



**T.C.  
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİKRO/NANO SELÜLOZ ÜRETİMİNDE ENZİMATİK ÖN  
MUAMELENİN ETKİSİ**

**RECAİ ARSLAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. AYHAN TOZLUOĞLU**

**DÜZCE, 2017**

**T.C.**  
**DÜZCE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİKRO/NANO SELÜLOZ ÜRETİMİNDE ENZİMATİK ÖN**  
**MUAMELENİN ETKİSİ**

Recai ARSLAN tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Endüstri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

Yrd. Doç. Dr. Ayhan TOZLUOĞLU

Düzce Üniversitesi

**Jüri Üyeleri**

Yrd. Doç. Dr. Ayhan TOZLUOĞLU

Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Ümit BÜYÜKSARI

Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Zeki CANDAN

İstanbul Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi:20/01/2017

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

20 Ocak 2017

Recai Arslan



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Ayhan Tozluoğlu'na en içten dileklerle teşekkür ederim.

Yine çalışmalarım süresince benden ilgi ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocalarım Doç. Dr. Zeki Candan, Doç. Dr. Ümit Büyüksarı ve Uzman Bayram Poyraz'a teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve Meltem Gündüz'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez yazımında yardım ve desteklerinden dolayı Zaim Çađlayan'a ve çalışma arkadaşlarıma, teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBİTAK) tarafından 114O022 nolu proje ile desteklenmiştir.

**20 Ocak 2017**

**Recai Arslan**

# İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİL LİSTESİ .....	I
ÇİZELGE LİSTESİ .....	III
KISALTMALAR .....	IV
SİMGELER.....	V
ÖZET .....	VII
ABSTRACT.....	VIII
EXTENDED ABSTRACT .....	1
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>15</b>
1.1. NANOTEKNOLOJİ.....	15
1.2. SELÜLOZ KAYNAKLI NANOLİF ÜRETİMİ.....	17
1.2.1. Hücre Çeperi Bileşenleri .....	17
1.2.1.1. Hemiselüloz.....	18
1.2.1.2. Lignin.....	18
1.2.1.3. Selüloz.....	18
1.3. NANOSELÜLOZ.....	19
1.3.1. MFC Üretimi .....	21
1.3.2. Hücre Çeperinin Delaminasyonu .....	22
1.3.3. Nanoselülozun Boyutları ve Kristallinitesi.....	24
1.3.4. Nanoselülozun Yapısal Karakterizasyonu .....	26
1.3.4.1. Viskozite (Reolojik) Özellikleri .....	26
1.3.4.2. Polimerizasyon Derecesi ve Mekanik Özellikleri .....	26
1.3.4.3. Koruyucu Özellikleri.....	27
1.3.4.4. Nanoselülozun Kuru Formdaki Özellikleri.....	27
1.3.4.5. İyonik Özellikleri.....	28
1.3.5. MFC'nin Kullanım Alanları .....	29
1.3.5.1. Kağıt Üretimi .....	29
1.3.5.2. Kompozit Üretimi.....	30
1.3.5.3. Yiyecek .....	31
1.3.5.4. Hijyen ve Emici Ürünler .....	31

1.3.5.5. Tıp, Kozmetik ve Ecza Sanayi .....	31
1.3.5.6. Köpük Üretimi.....	32
1.3.5.7. Diğer Uygulama Alanları .....	32
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>34</b>
2.1. HAMMADDE TEMİNİ .....	34
2.2. LİF ÜRETİMİ VE AĞARTMA .....	34
2.3 MFC VE NFC ÜRETİMİ .....	35
2.3.1. Mekanik Liflendirme.....	35
2.3.2. Enzimatik Muamele.....	36
2.3.3. Mekanik Liflendirme.....	36
2.3.4. Homojenleştirme (Fluidizing-Jelleştirme).....	36
2.4. UYGULANAN ANALİTİK ÖLÇÜMLER.....	37
2.4.1. HPLC (Yüksek performanslı Sıvı Kromatografisi).....	37
2.4.2. Reometre.....	38
2.4.3. SEM (Taramalı Elektron Mikroskopi).....	38
2.4.4. FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) .....	39
2.4.5. NMR (Nuclear Magnetic Spectroscopy) .....	39
2.4.6. DTG (Diferensial Termogravimetri) ve DSC (Diferensial Scanning Calorimetry) .....	39
<b>3. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>40</b>
3.1. VERİM, KAPPA VE VİSKOZİTE ANALİZLERİ .....	40
3.2. KİMYASAL ÖZELLİKLER.....	41
3.2.1. HPLC Analizleri .....	41
3.2.2. FTIR Analizleri .....	44
3.2.2.1. Ön Muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin FTIR Analizleri .....	45
3.2.2.2. Enzimatik Muameleler Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin FTIR Analizleri .....	46
3.2.2.3. Ağartılmış Kraft Hamur Lifi, MFC ve NFC Ürünlerinin FTIR Analizleri .....	48
3.2.3. <sup>13</sup> C-NMR Analizleri .....	49
3.2.3.1 Ön Muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin <sup>13</sup> C CP/MAS NMR	

<i>Analizleri</i> .....	49
3.2.3.2. <i>Enzimatik Muameleler Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin <sup>13</sup>C CP/MAS NMR Analizleri</i> .....	51
3.2.3.3. <i>Ağartılmış Kraft Hamur Lifi, MFC ve NFC Ürünlerinin <sup>13</sup>C CP/MAS NMR Analizleri</i> .....	51
<b>3.3. REOLOJİK ÖZELLİKLER</b> .....	<b>52</b>
3.3.1 <b>Ön Muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin Reolojisi</b> .....	<b>52</b>
3.3.2. <b>Enzimatik Muameleler Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin Reolojisi</b> ....	<b>54</b>
3.3.3. <b>Ağartılmış Kraft Hamur Lifi, MFC ve NFC Ürünlerinin Reolojik Özelliklerinin Araştırılması</b> .....	<b>59</b>
<b>3.4 MORFOLOJİK ÖZELLİKLER</b> .....	<b>62</b>
<b>3.5. TERMAL ÖZELLİKLER</b> .....	<b>69</b>
3.5.1. <b>DSC Analizleri</b> .....	<b>69</b>
3.5.1.1 <i>Ön Muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin DSC Analizleri</i> .....	69
3.5.1.2 <i>Enzimatik Muameleler Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin DSC Analizleri</i> .....	71
3.5.1.3. <i>Ağartılmış Kraft Hamur Lifi, MFC ve NFC Ürünlerinin DSC Analizleri</i>	73
<b>3.5.2. TGA Analizleri</b> .....	<b>73</b>
3.5.2.1 <i>Ön Muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin TGA Analizleri</i> .....	74
3.5.2.2. <i>Enzimatik Muameleler Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin TGA Analizleri</i> .....	75
3.5.2.3. <i>Ağartılmış Kraft Hamur Lifi, MFC ve NFC Ürünlerinin TGA Analizleri</i>	78
<b>4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER</b> .....	<b>80</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>84</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>96</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Çalışmada gerçekleştirilen iş paketi .....	37
Şekil 3.1. Tam kuru yonga ağırlığına oranla Kraft pişirme işlemi sonrası çözünen karbonhidrat ve lignin oranları. ....	42
Şekil 3.2. Tam kuru yonga ağırlığına oranla mekanik, enzimatik ve homojenleştirme işlemleri sonrası hammaddelerde çözünen karbonhidrat oranları. ....	44
Şekil 3.3. Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin FTIR analizleri .....	45
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda Pulpzyme HC enzim uygulanması sonucu elde edilen ürünlerin FTIR analizleri .....	47
Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlarda Celluclast 1.5 L enzim uygulanması sonucu elde edilen ürünlerin FTIR analizleri .....	47
Şekil 3.6. Ağartılmış kraft hamur lifi (H1), H1MEMm3, H1MEMm8, H1MEMn3, H1MEMn8 ürünlerinin FTIR analizleri.....	48
Şekil 3.7. Ön muameleler sonucunda elde edilen ürünlerin <sup>13</sup> C-NMR sonuçları.....	50
Şekil 3.8. Enzim aktivasyonu ile elde edilen ürünlerin <sup>13</sup> C-NMR sonuçları.....	51
Şekil 3.9. Ağartılmış kraft hamur lifi, MFC ve NFC' lerin <sup>13</sup> C-NMR spektrumları .....	52
Şekil 3.10. Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin kayma gerilimi-kayma hızı değerleri .....	53
Şekil 3.11. Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin vizkozite-kayma hızı grafikleri .....	54
Şekil 3.12. Pulpzyme HC enzimi ile etkileşen numunelerin kayma hızı-kayma gerilimi grafiği (H1M=H1ME1). ....	55
Şekil 3.13. Pulpzyme HC enzimi ile etkileşen numunelerin viskozite-kayma hızı grafiği (H1M=H1ME1). ....	55
Şekil 3.14. Celluclast 1.5 L enzimi ile etkileşen numunelerin kayma gerilimi-kayma hızı grafiği (H1M=H1ME5). ....	56
Şekil 3.15. Celluclast 1.5 L enzimi ile etkileşen numunelerin viskozite-kayma hızı grafiği (H1M=H1ME5). ....	57
Şekil 3.16. H1ME3 ve H1ME8 numunelerinin kayma gerilimi- kayma hızı grafiği .....	58
Şekil 3.17. H1ME3 ve H1ME8 numunelerini viskozite-kayma hızı grafikleri .....	58
Şekil 3.18. H1, H1MEMm3, H1MEMm8, H1MEMn3 ve H1MEMn8 numunelerine ait kayma gerilimi-kayma hızı grafiği .....	59
Şekil 3.19. H1, H1MEMm3, H1MEMm8, H1MEMn3 ve H1MEMn8 numunelerine ait viskozite-kayma hızı ilişkisi .....	60
Şekil 3.20. Ağartılmış Kraft hamur liflerinden farklı ön muamele işlemleri sonrasında elde edilen numunelere ait elastik ve viskoz modül-frekans grafiği .....	61
Şekil 3.21. Ağartılmış Kraft hamur liflerinden elde edilen MFC ve NFC numunelerine ait elastik ve viskoz modül-frekans grafiği.....	61
Şekil 3.22. a) H1 ve b) H1M (H1M= H1ME1= H1ME5) SEM görüntüleri .....	63
Şekil 3.23. a) H1ME2, b) H1ME3, c) H1ME4 SEM görüntüleri .....	64
Şekil 3.24. a) H1ME6, b) H1ME7, c) H1ME8 SEM görüntüleri .....	64
Şekil 3.25. a) H1MEM1=H1MEM5, b) H1MEM2, c) H1MEM3, d) H1MEM4, e) H1MEM6, f) H1MEM7, g) H1MEM8 SEM görüntüleri .....	65
Şekil 3.26. a) H1MEMm1=H1MEMm5, b) H1MEMm2, c) H1MEMm3, d) H1MEMm4, e) H1MEMm6, f) H1MEMm7, g) H1MEMm8 100 µm ve 1 µm skalasında alınan SEM görüntüleri .....	66

Şekil 3.27. a) H1MEMn1=H1MEMn5, b) H1MEMn2, c) H1MEMn3, d) H1MEMn4, e) H1MEMn6, f) H1MEMn7, g) H1MEMn8 100 µm ve 1 µm skalasında alınan SEM görüntüleri.....	68
Şekil 3.28. Ön muameleler sonucunda elde edilen ürünlerin DSC grafikleri.....	69
Şekil 3.29. Pulpzyme HC enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin DSC grafikleri (H1M=H1ME1). ....	71
Şekil 3.30. Celluclast 1.5 L enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin DSC grafikleri.....	72
Şekil 3.31. Ağartılmış kraft hamur lifi, MFC ve NFC ürünlerinin DSC grafikleri. ....	73
Şekil 3.32. Ön muameleler sonucunda elde edilen ürünlerin TGA grafikleri. ....	74
Şekil 3.33. Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin bozunma miktarı.....	75
Şekil 3.34. Pulpzyme HC enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin TGA grafikleri (H1M=H1ME1). ....	76
Şekil 3.35. Pulpzyme HC enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin bozunma miktarı.....	76
Şekil 3.36. Celluclast 1.5 L enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin TGA grafikleri (H1M=H1ME5). ....	77
Şekil 3.37. Celluclast1.5 L enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin bozunma miktarı.....	78
Şekil 3.38. Ağartılmış kraft hamur lifi ve MFC ile NFC ürünlerinin TGA grafikleri....	78
Şekil 3.39. Ağartılmış kraft hamur lifi ve MFC ile NFC ürünlerinin bozunma miktarı. 79	79

## ÇİZELGE LİSTESİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Çizelge 1.1. Nanoselüloz türleri [2].....	20
Çizelge 1.2. Farklı üretim metotları sonrasında elde edilen MFC'lerde çap değerleri. ..	25
Çizelge 3.1. Kraft hamurunun herbir ağartma aşamasından sonraki verim, kappa ve viskozite değerleri.....	40
Çizelge 3.2. E. Camaldulensis odun yongası ile hamur üretimi ve ağartma işlemlerinden sonra elde edilen hamurların kimyasal bileşenleri.....	41
Çizelge 3.3. Hemiselülaz Pulpzyme HC enzim muamelesi sonrasında hammaddelerin kimyasal bileşenlerinde meydana gelen değişim.....	43
Çizelge 3.4. Selülaz Celluclast 1.5 L enzim muamelesi sonrası hammaddelerin kimyasal bileşenlerinde meydana gelen değişim. ....	44
Çizelge 3.5. Ön muameleler sonucunda elde edilen numunelerin bozunma değerleri...	69
Çizelge 3.6. Numunelere uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Pulpzyme HC enzim muameleleri sonucunda numunelerin bozunma sıcaklıkları.....	71
Çizelge 3.7. Numunelere uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Celluclast 1.5 L enzim muameleleri sonucunda numunelerin bozunma sıcaklıkları.....	72

