (2 zenbakikoa) batekin iragazten da eta ur destilatu beroarekin pH neutroa lortu arte garbitzen da. Hondakina (holozelulosa) 105 ± 3 °C-tan dagoen labean 24 orduz lehortzen da, eta lehorgailuan hoztu ondoren, pisatzen da.

Holozelulosaren edukia ondorengo ekuazioaz kalkulatu da:

$$\text{Holozelulosa (\%)} = \left[\frac{A}{W} \right] \times 100$$

non A eta W, iragazi osteko holozelulosa solido frakzioaren eta erauziak kendu osteko lagin lehorraren masak (g) diren. Hurrenez hurren.

α -zelulosa eta hemizelulosen edukiak (Rowell et al., 1983)

Prozedura honetan, sosa kaustiko eta azido azetiko tratamenduaren ostean disolbatzen diren landarearen pareta zelularreko osagaiak, hemizelulosa bezala definitzen dira. Tratamenduaren ostean disolbaezina den frakzioa, α -zelulosa-ri dagokio.

α -Zelulosa edukia determinatzeko, 100 mL-ko prezipitatu ontzi batetan 2 g holozelulosa lehorra pisatzen dira eta masan %17,5 NaOH disoluzio baten 10 mL-rekin nahasten da eta dispertsio homogeneo bat lortu arte irabiatzen dira. 5 minutu oro 5 mL masan %17,5 NaOH disoluzioa gehitzen dira, 25 mL-ko bolumena osatu arte. Nahastea 20 °C-tan 30 minutuz adiziorik gabe uzten da. Ondoren, 33 mL ur destilatua (20 °C) gehitzen dira, dispertsio guztia ordu batez ondo irabiatuz. Nahastea hutsunepean plaka iragazki (1 zenbakikoa) batekin iragazten da. Iragazitako hondakin solidoa, lehenik, 100 mL masan %8,3 NaOH disoluzio batekin eta ondoren, bi aldiz ur destilatuarekin garbitzen da. Hutsunepean iragazi aurretik, laginari masan %10 azido azetiko disoluzio baten 15 mL gehitzen dira eta 3 minutuz erreazionatzen uzten da. Azkenik, ur destilatuaz garbitzen da pH neutroa izan arte. Hondakina (α -zelulosa), 105 ± 3 °C-tan dagoen labean 24 orduz lehortzen da, eta lehorgailuan hoztu ondoren pisatzen da.

α -zelulosaren edukia ondorengo ekuazioaz kalkulatu da:

$$\alpha\text{-zelulosa (\%)} = \left[\frac{A}{W} \right] \times 100$$

non A eta W, iragazitako α -zelulosa frakzioaren eta erauziak kendu osteko holozelulosa lagin lehorraren masak (g) diren, hurrenez hurren.

Hemizelulosen edukia ondorengo moduan kalkulatu da:

$$\text{Hemizelulosa (\%)} = \text{Holozelulosa (\%)} - \alpha\text{-zelulosa (\%)}$$

IRUDIEN ZERRENDA**1. KAPITULUA. Berrikuspen bibliografikoa**

1.1. Irudia. α -aminoazido baten egitura generikoa (era ez ionizatua).	5
1.2. Irudia. Hogeita funtsezko aminoazidoen egiturak.	6
1.3. Irudia. Dipeptido baten eraketa bi aminoazidoen arteko lotura peptidikoaren bidez.	7
1.4. Irudia. Proteinen egitura-antolaketa mailak: (a) egitura primarioa, (b) egitura sekundarioa, (d) egitura tertziarioa eta (e) egitura kuarternarioa.	7
1.5. Irudia. Gelatinaren helix-coil eta coil-helix trantsizioen adierazpen eskematikoa.	8
1.6. Irudia. Zuntz lignozelulosikoen iturri desberdinak.	10
1.7. Irudia. Landare zelula estrukturaren irudi eskematikoa.	10
1.8. Irudia. Landare zuntz unitarioen edo zelula baten estrukturaren irudi eskematikoa.	11
1.9. Irudia. Zelulosaren formula kimikoa.	12
1.10. Irudia. (a) Zelulosa zuntz erdikristalinoaren estruktura hierarkikoa erakusten duen irudi eskematikoa eta (b) hidrolisi azidoaz isolaturiko zelulosazko nanokristalen irudi eskematikoa.	13
1.11. Irudia. Hemizelulosaren azukre nagusiak: a) β -D-xilopiranososa, b) α -L-arabinofuranosa, d) β -D glukopiranososa, α -L-fukopiranososa, e) β -D-galaktopiranososa, f) β -D-manopiranososa, g) α -L-ramnopiranososa, h) azido β -D-galakturnikoa eta i) azido β -D-glukuronikoa.	14
1.12. Irudia. Ligninaren hiru osagai nagusiak.	15
1.13. Irudia. Ligninaren estruktura kimikoaren modeloa.	15
1.14. Irudia. Nanozelulosan oinarrituriko bionanokonpositeen sailkapena.	16