## KISALTMALAR

AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
ATR	Attenuated total reflectance
AXU	Xylanase (AnhydroXylose) Unit
BNC	Bakteriyel nanoselüloz
CP	Cross polarization
C-PAM	Katyonik poliakrilamid
CS	Katyonik nişasta
DNA	Deoksiribonükleik asit
DP	Polimerizasyon derecesi
DSC	Diferansiyel tarama kalorimetrisi
ECF	Elemental chlorine free
EGU	Endo-Glucanase Unit
EPTMAC	2,3-epoksi propil trimetil amonyum klorit
FTIR	Fourier transform infrared
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LAP	Laboratory analytical procedures
LOI	Lateral order index
MAS	Magic angle spinning
MFC	Mikrofibril selüloz
NCC	Nanokristal selüloz
NFC	Nanofibril selüloz
NMR	Nükleer magnetik rezonans
NREL	National Renewable Energy Laboratory
ODEP	Oxygen-chlorine dioxide-alkaline-peroxide
PLA	Polilaktik asit
PVA	Polivinil alkol
RID	Refractive index detector
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SP0810	Shodex kolon
TCI	Toplam kristalin indeks
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidine 1-oxyl
TGA	Termogravimetrik analiz
WAXS	Geniş açılı x-ışınları saçılımı

## SİMGELER

$\mu\text{L}$	Mikrolitre
%	Yüzde
$\mu\text{s}$	Mikrosaniye
C	Karbon
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	Glukoz
$\text{ClO}_2$	Klordioksit
cm	Santimetre
$\text{cm}^3$	Santimetre küp
$\text{CO}_2$	Karbon dioksit
cP	Centipoise
Cu	Bakır
dak	Dakika
$E'$	Storage modulus (elastik modülü)
$E''$	Loss modulus (kayıp viskoz modülü)
G	Kayma hızı
g	Gram
GPa	Gigapaskal
H	Hidrojen
h	Saat
$\text{H}_2\text{O}$	Su
$\text{H}_2\text{O}_2$	Hidrojen peroksit
$\text{H}_2\text{SO}_4$	Sülfürik asit
HCl	Hidroklorik asit
HexA	Hexa üronik asit
Hz	Hertz
J	Joule
kg	Kilogram
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Potastum dihidrojen fosfat
kPa	Kilopaskal
kV	Kilovolt
L	Litre
$\text{m}^2$	Metrekare
$\text{m}^3$	Metreküp
meq	Miliekivalen
mg	Miligram
$\text{MgSO}_4$	Magnezyum sülfat
MHz	Megahertz
min.	Dakika
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mol	Mol
MPa	Megapaskal
MWh	Megawatt saat
N	Newton
$\text{N}_2$	Azot gazı
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	Sodyum hidrojen fosfat

Na <sub>2</sub> O	Sodyum oksit
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	Sodyum silikat
NaClO <sub>2</sub>	Sodyum klorit
NaOH	Sodyum hidroksit
nc	Negatif yüklerin molekül ağırlığı
nm	Nanometre
O	Oksijen
O <sub>2</sub>	Oksijen gazı
°C	Santigrat derece
°K	Kelvin
oSR	Schopper-riegler degree
Pa	Paskal
pH	Hidrojen gücü
pKa	Asidik iyonlaşma sabiti
ppm	Milyonda bir kısım
rpm	Revolutions per Minute
t	Ton
V	Hacim
w	Ağırlık
ZnSe	Çinko selenür
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama

# ÖZET

## MİKRO/NANO SELÜLOZ ÜRETİMİNDE ENZİMATİK ÖN MUAMELENİN ETKİSİ

Recai ARSLAN

Düzce Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ayhan TOZLUOĞLU

Ocak 2017, 111 sayfa

Mikrofibril (MFC) ve nanofibril (NFC) selülozun endüstriyel uygulamaları bir süredir kullanılmaktadır, ancak üretim aşamalarının geliştirmesine ve aynı zamanda yüksek kalitede ürünler elde edilmesine ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın amacı, ön muamele aşamalarında kullanılan enzimlerin (Pulpzyme HC 2500 ve Celluclast 1.5 L) incelenmesiyle mikrofibril ve nanofibril selülozun üretim verimliliğini ve kalitesini artırmaktır. MFC ve NFC kırmızı sakız ağacından (*Eucalyptus camaldulensis*) elde edilen kraft hamuru ile üretilmiştir. Enzimatik hidroliz, mekanik kesme ve yüksek basınçlı homojenizasyon işlemi ile birleştirilmiştir. Üretilen NFC ve MFC'ler HPLC, FTIR, TGA ve <sup>13</sup>C-NMR ile karakterize edilmiştir. Morfolojik ve viskoelastik özellikleri sırasıyla SEM ve reometre ile incelenmiştir. Celluclast 1.5 L enziminin kullanılması, amorf selülozda seçici hidrolize neden olmuş ve yüksek en boy oranına sahip nano ölçekli selüloz gözlenmiştir.  $35 \pm 12$  nm genişliğine sahip oldukça homojen bir NFC bu çalışmada üretilmiştir. MFC ve NFC üretilmesi için kullanılan aşamalar ağartılmış kraft hamurunun selüloz kristalinitesini düşürmüş ve FTIR sonuçları incelendiğinde, toplam kristalin indeks (TCI) ve yanal düzenlilik indeks (LOI) değerlerinin düştüğü gözlenmiştir. Düşük kristallik <sup>13</sup>C-NMR (46.2 ppm) tarafından da belirlenmiş olup bu sonuç amorf bölgedeki C<sub>6</sub> pikleriyle desteklenmiştir. Ayrıca MFC ve NFC yapıları, daha düşük termal bozunmaya neden olan kısa boyutlu yapılar olarak gözlenmiştir. Sonuç olarak, mevcut ön muameleler sonucunda elde edilen MFC ve NFC yapılarının fizikokimyasal özellikleri geliştirilmiştir.

**Anahtar sözcükler:** MFC, NFC, Enzimler, Homojenizasyon, Eucalyptus

## ABSTRACT

### EFFECTS OF ENZYMATIC PRETREATMENT ON MICRO/NANO CELLULOSE PRODUCTION

Recai ARSLAN

Duzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Forest Product  
Engineering

Master of Science Thesis

Supervisor: Asist. Prof. Ayhan TOZLUOĞLU

January 2017, 111 pages

Industrial applications of microfibrillated (MFC) and nanofibrillated cellulose (NFC) have been in use for some time; however, there is a need to improve the production steps and at the same time to obtain better quality products. The aim of this study was to improve the production efficiency and quality of MFC and NFC by examining the enzymes (Pulpzyme HC 2500 and Celluclast 1.5 L) employed in pretreatment sequences. NFC and MFC were generated kraft pulp, produced from red gum tree plant (*Eucalyptus camaldulensis*). Enzymatic hydrolysis was combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization. The generated NFC and MFC were characterized by HPLC, FTIR, TGA and <sup>13</sup>C-NMR. Morphological and viscoelastic properties were investigated with SEM and Rheometer, respectively. Results indicated that using Celluclast 1.5 L caused selective hydrolysis in amorphous cellulose and produced high aspect ratio nanoscale cellulose elements. A fairly homogeneous NFC with a width of  $35 \pm 12$  nm was produced in this study. Employed treatments to produce MFC and NFC decreased the cellulose crystallinity of bleached kraft pulp and lower total crystalline index (TCI) and lateral order index (LOI) values were observed for MFC and NFC in FTIR examinations. Lower crystallinities were also defined by <sup>13</sup>C-NMR (46.2 ppm), which was substantiated with C<sub>6</sub> peaks in the amorphous domain. Obtained MFC and NFC revealed shorter fiber dimensions with less ordered cellulose structure causing lower thermal degradation. Consequently, the methods examined in this study produced MFC and NFC with improved physicochemical and structural properties.

**Keywords:** MFC, NFC, Enzymes, Homogenization, Eucalyptus

# **EXTENDED ABSTRACT**

## **EFFECTS OF ENZYMATIC PRETREATMENT ON MICRO/NANO CELLULOSE PRODUCTION**

Recai ARSLAN  
Duzce University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences,  
Department of Forest Product Engineering  
Master of Science Thesis  
Supervisor: Asist. Prof. Ayhan TOZLUOĞLU  
January 2017, 111 pages

### **1. INTRODUCTION**

The complex structure of lignocellulosic biomass is the main obstacle for fractionation because cellulose, hemicellulose and lignin are hindered by many physicochemical, structural and compositional factors. One of the main components that resists the separation process is lignin. Lignin acts as a protective barrier and obstacle to cell permeability and microbial attacks, resulting in insignificant cell destruction. Consequently, lignin removal is necessary in order to enhance biomass digestibility, while hemicellulose and cellulose are unwillingly exposed to solubilization. In addition to lignin, the accessibility of cellulose is obstructed by hemicellulose, which can be easily hydrolyzed by diluted acid, alkali, or enzymes under mild conditions. However, this does not affect the synthesis of nanocellulose [1].

Cellulose is one of the most abundant, renewable and biodegradable natural polymers present in biomaterials. Recently, degrading cellulose to nano size has gained importance, and raw biomaterial has been processed by varying methods for that purpose. When biomaterial is converted to nano size, it gains impressive mechanical properties and excellent reinforcing capabilities in addition to exhibiting low weight and low thermal expansion. With these improved properties, they become useful for application in the production of a variety of materials such as functional films, texturing agents, templates, etc. Nano-sized cellulose consists of cellulose nanocrystal-whiskers (NCC), micro fibrillated cellulose (MFC), nanofibrillated cellulose (NFC) and bacterial nanocellulose (BNC) [2].

In biomaterial structure, cellulose polymers consist of D-glucose subunits linked together by -1,4 glycosidic bonds. In addition, they have intra- and inter-molecular bonds,

resulting in microfibrils packed side by side and generation of microfibril bundles. Packed cellulose is insoluble in water, as the hydroxyl group chains are bonded to each other. Therefore, the crystalline domain is another challenge for hydrolysis in nanocellulose production [3]. In order to improve the performance of nanocellulose production, the supramolecular structure of cellulose must be disrupted and some crystalline parts converted into amorphous phases.

There are different approaches to the conversion of cellulose to nano size, including homogenization, micro fluidization, micro grinding, cryocrushing, acid hydrolysis and TEMPO (2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl) oxidation, or their combinations [4]. Acid hydrolysis is a process related to the breakage of -1,4 glycosidic bonds in cellulose. It is well known that acid hydrolysis, which requires less energy consumption, is the most effective process for producing nanocellulose. On the other hand, the main disadvantage of this methods is poor yield. If hydrolysis is performed in the presence of mineral acid (50-72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), cellulose esterification occurs between H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and the hydroxyl groups, resulting in “cellulose sulfate” with a negatively charged cellulose surface. It should be noted that this method is neither environmentally friendly nor economical. The other way to produce nanocellulose with a high yield is by mechanical treatment. However, such an approach requires a great deal of energy [5].

In order to overcome the disadvantages of these methods, mechanical, chemical and enzymatic pretreatments can be applied in order to disintegrate and swell the fibers. A mild enzymatic pretreatment increases fiber swelling. In addition, when compared with acid treatment, enzymatic hydrolysis may be advantageous from the environmental point of view. Therefore, a biological-based hydrolyzing agent, cellulase (composed of a multicomponent enzyme system) allows restrictive and selective hydrolysis of specified components in the cellulosic fibers. This process involves multistep catalyzed reactions in which a solid crystal of cellulose is initially disordered at the solid-liquid interface via the synergistic actions of endoglucanases and exoglucanases/cellobiohydrolases. Generally, endoglucanases act to cleave the internal bonds (e.g., noncovalent interaction) present in the amorphous structure of cellulose. Furthermore, exoglucanases/cellobiohydrolases further attack the terminal glycosidic bonds from the ends of the exposed cellulose chains which are generated by the endoglucanases. Subsequently, the short cellulose chains created from the initial reactions are accompanied by further hydrolysis, where the beta-1,4 glycosidic linkage of cellulose is broken down by cellobiases/beta-glucosidases into a nanocellulose or even a glucose

product [6].

The aim of this study was to produce MFC and NFC from Eucalyptus kraft pulp. The hypothesis was to break down the cellulose and hemicellulose effectively by using alternative enzymes of Celluclast 1.5 L and Pulpzyme HC 2500, both of which have not been sufficiently studied or reported in the literature to date.

## **2. MATERIAL AND METHODS**

### **2.1. Materials**

For this study, freshly cut logs of a 16-year-old river red gum tree (*Eucalyptus camaldulensis*) brought from Tarsus, Turkey, was used as raw material. The bark and cambium were carefully removed and the logs were reduced to chips suitable for the subsequent kraft pulping operations. The chips were air-dried and screened to establish a uniform size throughout pulping.

The enzymes employed to break down the cellulose and hemicellulose structures, respectively, were Celluclast 1.5 L, a cellulase that hydrolyzes 1,4-beta-D-glucosidic linkages in cellulose and other beta-D-glucans (Novozymes, Bagsvaerd, Denmark) and Pulpzyme HC 2500 (xylanase endo-1,4-) (Novozymes, Bagsvaerd, Denmark).

### **2.2. Methods**

#### **2.2.1. Pulping and Bleaching**

Kraft pulp was produced using 500 g of chips (o.d.). The cook was made in a 10 L rotating digester (Uniterm Rotary Digester, Uniterm Lab.) at 150 °C for 150 min after reaching the maximum temperature in 30 min. The calculated H-factor was 410. The cook was achieved at 18% active alkali and 28% sulphidity charges, and the liquor-to-wood ratio (L/kg) was 5:1. The produced pulp was disintegrated and washed with hot tap water, and then screened using a flat laboratory screen (Somerville Flat Screen, Techlab Systems) with a slot width of 0.15 mm (Tappi T275). The pulp yield (screened/unscreened) and rejects were determined according to Tappi T210 via gravimetric measurements in the laboratory environment.

The pulp was bleached using Elemental Chlorine Free (ECF) processes (ODEP: oxygen-chlorine dioxide-alkaline-peroxide). Oxygen (O<sub>2</sub>) bleaching was conducted in a digester using 2% NaOH (as Na<sub>2</sub>O-o.d. pulp) and 0.5% MgSO<sub>4</sub> (as carbohydrate stabilizer-o.d. pulp) at a pressure of 6 kgf cm<sup>-2</sup> (90 °C for 60 min). The consistency was 10%. The chlorine dioxide (D) bleaching was performed in a plastic bag placed in a water bath (GFL 1023 Water Bath, GFL Lab.) (60 °C for 60 min) and each pulp (10 g, o.d.) was treated

with 100 mL  $\text{ClO}_2$  (1%) consisting of 3 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (98%) solution. The alkaline extraction (E) was also performed in a water bath at 60 °C for 60 min and each pulp (10 g, o.d.) was treated with 100 mL NaOH solution (2%). The hydrogen peroxide bleaching (P) was conducted at 10% pulp consistency using 4%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 0.5%  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  (as hydrogen peroxide stabilizer), 0.1%  $\text{MgSO}_4$  and 1.5% NaOH (o.d. pulp). The process was carried out at 105 °C for 120 min in a digester. After each bleaching operation, the pulps were washed with water, squeezed and crumbled.

The kappa number (Tappi T236) and viscosity (SCAN cm 15-62) of the pulps were then determined.

### **2.2.2. Gel Preparation**

The cell wall delamination of the bleached pulp was accomplished in four stages: mechanical refining, enzymatic pretreatments, second mechanical refining, and homogenizing. The bleached kraft pulp (H1) was first mechanically refined (2% w/w) (H1M) for 10 min using a Waring blender (NuBlend Commercial Blender, Waring Commercial) to reach 30 °SR [7]. The power input was 1.9 A at 115 V. The process was paused for 5 min to allow the material to cool down to approximately room temperature. The freeness of the pulp was measured using a Schopper Riegler device (SR/P Schopper Riegler, Thwing-Albert Instrument Company) (ISO Standard method 5267-1).

Refined materials (50 g o.d. pulp) were enzymatically hydrolyzed using Pulpzyme HC 2500 (0, 25, 100 and 250 AXU/g-H1ME1, H1ME2, H1ME3 and H1ME4) and Celluclast 1.5 L (0, 2, 5 and 10 EGU/g-H1ME5, H1ME6, H1ME7 and H1ME8) at 2% solid loading in 2.5 L of phosphate buffer at pH 7.0. The phosphate buffer used in the enzymatic pretreatments was prepared from 11 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and 9 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . The enzyme reactions were accomplished in an incubator (Incubator ES-20, Biosan Lab.) at 50 °C for 2 h. The materials were mixed manually every 30 min. At the end of the pretreatment, the materials were washed with deionized water and put into boiling water for 30 min to stop the enzymatic activity. Then the pulp materials were again washed with deionized water. The enzymatically treated materials were refined again using a Waring blender [7], to reach 90 °SR (H1MEM1, H1MEM2, H1MEM3, H1MEM4, H1MEM5, H1MEM6, H1MEM7 and H1MEM8). To prevent a bacterial growth in the material, 0.4 µL/mL of a microbicide (5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one) was added to the slurry.

In the production stage of MFC, the material was passed through a high-pressure fluidizer (2% w/w) (Microfluidizer M-110Y, Microfluidics Corp.), and then one time through a Z-shaped chamber with a diameter of 200 µm (14000 psi) (H1MEMm1, H1MEMm2,

H1MEMm3, H1MEMm4, H1MEMm5, H1MEMm6, H1MEMm7 and H1MEMm8). For the production of NFC, the material was also passed through a high-pressure fluidizer (2% w/w) and once through a Z-shaped chamber with a diameter of 200  $\mu\text{m}$  (14000 psi), and then it was passed five times through a chamber with a diameter of 100  $\mu\text{m}$  (24000 psi) (H1MEMn1, H1MEMn2, H1MEMn3, H1MEMn4, H1MEMn5, H1MEMn6, H1MEMn7 and H1MEMn8).

### 2.2.3. Analytical Methods

#### 2.2.3.1. HPLC (*High-performance liquid chromatography*) Analysis

The sugar and the lignin contents of the samples were determined by Laboratory Analytical Procedures (LAP) from the National Renewable Energy Laboratory (NREL). The sugar contents were analyzed using the HPLC (Agilent 1200 System, Agilent Tech.) equipped with a Shodex SP0810 column (mobile phase: HPLC grade water-0.2  $\mu\text{m}$  filtered and degassed; injection volume: 20  $\mu\text{L}$ ; flow rate: 0.6 ml/min; column temperature: 80  $^{\circ}\text{C}$ ) and a refractive index detector. The acid-insoluble and acid-soluble lignin were determined, respectively, by weighing and by the adsorption at 320 nm against a deionized water blank.

The reduction in lignin was calculated based on the initial dry weight of the lignin in the chip/bleached kraft pulp (LU) and the dry weight of the lignin in the remaining solids after the pulping, bleaching, refining, enzymatic hydrolysis and homogenizing treatments (LP). The percentage of lignin reduction was calculated with the following equation:

$$\text{The percentage of lignin reduction} = \frac{\text{LU} - \text{LP}}{\text{LU}} \times 100$$

The solubilization of xylan and glucan during the treatments was also calculated in the same manner.

Furthermore, the percentage of solids recovered was calculated on an oven-dry basis as follows:

$$\text{The percentage of solids recovered} = \frac{W_2}{W_1} \times 100$$

where  $W_1$  is the dry weight of the whole biomass before treatment (g), and  $W_2$  is the dry weight of the treated material (g).

#### 2.2.3.2. FTIR (*Fourier transform infrared*) Spectroscopy

The IR spectra were taken via an attenuated total reflectance (ATR)-FTIR device (Shimadzu IR Prestige-21, Shimadzu Corp.). Sample suspensions of 0.5 ml were prepared in a concentration of 2% (w/w). The samples were gently dropped in a diamond

attachment using an automatic pipette (0.1-1 ml). In order to elucidate molecular vibration signals in the range of 4000-600  $\text{cm}^{-1}$ , 20 scans with a resolution of 4  $\text{cm}^{-1}$  were taken.

#### 2.2.3.3. $^{13}\text{C}$ CP/MAS NMR (Cross Polarization Magic Angle Spinning Nuclear Magnetic Resonance) Spectroscopy

The solid state  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectra of the samples were recorded using an Advance III 300-MHz NMR instrument (Bruker Corp.). The operating frequency was fixed at 75.385 MHz. A double air-bearing probe and a zirconium oxide rotor (4 mm) were used in the analysis. The MAS rate was 8500 Hz. A CP pulse was ramped at a contact pulse of 100  $\mu\text{s}$  with the rotation of 4  $\mu\text{s}$  proton at  $90^\circ$  pulse (294.8 °K). The delay between repetitions was 2.5 s.

#### 2.2.3.4. Rheological Measurements

In order to determine the rheological properties of the samples, a RST-CPS Rheometer (Brookfield Corp.) was used. The measurements were made at the 37.5 mm diameter cone-plate and the 25 mm diameter parallel plate. The gap was fixed at 1 mm. Before the measurements, the shearing was applied to the materials at 20,000 rpm for 2 min (IKA T18 homogenizer, IKA Lab.) to disrupt any flocculated aggregates and the samples were then allowed to rest for 3 min.

#### 2.2.3.5. SEM (Scanning Electron Microscopy)

The morphological properties of the samples were analyzed by taking SEM (FEI Quanta FEG 250, FEI Corp.) images. The samples were first dried at 105 °C overnight, and then coated up to 5 nm with a gold-palladium composite. Pictures were taken for all samples at 1-15 kV using a field emission gun equipped with a compacted secondary electron detector. Scales were selected as 100  $\mu\text{m}$  for fiber materials and 1 and 100  $\mu\text{m}$  for MFC and NFC. In addition, SEM analyses were carried out for MFC or NFC films.

#### 2.2.3.6. Thermal Analysis

The thermal properties of the materials were examined using thermogravimetric analysis (TGA). For the TGA, a Shimadzu DTG 60 (Shimadzu Corp.) equipped with a thermal analysis data station was utilized. The material samples were first dried at room temperature overnight. Approximately 5 mg of the material was placed in a platinum pan and heated from room temperature to 650 °C at a rate of 20 °C/min. Measurements were carried out under nitrogen flow (75  $\text{mL min}^{-1}$ ). The mass of the material was recorded as a function of the temperature.

### **3. RESULTS AND DISCUSSIONS**

#### **3.1. Yield, Kappa And Viscosity Analysis**

The kraft pulping of the eucalyptus resulted in 45.6% (o.d. chip) screened yield. The reject was very small (0.03% o.d. pulp). The kappa number and viscosity were 18.4 and 10.2 cP, respectively. Similar results for the same wood material and pulping conditions can be found in the literature [8]. It was noted that the kappa number and viscosity values decreased as expected after each bleaching stage, while the lignin was removed from the structure. The kappa number of the bleached pulp decreased up to 83.6%. The oxygen bleaching stage (O) decreased the kappa number to 10.4 and a decrease of viscosity was also observed. A significant decrease in viscosity and kappa was observed when chlorine dioxide was used in the bleaching stage. This finding could be explained by polysaccharide degradation [9]. The NaOH (E) used in the bleaching stage extracted some lignin and low molecular weight materials and consequently, diminished the total yield. On the other hand, E stage bleaching increased the viscosity of the pulp slightly (5.60 cP), as observed earlier by Islam [10]. This could be due to the removal of some low molecular weight materials from the structure. Moreover, the last stage peroxide bleaching (P) decreased the kappa and viscosity of the pulp.

#### **3.2. Chemical Properties**

##### **3.2.1. HPLC Analysis**

The HPLC analyses showed that the total carbohydrate of *E. camaldulensis* was 49.3% (o.d. chip). Glucan, the major cell wall component, made up 40.0% (o.d. chip), and xylan, the major hemicellulose constituent, was 8.67% (o.d. chip). Mannan, arabinan and galactan accounted for only 0.62% (o.d. chip). The total lignin (acid insoluble/soluble) content was observed to be 28.3% (o.d. chip). The results of this study were comparable with the findings of Moussaouiti [11].

The lignin, glucan and xylan solubilizations of the bleached pulp were 97.7%, 31.2% and 31.6% (o.d. chip), respectively. The glucan content of unbleached/bleached kraft pulps was proportionally increased due to the delignification. The kraft pulp had 15.3% xylan, but bleaching resulted in a slight decrease in the xylan content which could be due to the mutual removal of lignin and xylan from the structure.

Mechanical refining of the bleached kraft pulp diminished the glucan (1.80% o.d. bleached pulp) and xylan (0.20% o.d. bleached pulp) content of the pulp. Similar results were observed earlier by Chen [12].

Pulpzyme HC 2500 was found to be highly effective on xylan degradation and an increase

in enzyme concentration resulted in higher degradation. As expected, this enzyme had a lesser effect on glucan degradation. The optimum concentration of enzyme applications was determined according to the ratio of amount of removed glucan to xylan. The high hemicellulose content in the structure diminishes the cell wall cohesion, which makes cell wall delamination easier and also prevents blocking in the homogenizer [13]. Consequently, the material with the highest amount of xylan was collected after the H1ME3 processes and was selected as the optimum for further analysis.

Celluclast 1.5 L, the other enzyme used in this study, has cellulase in addition to the hemicellulase activity of  $\beta$ -xylosidase [14]. Results showed that treating materials with this enzyme significantly degraded the glucan by up to 21.1% (o.d. bleached pulp). In contrast, the xylan degradation was minor (up to 1.51% o.d. bleached pulp). An increase in enzyme concentrations removed more glucan and xylan from the structure, and the optimum enzyme application was determined to be H1ME8.

The enzyme (Pulzyme HC 2500 and Celluclast 1.5 L) treated samples were then mechanically refined and results showed almost no xylan or glucan degradation for these samples. However, the use of both materials in the processes to obtain MFC and NFC had a slight effect on the removal of xylan and glucan from the structure [15].

### **3.2.2. FTIR Analysis**

The O-H, C-H and C-O interactions were investigated for each pretreatment using FTIR. Peaks were broadly observed at  $3330\text{ cm}^{-1}$  and matched the free OH groups on the cellulose molecules corresponding to intra- and intermolecular H-bonds [16], [17]. Results showed that pretreatments changed the transmittance value. This could be explained by the glucose disintegration, especially in the glucose surface area, resulting in fewer hydrogen bonds [17]. In this study, O-H in-plane bending and O-H bending vibrations were additionally observed at  $1336\text{ cm}^{-1}$  and  $1202\text{ cm}^{-1}$ , respectively [18]. There was no significant difference in vibrations for the untreated/treated materials.

The crystallinity in the structure for untreated/treated materials was analyzed ( $\text{CH}_2$  asymmetric vibrations at around  $2900\text{ cm}^{-1}$ ) [16] and results indicated that the pretreatments applied in this study gave minor shifts to higher wave numbers.

The most intense peaks were observed between  $1200$  and  $1000\text{ cm}^{-1}$  and presented C-O-C vibrations in the lignocellulosic structure [17]. In this study, peaks observed at  $1162\text{ cm}^{-1}$  were related to C-O-C symmetric stretching vibrations that elucidated the ether linkages from the pyronose ring. The C-O asymmetric and symmetric stretching vibrations were observed at  $1053\text{ cm}^{-1}$  and  $1035\text{ cm}^{-1}$ , respectively. In addition, C-O-C

stretching at the  $\beta$ -(1,4) glycosidic linkages were observed at around  $890\text{ cm}^{-1}$ . Results indicated that there were no considerable shifts in these peaks.

The structural differences between bleached kraft pulp (H1) and MFC and NFC produced using this pulp were examined. The alteration in transmittance peaks observed at  $3330\text{ cm}^{-1}$  matched the free OH groups of cellulose molecules. Results showed that the homogenization in the production of MFC and NFC diminished the surface area and H-bond numbers [17].

The molecular interactions of bleached kraft pulp, MFC and NFC produced in this study were investigated by FTIR. In the spectra, the slightly broad O-H stretching peaks observed at  $3330\text{ cm}^{-1}$  matched to the free OH groups of the cellulose molecules corresponding to intra and intermolecular H-bonds. O-H in-plane bending vibration was additionally observed at  $1336\text{ cm}^{-1}$ .

### 3.2.3. $^{13}\text{C}$ -NMR Analysis

The chemical structure of the pretreated materials was additionally analyzed by CP/MAS  $^{13}\text{C}$ -NMR. Some minor chemical shifts were observed and could be attributed to the packing effect of the supramolecular structures stemming from different chemical reactions and physical processing [19].