1.15. Irudia. *Solvent-casting* metodoaz nanozelulosan oinarrituriko bionanokonpositeen prestaketaren eskema. 18

3. KAPITULUA. Landare zuntzetatik zelulosa nanoentitateen isolamendua

3.1. Irudia. Zuntz lignozelulosikoetatik zelulosa nanoentitateen isolamendurako erreakzio bakoitzaren ostean lortzen diren laginen argazkiak. 42

3.2. Irudia. Sisal, kalamu eta linu zuntzen FTIR espektroak. 43

3.3. Irudia. Jatorrizko zuntza eta erreakzio kimiko segida etapa bakoitza osteko laginen FTIR espektroak: (a) sisala, (b) kalamua eta (d) linua. 45

3.4. Irudia. Jatorrizko zuntza eta azetilazio eta hidrolisi azido osteko laginen X izpien difraktogramak: (a) sisala, (b) kalamua eta (d) linua. 47

3.5. Irudia. Jatorrizko sisal zuntza eta erreakzio-kimiko segida osteko laginen TG eta DTG termogramak. 49

3.6. Irudia. Jatorrizko kalamu zuntza eta erreakzio-kimiko segida osteko laginen TG eta DTG termogramak. 50

3.7. Irudia. Jatorrizko linu zuntza eta erreakzio-kimiko segida osteko laginen TG eta DTG termogramak. 51

3.8. Irudia. Jatorrizko sisal zuntzaren eta tratamendu kimiko ezberdinen osteko laginen irudiak. Azetilatu diren zuntzen eskala barra 200 μm -koa da. 54

3.9. Irudia. Jatorrizko sisal zuntzen eta alkali trataturiko zuntzen SEM mikrografiak (x1000). 55

3.10. Irudia. Azetilazio eta hidrolisi azido osteko sisal zuntzen AFM altuera irudiak. 55

3.11. Irudia. Kalamu zuntzen mikroskopia optikoko irudia eta azetilazio eta hidrolisi azido osteko kalamu zuntzen AFM altuera irudiak. 56

3.12. Irudia. Linu zuntzen mikroskopia optikoko irudia eta azetilazio eta hidrolisi azido osteko linu zuntzen AFM altuera irudiak. 57

4. KAPITULUA. Nanozelulosa isolatzeko erabilitako erreakzio kimiko segidaren optimizazioa

- 4.1. Irudia.** Jatorrizko sisal zuntza, prealkalizatutakoa eta denbora ezberdinetan alkalizaturiko zuntzen FTIR espektoak. 67
- 4.2. Irudia.** Jatorrizko sisal zuntza eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko laginen X izpien difraktogramak. 68
- 4.3. Irudia.** Jatorrizko sisal zuntzaren eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko zuntzen TGA eta DTG termogramak. 69
- 4.4. Irudia.** Jatorrizko sisal zuntza, prealkalizatutakoa eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko sisal zuntzen mikroskopio optikoko irudiak. 71
- 4.5. Irudia.** A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen FTIR espektoak. 72
- 4.6. Irudia.** A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen X izpien difraktogramak. 73
- 4.7. Irudia.** A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen TGA eta DTG termogramak. 74
- 4.8. Irudia.** Denbora ezberdinetan azetilaturiko zuntzen irudiak: mikroskopio optikoa (ezkerra) eta AFM-ko altuerako irudiak (eskuina). 76
- 4.9. Irudia.** Az30 eta hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko laginen FTIR espektoak. 77
- 4.10. Irudia.** Az30 eta hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko laginen X izpien difraktogramak. 77
- 4.11. Irudia.** Az30 eta hidrolisi azido ostean pH=5,5-raino dializatutako ZNK-en TGA eta DTG termogramak. 79
- 4.12. Irudia.** pH ezberdinetaraino dializatu diren H64-30 zelulosa nanokristalen suspentsioen TGA eta DTG termogramak. 81
- 4.13. Irudia.** Hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko zelulosa 83

nanokristalen AFM altuera irudiak eta beraien altuera profilak.

5. KAPITULUA. Gelatina matrizean eta nanozelulosan oinarrituriko bionanokonpositeak

- 5.1. Irudia.** Bionanokonpositeen prestaketan jarraituriko prozeduraren irudi eskematikoa. 92
- 5.2. Irudia.** Zelulosa nanozuntz komertzialak (a) eta denbora ezberdinetan hidrolizaturiko nanokristalak: 1h (b), 2h (d) eta 3h (e), mikroskopio optikoko (ezkerra) eta AFM fase irudiak (eskuina). 93
- 5.3. Irudia.** Nanozelulosen, gelatina matrizearen eta G10ZNN eta G10ZNK bionanokonpositeen FTIR espektroak. 95
- 5.4. Irudia.** Gelatinaren eta bionanokonpositeen trakzio propietateak zelulosa nanoentitateen edukieraren funtzio: (a) modulua, (b) trakzio-erresistentzia eta (d) deformazioa. 97
- 5.5. Irudia.** Trakzio saiaketa osteko gelatina matrizearen eta G10ZNN eta G10ZNK bionanokonpositeen haustura gainazalen SEM mikrografiak (x1000 (ezkerra) eta x25000 (eskuina)). 98
- 5.6. Irudia.** Gelatina, G10ZNN eta G10ZNK bionanokonpositeen TGA eta DTG termogramak. 101
- 5.7. Irudia.** Gelatina eta %5 eta 10 nanozelulosa edukia duten bionanokonpositeen DSC termogramak: (a) lehenengo ekorketa eta (b) bigarren ekorketa. 102
- 5.8. Irudia.** Gelatina eta %5 eta 10 nanozelulosa edukia duten bionanokonpositeen pilaketa modulua eta galera faktorea: (a) ZNN oinarritutakoak eta (b) ZNK oinarritutakoak. 105