This study focused on the  $\text{C}_4$  peaks, which were observed in crystalline and non-crystalline forms as doubled-collateral peaks. The former (left) peak displayed a crystalline character, whereas the latter (right) showed an amorphous character [13]. The  $\text{C}_4$  chemical shifts for cellulose may differ depending on the origin of the material, applied pretreatments and  $^{13}\text{C}$ -NMR conditions [20].

The literature mentions that  $\text{C}_4$  peaks have been observed for cotton linters [21] at 89 ppm and for amorphous cellulose [22] at 102 ppm. In this study,  $\text{C}_4$  peaks were observed at about 73 and 67 ppm, showing both crystalline and amorphous regions, respectively. The pretreatments applied in this study caused minor shifts in  $\text{C}_4$  peaks, especially in the amorphous side. These minor shifts could be explained by alterations of crystalline and amorphous structure. This is supported by the FTIR findings of CH asymmetric and symmetric vibrations at about  $2900\text{ cm}^{-1}$ .

In this study,  $\text{C}_6$  peaks were observed at around 48 ppm and showed no significant shifts between materials. The sharpest and most intense peaks were observed at 62 -55 ppm. These peaks were related to  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_5$  positions.

When the spectra of  $^{13}\text{C}$ -NMR for bleached kraft pulp (H1) and MFC and NFC produced using this pulp were examined, results showed minor similarities, especially in the

amorphous region of C<sub>4</sub>.

### 3.3. Rheological Properties

When the viscosity graphs of the materials were examined, results showed an increase in shear rate diminished the viscosity for all materials. The materials tested in this study showed shear thinning behavior [23] and could be considered as pseudoplastic materials. Raw cellulose (H1) exhibited the highest viscosity. Both mechanical refining (H1M) and subsequent enzymatic pretreatments (H1ME3, H1ME8) decreased the viscosity. When enzymatically pretreated samples were considered, a significant decrease was observed with Celluclast 1.5 L (H1ME8) compared to Pulpzyme HC 2500 (H1ME3). An additional decrease in viscosity was observed when both materials were further mechanically refined (H1MEM3 and H1MEM8).

When the viscosity of MFC (HMEMm3 and H1MEMm8) and NFC (HMEMn3 and H1MEMn8) materials were examined, a significant decrease in viscosity for the MFC and NFC materials is obvious. The decrease could be due to significant modifications in material structure resulting from the pretreatments (mechanical refining and enzymatic) and homogenization processes (MFC and NFC) and also might have occurred depending on floc size and size distribution as well as on inter- and intra-molecular bonds (colloidal and wander walls) between fibers [22].

When the MFC and NFC materials were compared, the NFC materials exhibited higher viscosity (H1MEMn3, H1MEMn8). This finding could be explained by the increase in the Einstein coefficient: higher length to diameter ratio [24], which might have increased the specific surface area and, moreover, increased the reactive surface of the cellulose, resulting in higher agglomeration. Similar results were observed by Missoum [25].

The viscoelastic properties of the MFC and NFC materials treated with Celluclast 1.5 L enzyme were also tested. Fig. 3c illustrates the storage and loss modulus of the MFC (H1MEMm8) and NFC (H1MEMn8) materials as a function of frequency. It can be seen that the values of 'G' for NFC were much higher than for MFC. It could be concluded that NFC manifested gel-like behavior at low frequency [26]. At high frequency, both materials revealed the same behavior. Higher and lower 'G' values have also been investigated in the literature [26]. Consequently, different homogenization progress affected the loss and the storage modulus value. Increase in the cycle and dimension of the chamber caused more gel-like behavior due to the inherently entangled network structure of the fibers, which were slightly uncoiled from each other and resulted in lower floc sizes [13].

### 3.4. Morphological (Structural) Properties

Mechanical refining swelled the fibers and created damaged zones in the cellulose as well as increased the aspect ratio. These treatments were believed to enhance enzymatic activity [13] and thus, were expected to cause easier homogenizing.

The SEM images of the enzymatically treated (H1ME3 and H1ME8) and then mechanically refined (H1MEM3 and H1MEM8) pulps showed that material pretreated with Celluclast 1.5 L resulted in better internal and external fibrillation as well as higher aspect ratio compared to Pulpzyme HC 2500-treated material. Second refining, as expected, improved the pulp fibrillation and better external fibrillation was observed with the pulp treated with Celluclast 1.5 L.

Trials to produce MFC from refined pulp (without enzymatic pretreatment) in the homogenizer caused blockage in the constriction chambers and produced a large fraction of intact fibers, resulting in unsuccessful MFC/NFC production. This indicated that applying only mechanical shearing caused less fiber swelling and damaged fibrillar structure. In addition this process requires excessive energy and is not feasible for producing well-defined nanoscale cellulose elements. Strong acid hydrolysis is an aggressive process and yields low aspect ratio cellulose elements [13]. Consequently, less aggressive enzymatic hydrolysis (Celluclast 1.5 L and Pulpzyme HC 2500) was applied in this study. Results showed that treating pulp with Celluclast 1.5 L resulted in selective hydrolysis in amorphous cellulose, and thus caused the mechanical disintegration of fibers into high aspect ratio nanoscale cellulose elements.

According to the HPLC results in this study, the highest xylose-containing pulp, H1ME3, was selected as the optimum application for Pulpzyme HC 2500 pretreatment, and thus resulted in easier MFC and NFC production. High hemicellulose content decreases the cell wall cohesion and makes cell wall delamination easier [13]. On the other hand, high hemicellulose content alone is not enough to prevent clogging in the homogenizer chamber. Using Celluclast 1.5 L was expected to improve delamination and thus diminish blockage in the chamber [13].

When enzymatically hydrolyzed pulps were mechanically refined, improved efficiency of homogenization and intense cell wall delamination were observed. The one-time pass of the material through the 200  $\mu\text{m}$  chamber (14000 psi) was surely enough to produce MFC. This could be due to the better fiber swelling.

The SEM images of MFC and NFC are given at two different scales which 100  $\mu\text{m}$  and 1  $\mu\text{m}$ . Images taken at the 100  $\mu\text{m}$  scale showed some micron-wide fibers for MFC

materials while images taken at 1  $\mu\text{m}$  displayed some nanofibrils. When the NFC materials were examined, none of the fibers had the width of a micron. Therefore, fairly homogeneous NFC was produced. Cellulosic nanofibers in this study had a rod-like structure with an average length of  $3820 \pm 170$  nm and a width of  $35 \pm 12$  nm. NFC was generated with the average aspect ratio of  $115 \pm 35$  nm. Moon [27] produced NFC with almost similar method to this study having a diameter of 4 to 10 nm and length of several micrometers with the aspect ratio ( $>100$ ).

Zimmermann [28] obtained nanofibrils from mechanically pretreated sulfite pulp after passing material from the microfluidizer. The width of the nanofibrils was less than 100 nm and they had a high length ratio. On the other hand, super-grinding produced nanofibrils having a width of 20-90 nm [29]. It was concluded that fibers can be degraded to nanoscale by exposing them to shearing stresses in the longitudinal fiber axis. It seems that microfluidizers and super-grinders have a similar effect and nanofibrils of a similar size were produced with microfluidizers in this study.

In the case of using sulfite pulp, when the fibers were mechanically and enzymatically pretreated, Ankerfors [30] obtained nanofibrils with a width of 10-20 nm using microfluidizers. The lower size could be due to the pulp type having a higher hemicellulose content, as compared to the kraft pulp utilized in this study.

### **3.5. Thermal Analysis**

#### **3.5.1. DSC Analysis**

Thermograms showed that materials exposed to the pretreatments had nearly similar degradation patterns (except for H1MEM8). Two considerable endothermic peaks were observed in this study. The first occurred around 50-100  $^{\circ}\text{C}$ , and these could be attributed to the loss of water in the materials. When the enzymatic pretreatments were compared, the material treated with Celluclast 1.5 L resulted in more degradation. Pretreatments for the material H1MEM8 caused a significant degradation in the structure and the observed peak around 50-100  $^{\circ}\text{C}$  was not obvious for this specific material. This finding could be due to the mechanical refining and enzymatic pretreatment which caused the smaller material size and larger surface area, resulting in more water adsorption [17].

The second peaks were observed at around 350-380  $^{\circ}\text{C}$ , indicating decomposition of the cellulose. The degradation temperature was associated with higher thermal stability, and this behavior could be attributed to the high degree of material crystallinity [17]. Mechanical refining and enzymatic pretreatments lowered the degradation temperature (359, 358, 356, 355  $^{\circ}\text{C}$ ) for materials H1, H1M, H1ME3 and H1ME8, respectively. This

finding could be due to the deformation of glycosidic bonds which influence the crystalline/amorphous ratio in the structure [31]. The effect of Celluclast 1.5 L was highly significant and it decreased the degradation temperature. This may be due to a decrease in the degree of polymerization and molecular weight of the material.

When the thermograms of the MFC and NFC materials were examined, the first endothermic peaks at 50-100 °C were obvious for the raw material (H1) and MFC (H1MEMm3) obtained after Pulpzyme HC 2500 pretreatment. Degradation temperatures occurred at around 350-380 °C and were apparently different for the MFC and NFC materials. When Celuclast 1.5 L was used for pretreatment, the MFC and NFC materials (H1MEMm8 and H1MEMn8) resulted in a more amorphous structure. Thus, the NFC materials displayed higher viscosity values, as supported by the rheological investigations conducted in this study.

### **3.5.2. TGA Analysis**

In the thermogravimetric analysis, three temperature ranges were monitored. The weight loss observed in the first range (25-150 °C) could be due to the removal of humidity and some low molecular weight compounds from the structure [32]. The weight loss in the second range (150-375 °C) may chiefly be due to the cellulose, hemicellulose and lignin decomposition and in the third range (375-650 °C), some solid residuals and lignin may have been removed from the structure [33].

Results indicated that up to 150 °C, there was no significant weight loss among the materials. As can be seen, the onset decomposition temperature for raw cellulose (H1) was 272 °C. Refined material (H1M) had almost no alteration in decomposition temperature compared to raw cellulose (H1). Materials treated with Celluclast 1.5 L had a lower decomposition temperature compared to those treated with Pulpzyme HC 2500. The refining of enzymatically treated materials (H1MEM3 and H1MEM8) resulted in much lower decomposition temperatures. On the other hand, pretreated materials had more mass at a higher temperature (650 °C). This could be due to the higher amount of undegradable structures in pretreated materials. The nanocellulose showed the lowest thermal stability. The decomposition temperature of the material H1MEMn8 was 218 °C. The lower decomposition temperature could be attributed to the lower crystallinity, as verified by the NMR and DSC findings, and the more porous structure, as supported by SEM, that occurred during the pretreatments [34].

#### **4. CONCLUSION AND OUTLOOK**

In this study, MFC and NFC were successfully produced using Celluclast 1.5 L and Pulpzyme HC 2500 enzymes. Applying Celluclast 1.5 L significantly decreased the viscosity, and the NFC produced in this study manifested gel-like behavior at low frequency. Utilizing Celluclast 1.5 L as a pretreatment agent in NFC production resulted in selective hydrolysis in the amorphous cellulose and caused the formation of high aspect ratio nanoscale cellulose elements. Materials pretreated with Celluclast 1.5 L had a lower decomposition temperature, which was ascribed to the lower crystallinity of the materials, as verified by  $^{13}\text{C}$ -NMR and DSC findings.



# 1. GİRİŞ

Nanoteknoloji uygulamaları üretime olan pozitif etkisi nedeniyle internetin icadından sonra en büyük buluş ve ikinci sanayi devrimi olarak kabul edilmektedir. Uygulama alanındaki genişleme nanoteknoloji konusundaki araştırmaların ve elde edilen bilginin gelecek yüzyılda global ekonomik büyüme ve gelişmede önemli bir rol üstleneceğini göstermektedir. Gelişmiş ülkeler nanoteknoloji alanındaki araştırmaları etkin bir şekilde desteklemektedirler. Ülkemizde ise konu ile ilgili araştırmaların sınırlı alanlarda gerçekleştirildiği bilinmektedir. Bu bağlamda konu ile ilgili araştırmacı gruplarının teşvik edilmesi ve yeniliğe açık nanoteknoloji konusundaki projelere destek verilmesi, araştırmalar neticesinde patent üretme olasılığının yüksek olduğu yeni yaklaşımların desteklenmesi önem arz etmektedir. Konu kapsamında ileri teknoloji üretiminin ülkemizde de gerçekleştirilmesinin önem arz ettiği gözden kaçırılmamalıdır.

Ülkemizde hali hazırda nanoteknoloji alanındaki çalışmalar medikal ve tekstil alanlarında devam etmekte olup, konu ile ilgili araştırmalar üniversiteler ve kurumlar bağlamında sürdürülmektedir. Orman ürünleri alanında nanoteknoloji araştırmaları yapan kurum ve/veya firma sayısı ise yok denecek kadar azdır. Buna karşılık yaygın uygulama alanına sahip olan ve bol miktarda ve süreklilik arz eden biyokütleden nanoselüloz üretimi konusunda ülkemizde henüz herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı mekanik ve enzimatik ön muamelelerin nanoselüloz üretimine etkisinin belirlenmesidir. Bu amaçla, Pulzyme HC ve Celluclast 1.5 L enzimlerinin nanoselüloz üretimindeki etkisi kimyasal, reolojik ve morfolojik özellikleri bakımından incelenmiş olup, bu enzimlerle üretilen nanoselülozların özellikle kağıt ve kompozit film ürünlerinin kalitesini artıracakları düşünülmektedir.

## 1.1. NANOTEKNOLOJİ

Yunanca “nannos” kelimesinden gelen ve “cüce” anlamı taşıyan nano, bir fiziksel büyüklüğün bir milyarda biri olarak tanımlanmakta ve genellikle metre ile birlikte kullanılmaktadır. Nanometre, 5 ila 10 atomun ardı ardına dizilmesinden oluşan, metrenin 1 milyarda biri ölçüsündeki uzunluğu temsil etmektedir. İnsan saç telinin çapının yaklaşık 50 bin, DNA molekülünün ise 2,5 nanometre olduğu düşünüldüğünde, oldukça küçük bir ölçekten bahsedilmektedir [35].

Nanoteknoloji ise en az bir boyutu nanometre ölçeğinde olan materyal ve aletlerin tasarımı, sentezi, karakterize edilmesi ve uygulanmasıyla ilgili mühendislik ve bilim dalı şeklinde tanımlanır. Nanometre ölçekli yapıların analizi, nanometre boyutunda yapıların fiziksel özelliklerinin anlaşılması, nanometre ölçekli yapıların imalatı, nano hassasiyetli cihazların geliştirilmesi, uygun yöntemler bulunarak nanoskopik ve makroskopik dünya arasındaki bağın kurulması, nano ölçekli cihazların geliştirilmesi nanoteknolojinin başlıca amaçları arasında yer almaktadır [35].

Malzemelerin nano boyutta makrodünyadan farklı davranmaları nanoteknolojiyi ilginç kılan bir unsur haline dönüştürmektedir. Külçe şeklindeki altın başka maddelerle reaksiyona girmek istemezken, nano boyuttaki altında bu durumun tam tersi gözlemlenmektedir. Kuantum etkileri yüzünden maddeler, nano boyutta farklı özellikler göstermektedir. Bu özellik yüzünden, bilim adamları malzemelerin nano boyuttaki hallerini araştırıp, sorunlara çözüm bulmaya çalışmaktadırlar [36].

Nanoteknolojinin alanı oldukça geniştir ve genişlemektedir. Günümüzde fizik, kimya, biyoloji, bilgisayar, malzeme bilimi, elektronik gibi alanlarda kullanımının yanında, tıp alanında da oldukça çarpıcı gelişmelere imkan sağlamaya başlamıştır. Bunun yanında, her yeni teknolojiye olduğu gibi, nanomalzemelerin de sağlık ve çevre üzerindeki etkileri merak edilmektedir. Bu teknolojiyle üretililecek birçok mikroskobik aygıtlar belki de damarlarımızda dolaşacak ve birer uzman gibi tedavi sağlayacaklardır. Nano boyuta sahip yapıların fiziksel özelliklerinin anlaşılması ile yeni bir nanoskopik dünya ile bir köprü kurulabilecektir. Nanomateryallerin üretimi ile birlikte çok daha dayanıklı ulaşım araçları ve kirlenmeyen, paslanmayan eşyalar; hatta kendi kendini temizleyen giysiler üretililecektir. Gelecekte en büyük sorunlardan biri olacak olan kullanılabilir su kaynakları da, bu teknoloji ile kendisini yenileyebilecektir. Belki de yakın bir tarihte insan vücudunda çalışabilecek biyolojik ve farmakolojik bilgisayarlar bu şekilde üretililecektir. Nanoteknolojinin kullandığımız aletler, bilgisayarlar, yapılar, elbiseler ve materyalleri değiştirecek ve yeni ürünler, piyasalar ve yaşam tarzını gündeme getireceği yapılan birçok çalışma ile desteklenmekte olup devlet ya da devlet büyüklüğündeki işletmeler nanoteknolojiyi mutlaka bir adım ileriye götürecek atılımlar içerisinde olmak zorundadırlar [36].

Nanomateryallerin elde edilmesinde 2 yöntem bulunmaktadır. Aşağıdan yukarıya (bottom-up) ve yukarıdan aşağıya (top-down) olarak adlandırılan bu iki yaklaşım şu şekilde özetlenebilir. Bottom-up; aşağıdan yukarıya yaklaşım (küçükten-büyüğe)

moleküler nanoteknolojiyi belirtir ve organik veya inorganik yapıları, maddenin en temel birimi olan atomlardan başlayarak atom atom, molekül molekül inşa edilmesi yöntemini ifade eder. Bu metot kimyasal sentez veya tam kontrollü mineral gelişime dayalı kimya ve fizik türevli teknolojileri kullanır. Top-down ise; yukarıdan aşağıya yaklaşımı (büyükten-küçüğe), makineler, asitler ve benzeri mekanik ve kimyasal yöntemler kullanılarak nano yapıların fabrikasyonu ve imal edilmesi yöntemlerini ifade eder. Makroskopik materyallerin nano boyuta dönüşümünde kullanılan mekaniksel (öğütme), kimyasal (kısmi asit veya baz hidrolizi), enzimatik (selüloz, hemiselüloz, pektin ve lignini hidrolize eden enzim muameleleri) ve fiziksel (iyon saçılımı ve yüksek güçlü lazerleri kullanan teknikler) metotları kapsar. Teknolojinin bugünkü seviyesi sebebi ile yapılan çalışmaların birçoğu yukarıdan aşağıya (Top-down) klasmanında değerlendirilmektedir [37].

Nanolifler insan saç telinden birkaç bin kez daha küçük (<100 nm) yapılar olmakla birlikte yalnızca elektron mikroskobu altında tespit edilebilirler. Benzersiz özelliklere sahip olup, bu yapıları çoğu kez geleneksel fizik kurallarıyla tanımlamak imkansızdır. Nanolifler geniş bir yüzey alanına sahip olmakla birlikte 1 m<sup>2</sup>'si 0.1-1 gram ağırlığında gelmektedir. Nanolifler çoğunlukla polimer solüsyonlarının (PVA ve PLA gibi sentetik polimerler veya bunların karışımları ve selüloz, çitosan, keratin, nişasta veya bunların karışımlarını kapsayan işlenmiş hammaddeler) elektro çekim metodunu kapsayan bottom-up teknolojisiyle elde edilmektedir. Nanoliflerin elde edilmesinde top-down üretim teknikleri de kullanılabilir. Bu durumda biyokütle içerisindeki doğal lifler termal, kimyasal veya biyoliflendirme gibi biyoteknolojik yöntemler kullanılarak nano boyuta parçalanmaktadır [37].

## **1.2. SELÜLOZ KAYNAKLI NANOLİF ÜRETİMİ**

### **1.2.1. Hücre Çeperi Bileşenleri**

Selüloz, hemiselüloz ve lignin bitki hücre duvarının üç temel bileşenini oluşturur. Selülozlu maddeler genel temel bir yapıya sahip olsalar da kimyasal bileşim ve fiziksel yapıda değişme görülebilir. Genel olarak bu maddeler %30-60 selüloz, %10-30 hemiselüloz ve %10-20 ligninden oluşur. Lignin, selülozun biyolojik ve kimyasal etkilerden korumasını sağlayarak selülozun esneklik ve dayanıklılığına sebep olmaktadır. Öte yandan hemiselüloz ise, lignini selüloza bağlamaktadır [38].

#### 1.2.1.1. Hemiselüloz

Hücre çeperinde selülozla yakın bir birliktelik içerisinde. Beş doğal şeker, heksozlar (6 karbonlu şekerler), glukoz, mannoz, galaktoz ve pentozlar (5 karbonlu şekerler), ksiloz ve arabinoz, hemiselülozların ana bileşenleridir. Bazı hemiselülozlar, ilave olarak üronik asitleri içerirler ve molekül zincirleri, selüloza göre çok daha kısadır, yan grupları vardır ve dallanmıştır. Yapraklı ağaçlar iğne yapraklı ağaçlardan daha fazla hemiselüloz içerirler ve şeker bileşimleri farklıdır [39].

#### 1.2.1.2. Lignin

Lignin odunda hücre zarının bir kısmı ve orta lamelde oluşan sert tabakalı madde olarak tanımlanan kısmı temsil eder. Fenolik metoksil, hidroksil ve diğer grupları içeren kompleks aromatik yapıda amorf maddedir. Lignin, selülozdan sonra odunun başlıca bileşenidir. Karbonhidrat olmayan aromatik tabiatta bir maddedir. Odunun kuru maddesinin %20-30'unu oluşturur. Ligninin yapısı bilinmemekle beraber odunun diğer bileşenleri ayrıldıktan sonra lignin, hidroksil ve metoksil gruplarını içeren polimer bir madde olarak kalmaktadır. Son araştırmalara göre ligninin yapı taşlarının koniferil alkol, sinapil alkol ve kumaril alkol ve bunlardan türetilen üç boyutlu polimer maddeler olduğu sanılmaktadır. Buldukları yere göre çeşitli ligninlerin var olabileceği söylenmekte ve genellikle lignin adı altında odunun %72'lik sülfürik asitte çözünmeyen bölümü alınmaktadır. Ligninin elementer analizinde yaklaşık olarak %61-65 karbon, %5-6 hidrojen ve kalanı oksijen olarak bulunmaktadır. Her ne kadar selüloz ve lignin selülozlu maddelerin asıl bileşenlerinden de olsalar bunların kimyasal özellikleri oldukça farklıdır. Lignin karmaşık bir yapıya sahip, polisakkarit olmayan, hidroksil ve metoksil gruplarını içeren polimer bir maddedir. Ligninin kimyasal yapısının karmaşık olması bu maddeden yararlanmayı zorlaştırır. Daha çok yakıt olarak kullanılır. Yalnız küçük bir kısmından yapıştırıcı olarak, kaplama üretiminde yararlanır [40].

#### 1.2.1.3. Selüloz

Selüloz da nişasta gibi  $(C_6H_{10}O_5)_x$  genel formülüne sahip bir polisakkarittir. En çok bulunan iskelet polisakkaritlerden olup bitkilerin hücre çeperlerinin temel bileşenidir. Saf selüloz mikroskop altında ipliksi bileşim ve polarize ışıpta çift kırılma gösterir. Suda hiçbir şekilde çözünmez, fakat derişik sülfat asidinde çözünerek amiloid denilen hidroselüloza dönüşür ki parşömen kağıdı bundan yapılır. Sülfat asidinde %72, klorür asidinde %40 ve fosfat asidinde %85 çözünür. Bu çözümler hidrolizden ileri gelir. En

iyi şekilde amonyaklı bakır hidroksit  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4(\text{OH})_2$  (Schweizer belirteci) çözeltisinde çözünür. Asitlerin seyreltik çözeltilerinde selüloz kolay hidrolizlenir. %72 çinko klorür ve sulu alkali hidroksitler selülozu şişirirler ve bazı molekülleri çözündürürler. Selüloz derişik anorganik asitlerde hidrolizlenmekte ve böylece sellobioz disakkariti üzerinden son ürün glukoza dönüşürler. Selüloz D-glukopiranoz birimlerinin  $\beta$ -1,4 bağlanması ile meydana gelmiştir.  $\beta$ -glukopiranoz bağları,  $\alpha$ -glukopiranoz bağlarına göre daha dayanıklıdır ve molekülündeki  $-\text{O}-$  köprüleri nöbetleşe zincirin üst ve alt taraflarında bulunurlar. Selülozun %18 NaOH çözeltisi ile muamelesinde bir kısmı çözünür. Bu alkalide çözünmeyen kısma  $\alpha$ -selüloz, çözeltiliye geçen kısmın asetik asit ilavesi ile çöken kısma  $\beta$ -selüloz, asetik asit ile de çökmeyip çözeltide kalan kısma da  $\gamma$ -selüloz denilmektedir. Selüloz, yosunlardan ağaçlara kadar bütün bitki hücrelerinin ana yapısal elemanını oluşturan ve yeryüzünde en çok bulunan organik bileşiktir. Yaklaşık olarak her yıl 100 trilyon kg selüloz oluşmaktadır. Selüloz bitkilerde karbondioksit ve suyun fotosentez yolu ile oksijen ve karbonhidratlara dönüşmesi ile oluşur. Bazı bakteri, mantar, yosunlar, tek hücreli bitkiler ve hayvanlar tarafından da sentezlenebilir. Pamuk ve orman ürünleri selüloz bakımından en zengin olan maddelere örnek olarak gösterilebilir. Selüloz bunun yanında bitki ve ağaçlarda hücre çeperlerinin ve baklagil tohumlarının, meyvelerin dış kabuklarının büyük kısmını oluşturur. En basit karbonhidrat birimlerinden olan glukoz, selülozun önemli ara ürünlerinden biridir. Glukoz  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  formülüne sahip 6 karbonlu aldoheksoslardandır. Birbirini izleyen glukoz molekülleri 1. ve 4. karbonlarının glukozid bağı ile bağlanması sonucu selüloz molekülünü oluştururlar. Her bir selüloz molekülünün moleküler ağırlığı 300000 ile 500000 arasında değişir. Kapalı formülü  $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ 'dir [39].

### 1.3. NANOSELÜLOZ

Nanoselüloz mikro fibrilleştirilmiş selüloz (MFC), nanokristalin selüloz (NCC) ve bakteriyel nanoselüloz (BNC) olmak üzere üç farklı tipte üretilmekte ve bu ürünler farklı boyutlarda olup, farklı özellikleri ve farklı üretim metotlarını kapsamaktadırlar (Çizelge 1.1).

BNC *Gluconacetobacter (Acetobacter xylinum)* türü aerobik bir bakteri türünden elde edilmektedir. BNC diğer iki nanoselüloz türünden farklı olarak "biyoteknolojik build-up" yöntemleriyle elde edilmektedir. MFC ve NCC ise mikrofibriler materyalleri ayırmak ve izole etmek için doğal liflerin delaminasyonu ile elde edilmektedirler. Lifler ise odun ve

odun bazlı hammaddelerde birbirlerine sıkı bir şekilde bağlanmakta ve bu yapıyı dağıtmak ancak iki şekilde mümkün olabilmektedir.