TAULEN ZERRENDA
3. KAPITULUA. Landare zuntzetatik zelulosa nanoentitateen isolamendua

- 3.1. Taula.** Sisal, kalamu eta linu zuntzen konposizio kimikoa. 44
- 3.2. Taula.** Jatorrizko sisal, kalamu eta linu zuntzen eta azetilazio eta hidrolisi azido osteko laginen kristaltasun mailak. 48
- 3.3. Taula.** Tratatu gabeko eta trataturiko laginen TG kurbetatik lortutako balio esperimentalak. 52

4. KAPITULUA. Nanozelulosa isolatzeko erabilitako erreakzio kimiko segidaren optimizazioa

- 4.1. Taula.** Tratamendu kimiko ezberdinen baldintzak eta laginen izendapena. 66
- 4.2. Taula.** Jatorrizko sisal zuntzaren eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko zuntzen kristaltasun maila. 68
- 4.3. Taula.** Jatorrizko sisal zuntzaren eta denbora ezberdinetan alkali trataturiko zuntzen TGA eta DTG termogrametatik lortutako datu termikoak. 70
- 4.4. Taula.** A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen kristaltasun maila. 73
- 4.5. Taula.** A90 eta denbora ezberdinetan azetilaturiko laginen TGA eta DTG termogrametatik lortutako datu termikoak. 75
- 4.6. Taula.** Az30 eta hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko laginen kristaltasun mailak. 78
- 4.7. Taula.** Hidrolisi azido baldintza esperimental ezberdinetan lorturiko ZNK-en datu termikoak. 80
- 4.8. Taula.** Hidrolisi azido baldintza ezberdinen osteko zelulosa nanokristalen luzera, diametro eta itxura erlazio balioak. 84

5. KAPITULUA. gelatina matrizean eta nanozelulosan oinarrituriko bionanokonpositeak

5.1. Taula. Hidrolisi azido denbora ezberdinekin isolatu diren ZNK-en 95
luzera, diametroa eta itxura erlazioa.

5.2. Taula. Gelatina puruaren eta bionanokonposite filmetan zehar WVTR eta 99
OTR balioak.

5.3. Taula. DSC termogrametatik lorturiko gelatina eta bionanokonpositeen 103
balio termikoak.

LABURDUREN ZERRENDA

TAPPI	Technical Association of Pulp and Paper Industry
S	Sisal zuntza
L	Linu zuntza
K	Kalamu zuntza
ZNZ	Zelulosa nanozuntza
ZNK	Zelulosa nanokristala
G	Gelatina
FTIR	Fourier transformatuaren espektroskopia infragorria
XRD	X izpien difrakzioa
CI	Kristaltasun maila
DSC	Ekorketa diferentzialeko kalorimetria
DMA	Analisi dinamiko-mekanikoa
OM	Mikroskopia optikoa
SEM	Ekorketa elektronikoko mikroskopia
AFM	Indar atomikozko mikroskopia
ASTM	American Society for Testing and Materials
WVTR	Ur-lurrunaren transmisio abiadura
OTR	Oxigenoaren transmisio abiadura
E	Erauzgarrien eliminatzea osteko lagina
PA	Prealkalizaturiko lagina
A	Alkali trataturiko lagina
Az	Azetilaturiko lagina
H	Hidrolisi azidoaz trataturiko lagina
L	ZNK-en batazbesteko luzera
D	ZNK-en batazbesteko diametroa
L/D	Itxura erlazioa
TGA	Analisi termograbitrikoa
DTG	Analisi termikoaren diferentziala
UNE	Una Norma Española
DS	Ordezkapen-maila

IKURREN ZERRENDA

T_{onset}	Degradazio haste temperatura
T_{max}	Degradazio maximoaren temperatura
E'	Pilaketa modulua
$\tan \delta$	Galera faktorea
E_t	Young-en modulua
σ_t	Trakzio erresistentzia
$\epsilon_{\text{haustura}}$	Hausturako deformazioa
T_g	Beira transizio temperatura
$\Delta H_{\text{Helix-Coil}}$	<i>Helix-coil</i> trantsizioaren entalpia aldaketa
ΔH_m	Fusio entalpia aldaketa