1. Kuvvetli asidik koşullarda hidroliz
2. Homojenizatör (fluidizer) yardımıyla mekanik parçalama

Çizelge 1.1. Nanoselüloz türleri [2]

Nanoselüloz türü	Literatürde karşılaşılan diğer isimleri	Elde edilen kaynak	Formasyon ve ortalama boyutları
Mikro fibrilleştirilmiş selüloz (MFC)	Mikro fibrilleştirilmiş selüloz, selüloz nanofibrilleri, nano fibrilleştirilmiş selüloz, nanofibriler selüloz ve mikrofibriller	Odun, şeker pancarı, patates, kenevir ve keten	Kimyasal veya enzimatik muamele öncesi ve/veya sonrasında odun hamurunun mekanik bir etki sonucu delaminasyonu (parçalanması) Çap:5-60 nm Uzunluk:birkaç µm
Nanokristalin selüloz (NCC)	Selüloz nanokristalleri, kristalitler, selüloz nanokristalitleri (whisker) ve çubuk benzeri selüloz mikrokristalleri	Odun, pamuk, kenevir, keten, buğday sapı, dut kabuğu, hasır ve bakteri veya yosun bazlı selüloz	Selülozun asit hidrolizi Çap: 5-70 nm Uzunluk: 100-250 nm (bitkisel selüloz) 100 nm-birkaç µm (ve bakteri veya yosun bazlı selüloz)
Bakteriyel nanoselüloz (BNC)	Bakteriyel selüloz, mikrobiyal selüloz ve biyoselüloz	Düşük moleküler şeker ve alkoller	Bakteriyel sentez Çap: 20-100 nm

Birinci işlem kuvvetli asidik koşullar altında gerçekleşmekte olup, asit özellikle liflerin kristal olmayan bölgelerine etki etmekte ve böylece selüloz zincirinin polimerizasyon derecesi (DP) düşürülmektedir. Asit hidrolizinde daha çok hidroklorik asit (HCl) kullanılmakta ve üretilen ürün mikrokristalin selüloz (MCC) olarak isimlendirilmektedir. Hidroliz işleminde ayrıca sülfürik asitte (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) kullanılabilmekte olup, kullanılan bu asit selüloz üzerinde sulfat ester gruplarının oluşmasına neden olmakta bu ise liflerin ayrımını ve stabilizasyonu kolaylaştırıcı bir rol oynamaktadır [41], [42]. Asit hidrolizini takiben materyal sonikasyon olarak isimlendirilen ses dalgalarının etkisine maruz kaldığında yapı parçalanmakta, lifler birbirinden ayrılmakta ve elde edilen ürün selüloz kristalitleri, selüloz nanokristalitleri veya nanokristalin selüloz (NCC) olarak isimlendirilmektedir. Elde edilen bu ürün kristalin olmayan alanların degradasyonu nedeniyle yüksek kristallik derecesine sahip olup, nispeten düşük en boy oranına sahiptir [42], [43]. Düşük en boy oranı sıvı ortamlarda kiral nematik fazların hazırlanmasında

yararlı olmakta [43], [44] ancak nispeten mekanik özellikler bakımından zayıf jellerin oluşumuna sebebiyet vermektedir.

İkinci işlemde ise lifler yüksek basınçlı homojenizatörler yardımıyla birbirinden ayrılmakta olup, elde edilen ürün mikro fibrilleştirilmiş selüloz (MFC), nano fibrilleştirilmiş selüloz (NFC) veya basitçe nanoselüloz olarak isimlendirilmektedir [45], [46]. Elde edilen ürün kristalin olmayan amorf bölgelerin önemli bir kısmının bozunmadan kalması sebebiyle NCC'ye nazaran daha düşük DP derecesine sahiptir. Bunun dışında yüksek DP ve en boy oranına sahip MFC'ler liflerin daha yüksek oranda bağlantı oluşturabiliyor olması sebebiyle daha güçlü jellerin üretimine imkan vermektedir. Bu yöntemle üretilen ürünlerdeki en büyük sorun ise yüksek enerji tüketimidir.

### 1.3.1. MFC Üretimi

Son yıllarda yürütülen çalışmalar MFC'nin üretim yöntemlerinden daha çok üretilen materyalin uygulama alanları üzerinde yoğunlaşmıştır. Ancak üretim yöntemleri üzerinde yapılan birçok çalışmada ise kullanılan ön muamele yöntemlerinin enerji tüketimini ciddi bir şekilde düşürdüğü belirlenmiş olup [47] (<1 MWh/t), karboksimetilasyon [48], mekanik/enzimatik muamele [49], [30] TEMPO oksidasyonu (2,2,6,6-tetrametil 1-1-piperidinyloxy) [50], [51], 2,3-epoksipropil trimetilamonyumklorit katyonizasyonu (EPTMAC) [52] ve persülfat oksidasyonunun yanında oksidatif/geçiş metal iyonlarının kombinasyonu [53], [54] gibi ön muamele yöntemlerinin MFC üretiminde olumlu sonuçlar verdiği ortaya konmuştur. Homojenizatör kullanılarak MFC üretiminde yürütülen çalışmalarda ise yüksek basınçlı homojenizatör [46], [55], [56], mikrofluidizers [49], [13], [57], süper öğütücü/rafinör tipi sistemler [58], [59], dövme+sürtme+homojenleştirme kombinasyonları [60], [61], high shear/cryocrushing konfigürasyonları [62], [63], ball mill sistemleri [64], [65], sıkıştırıcı mikserler [66] ve ultrasonifikasyon [67] sistemleri son yıllarda yürütülen birçok çalışmada denenmiştir. Günümüzde en çok kullanılan homojenizatörler ise yüksek basınçlı homojenizatörler ve mikrofluidizerlar olarak dikkat çekmektedir [68]. Üretimde yüksek enerji tüketiminden kaynaklı maliyetleri düşürmenin yolu homojenleştirme işlemini öncesinde veya sonrasında bir kısım muamele işlemleriyle kombine etmekten geçmektedir [69].

MFC üretiminde kullanılan en önemli selüloz kaynağı şüphesiz odun materyalidir. Bunun dışında mısır, buğday, pirinç, sorgum, arpa, şeker kamışı, ananas, muz ve patates gibi odun dışı bitkilerin özellikle yan ürünleri doğal lif kaynağı olarak kullanılabilir. [69].

Odun dışı bitkiler oduna nazaran daha az lignin içerdiklerinden dolayı ağartma işlemine gerek kalmaksızın MFC üretimi için kullanılabilirler [68]. Öte yandan bu hammaddelerin primer çeperinde yer alan selüloz mikrofibrilleri odunun sekonder çeperinde yer alan mikrofibrillere nazaran daha az sıkı bağlantı oluşturmakta dolayısıyla MFC üretimi için daha az enerji gereksinimi ortaya çıkarmaktadırlar [70]. Bunun dışında bu hammadde kaynaklarının yan ürünleri yakacak olarak değerlendirilmekte ya da düşük değerli hayvan yiyeceği olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu hammadde kaynaklarının MFC üretiminde değerlendirilmesi çevresel açıdan da ayrıca bir önem taşımaktadır. Şimdiye kadar yapılan birçok çalışmada MFC üretiminde soya kabuğu ve buğday sapı [71], şeker kamışı [70], [24], [72], patates [73], sarı şalgam kökü [74], bagasse (küspe) [75], sisal [76], kaktüs [77], armut suyu [78], muz atıkları [79], havuç [80] ve bambu [81] gibi odun dışı hammadde kaynaklarının ve bunların yan ürünlerinin değerlendirildiği gözlemlenmiştir.

Lignoselülozik materyallerden MFC üretiminde asıl amaç yapıda var olan lignini uzaklaştırmaktır. Ancak elde edilen son materyal uygulanan üretim yöntemine ve hammadde kaynağına bağlı olarak bir kısım atık hemiselülozları da yapısında ihtiva etmektedir [82]. Elde edilen son üründe hemiselülozların olması içerdikleri karboksilik gruplar dolayısıyla liflere negatif yük katmakta ve bu durumda lifler arasında oluşan itme etkisiyle liflerin kümelenmesini önlemektedir. Dolayısıyla hemiselüloz içeren MFC'ler ek bir dispersiyon işlemi gerektirmekte, aksi halde sıvı ortamda birbirinden ayrılmamış MFC lifleri kalitesi düşük son ürünün elde edilmesine sebebiyet vermektedir [83].

### **1.3.2. Hücre Çeperinin Delaminasyonu**

Lignoselülozik materyallerden elde edilen hamur lifleri kullanılan hamur üretim ve ağartma metoduna bağlı olarak yapılarında var olan karboksilik grupların ve sülfonik asit gruplarının etkisiyle negatif yükü yüklenmiş durumdadırlar. Liflerde ozmatik şişmeye (liflerdeki OH<sup>-</sup> gruplarının H<sub>2</sub>O'ya bağlanması) ek olarak yapılarında var olan elektriksel negatif yükler arasındaki itme etkisi sonucunda ekstra bir şişme etkisi söz konusu olmaktadır. Odun liflerinin hücre çeperi tabakalardan oluşmuştur ve lifler şiştiğinde tabakalar birbirinden ayrılmaktadır. Şişme oranı lif çeperi içerisindeki elektriksel yükün büyüklüğüne ve çeper yapısı içerisindeki bağlantı kuvvetlerine bağlıdır. Scallan ve Tigerström [84] basit bir metotla elektriksel yükün lifi nasıl şişirdiğini formülüle etmişlerdir.

$$P_{\text{şişme}} = RT \frac{n_c}{V}$$

$P_{\text{şişme}}$  şişme oranını ( $N/m^2$ ),  $n_c$  negatif yüklerin molekül ağırlığını ( $mol/g$ ) ve  $V$  ise hücre çeperinin sıvı hacmini ( $m^3/g$ ) ifade etmektedir.

Bazı durumlarda ise lif çeperi polielektrolit bir jel olarak tanımlanabilir ve düşük pH'ta jelin elektrolit konsantrasyonunun artması, elektrostatik titreşimi ve lifin şişmesini azaltmaktadır. Bu durumda pozitif yüklü iyonlar lifin şişmesi üzerinde oldukça etkili olmaktadır. Negatif yüklü life +1 (monovalent) yüklü bir iyon (örneğin sodyum) geldiğinde şişme maksimumdur, +2 (divalent) yüklü bir iyon (örneğin kalsiyum) geldiğinde şişme daha azdır, +3 (trivalent) yüklü bir iyon (örneğin alüminyum) geldiğinde ise şişme en azdır. Katyonik polimerler de moleküler ağırlıkları hücre çeperine girecek kadar küçükse liflerin şişmesini azaltmaktadır. Öte yandan lignin içeren odun hamurların şişmesi ligninin üç boyutlu yapısı ve hücre çeperini birarada tutması dolayısıyla daha düşüktür. Hamur üretim işlemlerinde uygulanan pişirme ve ağartma metotları hamur verimini azaltırken lignini yapıdan uzaklaştırmakta ve böylelikle hücre çeperinin sertliğini azaltmakta; ayrıca ortamdaki elektriksel yüklü grupların sayısını artırarak hücre çeperinin elektriksel yük yoğunluğunu artırmaktadırlar. Artan elektriksel yük yoğunluğu ise liflerin şişmesini artırıcı rol oynamaktadır [85]. Hamur veriminin belli bir değer altına düşmesi ise liflerin şişmesini azaltmaktadır. Swerin ve Wågberg [85] yaptıkları çalışmalarda belli bir verimde maksimum şişme olduğu gözlemlenmiştir.

Bahsedilen tüm bu bilgiler doğrultusunda daha güçlü bir life nazaran, şişmiş zayıf bir liften MFC üretiminin daha kolay olduğu görülmektedir. Yani yüksek oranda elektriksel yük içeren liften MFC üretmek daha kolaydır. MFC üretiminde dövme etkisiyle (homojenizatör) lif çeperinin delaminasyonunun sağlanması bu noktada önem arz etmektedir. Lignoselülozik materyallerin yapısında var olan hemiselülozların dövme etkisini artırdığı ve buna bağlı olarak MFC üretimindeki ilk çalışmaların sülfite hamurları üzerinde yoğunlaştığı belirtilmektedir [13]. Karboksimetilasyon yöntemiyle elde edilen hamur lifleri ise yapılarında daha fazla miktarda karboksil grupları içermekte ve bu yapılar hamurun dövülmesini kolaylaştırmakta ve böylelikle liflerin elektriksel yük yoğunluklarını artırmaktadırlar. Walecka [86] yaptığı çalışmada elektriksel yük miktarının artmasının liflerin şişmesini artırdığını ve liflerin dövme sonucu daha kolay fibrillendiğini ortaya koymuştur.

Lignine ek olarak hücre çeperi içerisindeki selülozun fibriler yapısı da lifin şişmesini azaltabilmektedir. Dövme etkisiyle fibriler yapı zarar görmekte, fakat lif çeperi içerisindeki yapı tam olarak dağıtılamadığından ötürü lifin şişmesi çok fazla olmamaktadır [87]. Bu yapının tamamen dağılması ise kimyasal veya enzimatik bir etkiyle mümkün olabilmektedir.

### 1.3.3. Nanoselülozun Boyutları ve Kristallinitesi

MFC üretiminde elde edilen son materyal kullanılan selülozik hammadde kaynağına bağlı olarak (uzunluk, mikrofibril açısı, kalıntı hemiselüloz ve lignin miktarı gibi) farklı özellikler göstermektedir. Farklı üretim metotlarına bağlı olarak elde edilen MFC'ler benzer morfolojik özellikler göstermekle birlikte çap ve uzunluk gibi boyutsal özelliklerinde farklılıklar gözlemlenmektedir. Çizelge 1.2'de odun hammaddesi kullanıldığında mekanik (homojenleştirme)+ön muamele işlemleri sonrasında elde edilen son MFC ürününün çap değerleri verilmiştir.

Çizelge 1.2 genel olarak incelendiğinde ön muamele yöntemlerinin nanoselüloz boyutları üzerinde etkin olduğu gözlemlenmektedir. Fibrillenme sonrası daha geniş MFC liflerinin santrifüj yoluyla elimine edilmesine bağlı olarak bu denli düşük çap değerlerinin (3-5 nm gibi) elde edilebildiği düşünülmektedir.

Odun dışı lignoselülozik kaynaklardan elde edilen MFC'ler oduna nazaran daha yüksek ya da daha düşük boyutlara sahip olabilmektedirler. Hammadde olarak buğday sapı kullanıldığında MFC çapı 10-80 nm iken, soya kabuğundan elde edilen MFC'lerde ise çap değeri 20-120 nm olarak tespit edilmiştir. Öte yandan sisal nanoselülozu 20-65 nm [88], [89], havuç nanoselülozu 3-36 nm [80], şeker kamışı nanoselülozu 30-100 nm [72], [90] ve *Luffa cylindrical* nanoselülozu ise 40-70 nm [91] çap değerleri vermiştir.

MFC üretiminde elde olunan son ürünlerdeki kalıntı hemiselüloz ve lignin miktarı da morfolojik özellikleri etkilemekte olup, lignin içeren MFC'lerde yapılan ölçümlerde çap değerinin kullanılan selülozik hammadde kaynağına bağlı olarak daha geniş olduğu gözlemlenmiştir [92], [93]. Öte yandan hemiselülozlar selüloz nanofibrilleri arasındaki bağlantıyı engellediğinden MFC üretiminde daha küçük boyutlarda nanoselüloz elde edilmesine sebebiyet vermektedirler [71], [83], [94], [95].

Farklı kaynaklardan elde edilen nanoselülozun ultra yapısı (morfolojik yapı) Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM-Transmission Electron Microscope), SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu), Atomik kuvvet mikroskobu (AFM- Atomik Force Mikroskobu),

Geniş açılı x-ışınları saçılımı (WAXS- Wide-angle x-ray scattering), küçük açılı x-ışınları kırınımı (small incidence angle x ray diffraction) veya CP (cross polarization)/MAS (magic angle spinning) Nükleer magnetik rezonans (NMR-Nuclear Magnetic Spectroscopy) gibi cihazlarla belirlenmektedir. Belirtilen tüm bu cihazlarla kuru haldeki nanoselülozun morfolojisi incelenmektedir [96].

Görüntü analizleri ile birlikte uygulanan mikroskopik teknikler nanoselülozlardaki lif genişliğini ölçmede problem oluşturmamakta; ancak lifler arasındaki karışıklık ve bireysel nanoliflerin bitiş (uç) noktaları tam olarak tespit edilemediğinden nonlif uzunluklarını belirlemede birtakım zorluklar yaşanmaktadır [97]. Elde edilen çalışmalar neticesinde nanoselüloz süspansiyonunun selüloz nanofibrilleri ve nanofibril demetlerini içermesine bağlı olarak homojen olmayabileceği tespit edilmiştir [98]. Kuru haldeki nanoselülozun morfolojik özelliklerinin tespit edilmesine ek olarak enzimatik ön muameleye tabi tutulmuş nanolifler süspansiyon halinde cryo-TEM cihazına verilmiş ve nanoliflerin boyut ve boyutsal dağılımı böylece belirlenmiştir [47]. Yürütülen son çalışmalarda AFM ile yapılan ölçümlerde oksidatif ön muamele ile ultrasonifikasyon muamelesinin kombinasyonu ile elde edilen selüloz mikrofibrillerinin yanal boyutlarının 1 nm'nin altında ve kalınlığının 0.4 nm olduğu belirlenmiştir [99].

Çizelge 1.2. Farklı üretim metotları sonrasında elde edilen MFC'lerde çap değerleri.

Mekanik muamele	Ön muamele	Çap (nm)
Homojenizatör	-	20-40 [100], [101]
Öğütücü	-	15-50 [102], [103]
Blender	-	15-20 [104]
	TEMPO oksidasyonu	3-5 [105]
Microfluidizer	-	10-30 [106]
	Karboksimetilasyon	10-15 [90]
	Enzimatik	20-30 [30]

Nanoselülozların genişlikleri SEM ve TEM'e ek olarak İsveç'teki Innventia AB tarafından geliştirilen CP/MAS NMR cihazıyla da belirlenebilmekte olup daha ince nanoliflerin ölçülmesinde daha uygun sonuçlar ortaya koymaktadır. Yürütülen bir çalışmada NMR ölçümleri neticesinde nanoselülozun lif genişliği 5-15 nm ve yük yoğunluğu yaklaşık 0.5 meq/g olarak tespit edilmiştir [49]. Diğer bir çalışmada ise TEMPO oksidasyonu sonrasında elde edilen nanoselülozlarda lif genişlikleri 3-5 nm ve yük yoğunluğu 1.5 meq/g olarak gözlemlenmiştir [107]. Bahsedilen tüm bu bilgiler nanolif boyutları

üzerinde rol oynayan tüm faktörlerin tam olarak bilinmesinin zor olduğuna işaret etmekte olup, kullanılan selülozik hammadde kaynağı yanında üretim yöntemleri arasındaki değişimler dahi morfolojik özellikleri doğrudan etkilemektedir.

### **1.3.4. Nanoselülozun Yapısal Karakterizasyonu**

#### *1.3.4.1. Viskozite (Reolojik) Özellikleri*

MFC'nin sulu süspansiyonları son derece karışık bir network oluşturmakta ve yapay bir jel gibi davranış göstermektedirler [49], [13]. Üretim sırasında süspansiyonun daha fazla sayıda homojenizatörden geçirilmesinin viskoziteyi büyük ölçüde artırdığı tespit edilmiştir [13]. MFC'nin reolojik özellikleri süspansiyon veya emülsiyonlarda (yiyecek, boya, kozmetik ve ilaç sanayinde) kalınlaştırıcı veya stabilizatör olarak kullanımına imkan sağlamaktadır [108], [109].

Öte yandan MFC'nin dinamik reolojik özellikleri detaylı olarak incelenmiş ve %0.125-5.9 nanoselüloz konsantrasyonu aralıklarında elastik modülü (storage modulus,  $E'$ ) ve kayıp-viskoz modülün (loss modulus,  $E''$ ) açısız frekanstan bağımsız olduğu tespit edilmiştir. %3 konsantrasyondaki nanokristalitler (102 Pa) [110] ile karşılaştırıldığında nanoselüloz (104 Pa) [13] daha yüksek elastik modülü vermiştir. Konsantrasyonun %0.125'ten %5.9'a artması durumunda ise elastik modülün  $10^5$  kat şeklinde artış gösterdiği tespit edilmiştir [13].

Nanoselüloz jelleri oldukça yüksek incelme (shear thinning) özelliğine sahip olup, bu özellikleri nedeniyle kaplama üretimi uygulamalarında fazlaca tercih edilmektedirler [13].

#### *1.3.4.2. Polimerizasyon Derecesi ve Mekanik Özellikleri*

Selülozun polimerizasyon derecesi ile nanoliflerin en boy oranı arasında doğrudan ilişki olup, daha uzun liflerin daha yüksek DP derecesine sahip olduğu tespit edilmiştir. MFC üretimi sırasında materyalin homojenizatörden geçirilerek parçalanmaya tabi tutulması DP değerini %30-50 düşürmektedir [13], [28]. Öte yandan DP değeri üretilen MFC'nin çekme direncini de etkilemekte olup, yüksek DP değerinin yüksek çekme direnci gösterdiği gözlemlenmiştir [13].

Kristalin selülozun çekme direnci alüminyuma benzer olarak 500 MPa olarak tespit edilmiştir. Öte yandan kristalin selülozun sertlik değeri (140-220 GPa) plastik üretiminde direnç özelliklerini artırıcı materyaller olarak kullanılan cam lifi ve kevlar ile

karşılaştırılabilir seviyededir. Nanoselülozdan elde edilen filmlerin yüksek direnç (>200 MPa), yüksek sertlik (yaklaşık 20 GPa) ve yüksek gerilme (%12) özellikleri gösterdiği tespit edilmiştir. Direnç/ağırlık oranının ise paslanmaz çeliğin 8 katı olduğu yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir [111].

#### *1.3.4.3. Koruyucu Özellikleri*

Yapılan çalışmalar neticesinde nanoselülozların nispeten yüksek kristallik derecesine sahip olması [97] ve ayrıca yapılarında lifler arası bağlantının oldukça fazla olması sebebiyle bu materyallerin koruyucu (bariyer) materyal olarak kullanılabilmesi [94], [106], [112] ve kristal bölgelerin özellikle gaz sızdırmaz bir yapı sağlayabileceği tespit edilmiştir. Oksijen geçirgenliğinin de oldukça düşük olduğu belirlenmiş olup, 23 °C'de, %0 rutubette 5 µm kalınlığındaki nanoselüloz filmlerinin oksijen geçirgenliği  $0.0006 \text{ cm}^3 \mu\text{m/m}^2 \text{ gün kPa}$  olarak tespit edilmiştir [94]. Diğer bir çalışmada ise poliaktid (PLA) filmlerine nanoselüloz eklendiği durumlarda oksijen geçirgenliğinin 700 kattan daha fazla düşüş gösterdiği belirtilmiştir [106]. Üretilen filmlerin oksijen geçirgenliği üzerinde nanoselüloz film yoğunluğu ve porozitesinin etkisi ise son yapılan çalışmalarda belirlenmeye çalışılmıştır [113]. Oksijen geçirgenliği üzerinde yürütülen diğer bazı çalışmalarda ise bahsedilen bu çalışmalara çelişkili olarak nanoselüloz filmlerinin porozitesinin yüksek olduğu tespit edilmekle birlikte, Aulin [106] kristalin selülozun yoğunluğuna yakın yoğunlukta ( $1.63 \text{ g/cm}^3$ ) [114] nanoselüloz filmleri üzerinde yaptıkları çalışmalarda porozitenin sıfıra yakın olduğunu ortaya koymuşlardır [94].

Selüloz nanopartiküllerinin yüzey işlevselliklerinin değiştirilmesi üretilen nanoselüloz filmlerinin geçirgenliğini etkileyebilmektedir. Öyleki, negatif yüklü selüloz nanokristalitlerinden oluşturulan filmlerin negatif iyonların film içerisine geçirgenliğini azalttığı, pozitif yüklü iyonların membran içerisinde kalmasını sağladığı, nötr iyonlarla ise hemen hemen etkileşmediği belirtilmiştir [115].

#### *1.3.4.4. Nanoselülozun Kuru Formdaki Özellikleri*

MFC'ler sulu solüsyon halinde üretilir ve depolanırlar. Çünkü kurutma sırasında suyun uzaklaşmasına bağlı olarak lifler üzerinde geri dönüşülmez değişiklikler oluşmakta (hornifikasyon) [116] ve lifler topaklanmaktadırlar. Kurutma sırasında komşu lifler arasındaki OH<sup>-</sup> grupları arasında hidrojen bağı oluşmakta ve bu durumda tekrar ıslatılsa bile lifler üzerinde geri dönüşülmez değişiklikler oluşmaktadır [106], [117]. Liflerin bahsedilen bu durumdaki özelliklerinden farklı kuru formlarda NFC üretiminde (aerojel,

film ve toz NFC üretimi gibi) yararlanılmaktadır.

MFC jellerinden dondurarak kurutma tekniği ile su uzaklaştırıldığında esnek, şekil verilebilir ve oldukça gözenekli (250-389 m<sup>2</sup>/g) bir aerojel elde edilmektedir [118]. Üretilen bu oldukça yüksek gözenekli aerojeller ise filtrasyon, kataliz, ilaç taşıyıcı sistemler ve sıvı paketleme ürünlerinde kullanılmaktadırlar [119], [120].

Öte yandan sulandırılmış MFC süspansiyonundan spray kurutma tekniğiyle toz halinde MFC üretilmektedir [121], [122]. MFC'nin kuru halindeki özellikleri filtrasyon [123], [124], döküm [125], [126] veya spin kaplama [102] yoluyla üretilen MFC filmlerinde etkili olmaktadır. Elde edilen bu filmler ise çoğu kez nanofiber kağıt veya nanokağıt olarak ifade edilmektedir [124], [125], [126]. MFC liflerinin çapına bağlı olarak üretilen filmler farklı transparan (saydam) özellik göstermektedirler (%90) [127], [128].

#### *1.3.4.5. İyonik Özellikleri*

MFC'lerin spesifik elektriksel yük özellikleri önem arz etmekte olup, bu özellikleri nanoliflerin hem polielektrolit ve katkı maddeleri gibi diğer yüklü partiküllerle olan etkileşimlerini hem de şişme özelliklerini de etkilemektedir. Nanoselülozların iyonik özellikleri dikkate alındığında liflerin anyonik özellik gösterdiği ve bunun yapılarında var olan hemiselülozlardan kaynaklandığı belirtilmektedir. Ksilan içerisinde yer alan 4-O-metil gluköuronik asit ve pektin içerisinde yer alan galactöuronik asitler yapılarında karboksil grupları içermekte ve bu gruplar lifin negatif yükü yüklenmesine sebep olmaktadır [129], [130]. Ayrıca, lignoselülozik yapı içerisinde yer alan lignin molekülleri de içerdikleri fenolik ve az miktardaki karboksilik gruplar dolayısıyla lifin negatif yükü yüklenmesine katkı sağlamaktadırlar. Öte yandan ekstratif maddelerden biri olan yağ ve reçine asitleri de yapılarında karboksil gruplarını ihtiva etmektedir.

Kraft yöntemiyle hamur üretimi sonrasında bir kısım polisakkarit, lignin ve ekstraktifin yapıdan uzaklaştırılması nedeniyle elde edilen liflerin karboksil içeriği pişirme öncesi odunun içerdiği karboksil içeriğine nazaran daha düşüktür ancak bahsedilen pişirme metodu lignin üzerinde yeni karboksil gruplarının oluşmasına neden olmaktadır. Ayrıca kraft pişirme işlemi sonrası ksilan içerisinde var olan 4-O-metil gluköuronik asit grupları hexenöronik asit (HexA) gruplarına dönüşmekte [131] ve bu yapılar ağartılmamış kraft hamur liflerine ilk anyonik özelliklerini katmaktadır [132]. Delignifikasyon, ağartma ve yıkama işlemleri ise kraft hamurundan kalıntı lignin, ekstratif ve hexenöronik asit gruplarının uzaklaşmasına sebebiyet vermekte dolayısıyla bu işlemler lifin yük

miktarını düşürücü etki göstermektedirler [132]. Bununla birlikte peroksit ağartma işlemi pektinin demetilasyonuna sebebiyet vermekte ve bu durum lifler üzerinde yeni anyonik grupların oluşmasına neden olarak lifin yük yoğunluğunu artırabilmektedir [133]. Peroksitin aynı zamanda ligninin oksidasyonuna neden olarak lifin elektriksel yük yoğunluğunu artırıcı etki gösterdiği belirtilmiştir [134].

Karboksilik gruplarının pKa (hidrojen iyonlarını kabul etme yeteneğinin bir ölçüsü olan asidik iyonlaşma sabitesinin negatif logaritması olarak tanımlanan ve bir asit veya bazın nispi gücünü gösteren değer) değeri 3-5.5 [135] arasında olmakla birlikte nanoselüloz içeren film veya jellerde bu değer daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [136]. Selülozik partiküller anyonik özellikleri, küçük boyutları ve yüksek en boy oranları dolayısıyla polielektrolitiktirler ve polielektrolit bir jel gibi hareket ederler [137].

Direnç özelliklerini artırmak amacıyla anyonik özellik gösteren nanoselülozların kağıt üretiminde kullanılması durumunda ise bu materyallerin kağıt liflerine tutunmasını kolaylaştırmak amacıyla katyonik nişasta (CS) ve katyonik poliakrilamid (C-PAM) kullanılabilir [138], [139]. Sulu süspansiyon içerisinde anyonik yüklerin olması durumunda CS ve C-PAM yüksek adsorbsiyon ve kümelenme eğilimi gösterirler. CPAM'ler sentetik makromoleküllerdir ve dallanmış veya lineer formda bulunabilirler. Katyonik monomerlerin kopolimerizasyonu ve/veya ilk poliakrilamid zincirinin modifikasyonu ile katyonize olmuşlardır. CPAM'lerin molar kütlesi  $10^5$ - $10^7$  g/mol olup, hidrodinamik çapları 280-800 nm arasında değişebilmektedir [140]. CS ise kağıt üretiminde kuru direnç artırıcı kimyasal olarak uzun süredir kullanılmaktadır [139]. CS direnç özelliklerini artırmanın yanında nanoselülozların liflere tutunmasını sağlamak amacıyla da kullanılabilir böylelikle lifler arası bağlantı miktarı da artırılabilir. CS oldukça dallanmış moleküler bir yapıya sahip olmakla birlikte yapısında amiloz ve amilopektin gruplarını içermektedir. CS'ların molar kütlesi  $10^5$ - $10^9$  g/mol olup [141], hidrodinamik çapları 100-200 nm [142] arasında değişebilmektedir.

### **1.3.5. MFC'nin Kullanım Alanları**

#### *1.3.5.1. Kağıt Üretimi*

Kağıt üreticileri artan hammadde ve üretim maliyetleri düşürmek ve daha yüksek direnç özelliklerine sahip, son kullanım yerine uygun kağıtlar üretebilmek amacıyla, yürütülen yenilikçi çalışmaları yakından takip etmektedirler. Son yıllarda kağıt üretiminde nanoteknolojik çalışmalara önem verilmiş olup, nanoselüloların liflere katılmasıyla veya

doğrudan nanoselüloz kullanılarak elde edilen kağıt özellikleri tespit edilmeye çalışılmaktadır.

Kuru haldeki bir kağıtta bireysel lif, lifler arasındaki bağlantıya nazaran daha dirençlidir. Yani tek bir lifi koparmak zorken, iki lifi birbirinden ayırmak daha kolaydır. Yaş haldeki bir kağıtta ise bu durum belli bir noktaya kadar geçerli olup, liflerin şişmesine bağlı olarak lifler arası bağlantının da giderek zayıfladığı belirtilmektedir. MFC küçük boyutta olması ve geniş yüzey alanına sahip olması dolayısıyla kağıt üretiminde kullanıldığında lifler arası bağlantının artırılmasına destek olmaktadır [143]. Öte yandan anyonik karakterdeki MFC'ler CS ve C-PAM gibi katyonik maddelerle desteklendiğinde liflere tutunmaları daha kolay olmakta ve böylelikle lifler arası bağlantı sayısı artırılarak daha dirençli kağıtların üretimi mümkün olabilmektedir. Kağıt üretiminde MFC kullanımının kağıdın fiziksel [144], [145] ve mekanik direnç özelliklerini [46], [59], [111], [146], [68] olumlu yönde etkilediği belirtilmektedir. Henriksson [124] nanofibrillenmiş selülozlardan oldukça yoğun ( $1-1.2 \text{ g/cm}^3$ ) nanokağıtların üretilebildiğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca elde edilen kağıtların oldukça yüksek mekanik özellikler gösterdiğini ve elastikiyet modülünün 10-14 GPa ve çekme direncinin 130-214 MPa arasında değişim gösterdiğini belirtmişlerdir. Elde edilen bu değerlerin geleneksel yöntemlerle elde edilen kağıtlara nazaran 2-5 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

MFC 'nin kağıt üretiminde kullanılması durumunda bahsedilen bu küçük ve geniş yüzey alanına sahip yapılar ile lifler arasında hidrojen bağları oluşturularak lifler arası bağlantı sağlanmakta ve böylece kağıdın su tutma özelliği artırılmaktadır. Öte yandan süzme işlemi sırasında oluşabilecek hava kabarcıklarına nanoselülozlar liflere nazaran daha kolay yapışabilmekte böylece dranaaja karşı daha dirençli bir yapı oluşturmaktadırlar [147].

Bununla birlikte selülozik liflerin sertliği (roughness) lifler arasındaki direkt bağlantıyı olumsuz yönde etkilemektedir. Lifler arasında hidrojen bağı olabilmesi için gerekli mesafe 0.27-0.3 nm iken, fibrilleşmemiş lif yüzeyleri arası mesafe onlarca nanometreyi bulabilmektedir [148]. Dolayısıyla lifler arası bağlantıyı sağlayabilmek amacıyla liflerin dövme etkisiyle fibrillenmesi gerekmektedir. Böylesine bir etkiyle lif yüzeyinden nanofibriler demetlerin yayıldığı gözlemlenmektedir. Yeterli uzunluktaki nanofibriler lifler arası boşlukları doldurarak hidrojen bağı sayısını artırmakta ve daha dirençli bir kağıt üretimine imkan tanımaktadırlar.

#### *1.3.5.2. Kompozit Üretimi*

Nanoselülozlar kuru haldeki kompozitlerin viskozite ve mekanik özelliklerini artırmak amacıyla akrilik veya diğer lateks gibi suda çözülebilir polimer solüsyonlarına farklı oranlarda karıştırılarak kullanılabilirler. Yapılan çalışmalar neticesinde kompozit üretiminde nanoselüloz kullanımının mekanik özellikleri artırmanın [149], [150], [151] yanında biyobozunurluğu da hızlandırdığı belirlenmiştir [152].

#### *1.3.5.3. Yiyecek*

Nanoselülozlar düşük kalorili ürünler olarak hali hazırda kullanılan birçok karbonhidrat ürünü yerine ezme, sos, gofret, puding, cips vs. gibi yiyeceklerin üretiminde kullanılabilirler. Nanoselüloz jelleri reolojik özellikleri nedeniyle son yıllarda bu sektör içinde oldukça sık bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır [112].

#### *1.3.5.4. Hijyen ve Emici Ürünler*

Nanoselülozlar bu sektör içinde süper emici polimerlerle birlikte su emici özellikleri dolayısıyla kullanılmaktadırlar. Nanoselülozlar inkontinans pedlerinin üretiminde, yetişkin bezleri, ıslak mendil, tek kullanımlık havlu, tek kullanımlık terlik ve ayakkabı, cerrahi önlük, maske, bone, cerrahi örtü ve kapak, sedye örtüsü, yaka altı keçe, halı ve drenaj sistemleri gibi birçok alanda kullanım alanı bulabilmektedir [112].

#### *1.3.5.5. Tıp, Kozmetik ve Ecza Sanayi*

Dondurarak kurutulmuş nanoselülozlardan elde edilen arojeller oldukça gözenekli yapıya sahip olmaları dolayısıyla bebek bezi, pansuman bezi ve hijyenik bez üretiminde kullanılmaktadırlar. Bundan başka lökosit tutucu kan transfüzyon filtresi üretiminde, fotoreaktif zararlı maddeleri uzaklaştırıcı materyal olarak, kırılan kemiklerin yeniden ve daha sağlam yapılanmasında ve bağırsak enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan tabletlerin dış kısmındaki kapsüllerin üretiminde kullanılmaktadırlar. Elastik soğuk yapılandırılmış jeller ise biyomedikal ve biyoteknoloji uygulamalarında değerlendirilmektedirler. Eczacılıkta ise toz haline getirilmiş nanoselülozlar yardımcı materyal olarak kullanılırlar. Kozmetik sanayinde ise nanoselülozlardan saç, kirpik, kaş ve tırnak boyalarının üretiminde faydalanılmaktadır [153]. Ayrıca BNC'lar yüksek hidrasyon derecesine sahip oldukları için (%99 su) nemlendirme maskesi ve nemlendirici kremlerin üretiminde kullanılabilirler. BNC'lar nano-implant üretiminde, bandaj, doku, hidrojel ve diğer bazı materyallerin üretiminde de kullanılabilirler [154].

### *1.3.5.6. Köpük Üretimi*

Nanoselülozlar aerojel veya köpük eldesinde kullanılabilirler. Nanoselüloz bazlı köpüklerin polistren bazlı köpüklerin yerine ambalajlama sahasında değerlendirilmesiyle ilgili olarak çalışmaların sürdüğü gözlenmektedir. Zimmerman [28] nişasta esaslı köpüklere dondurarak kurutma yöntemiyle nanoselüloz ilave edildiğinde elde edilen köpüklerin daha yüksek direnç özelliklerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Nişasta esaslı köpüklerde odun bazlı hamur lifleri yerine nanoliflerin kullanımı köpük içerisindeki ince hücreleri desteklemekte ve böylelikle daha kuvvetli malzemelerin üretilmesi mümkün olabilmektedir. Bunun dışında farklı dondurarak kurutma ve süper kritik CO<sub>2</sub> kurutma teknikleri kullanılarak sadece nanoselüloz içeren aerojellerin üretimi de mümkün olabilmektedir [155], [156]. Öte yandan selüloz nanokristallerinin de aerojel üretiminde kullanıldığında ve yüksek yüzey alanı (>600 m<sup>2</sup>/g) ve kurutma sırasında daha düşük daralma (%6.5) gösterdikleri belirtilmiştir [112]. Dondurarak kurutma tekniğiyle farklı konsantrasyonlarda nanoselüloz eklenerek elde edilen aerojellerin yoğunluk ve yüzey özellikleri incelenmiş ve üretilen aerojeller florlanmış silan ile kaplanarak polar olmayan sıvı/yağlara karşı ıslanabilirlik özellikleri artırılmaya çalışılmıştır [157]. Ayrıca glukonobakter türlerinden elde edilen nanoselülozların aerojel üretiminde kullanılması durumunda daha gözenekli (>%98 hava) köpüklerin elde edildiği belirtilmiş olup, elde edilen bu materyallerin farklı kullanım amaçlı membran veya nanokağıt üretiminde değerlendirilebileceği ortaya konmuştur [158].

### *1.3.5.7. Diğer Uygulama Alanları*

Farklı çözücülerde selülozun aktif şekilde çözünmesinde ve tütün filtrelerinin üretiminde nanoselülozlar kullanılabilir. Ayrıca selüloz nanokristalleri kuartzınki ile karşılaştırıldığında piezoelektrik özellik gösterir ve fotonik özelliklere sahiptir. Dolayısıyla pillerin, süper kapasitörlerin, biyoplastiklerin, elektroniklerin kullanımında ve bunların yanında kompozitlerdeki yapısal malzemelerin, filmlerin veya kaplamaların kullanımında da nanoselüloz bulunabilir. Bundan başka, taşıyıcı materyallerin güçlendirilmesinde, membranlı hoparlörlerin üretiminde, yüksek akışkanlı membranların üretiminde, esnek elektronik ekranların üretiminde, bilgisayar elemanlarının üretiminde, hafif vücut zırhlarının ve balistik camlarının üretimlerinde de nanoselülozların kullanıldığı belirtilmiştir [159]. Öte yandan oldukça yakın zamanda yapılan çalışmalarda nanoselüloz kristalin adı verilen ve ağaçlarda bulunan maddenin vücuttaki serbest radikallerin etkisini yok ettiği ve yaşlılığı geciktirmek için kullanılabileceği

belirtilmektedir [160]. Karbon nano-parçacıklarıyla bu maddeyi kimyasal olarak bağlayarak elde edilen yeni madde, serbest radikalleri nötralize eden bir elektrik süpürgesi gibi hareket etmektedir. Ayrıca nanoselülozun toksik olmadığı, dayanıklı, suda çözülebilir ve ağaçlardan elde edilmesi sayesinde yenilenebilir olduğuna işaret edilmektedir [105].



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. HAMMADDE TEMİNİ

Çalışma kapsamında hızlı gelişen okaliptüs türlerinden biri olan *Eucalyptus camaldulensis* (kırmızı okaliptüs) odunu ana hammadde kaynağı olarak kullanılmıştır. *E. camaldulensis* Mersin-Tarsus Orman İşletme Müdürlüğü Karabucak İşletme Şefliği'nde bulunan deneme alanından temin edilmiştir (Rakım: 5 metre, ağaç yaşı:16). Alınan tomruklar önce 3.5 cm kalınlığındaki disklere ayrılmış ve kabukları elle soyulduktan sonra örnekler Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Endüstri Mühendisliği Bölümü örnek hazırlama laboratuvarında 15-20 mm uzunluğunda, 1.5-2 mm kalınlığında ve 20-25 mm genişliğinde olacak şekilde bıçak yardımıyla yongalanmıştır. Yongalar hava kurusu hale getirildikten sonra rutubet miktarları belirlenerek her bir pişirme işlemi için 500 g (fırın kurusu) olacak şekilde yonga numuneleri paketlenmiştir.

### 2.2. LİF ÜRETİMİ VE AĞARTMA

Bu amaç doğrultusunda *E. camaldulensis* odun yongalarından kraft metoduyla lif üretimleri gerçekleştirilmiştir. Lif üretimleri 15 L kapasiteli, elektrikle ısıtılan, 25 kgf/cm<sup>2</sup> basınca dayanıklı ve otomatik kontrol tablosu ile sıcaklığı termostatlı olarak kontrol edilebilen laboratuvar tipi döner kazanda yapılmıştır. Üretim literatürde *E. camaldulensis* için optimum olarak tespit edilen [8]aktif alkali oranı %18, sülfidite oranı %28, maksimum sıcaklık 150 °C, maksimum sıcaklığa çıkış süresi 30 dak., maksimum sıcaklıkta pişirme süresi 150 dak. ve çözelti/yonga oranı 5/1 olarak alınmıştır. İşlem sonrasında elde edilen materyal, 150 mesh'lik elek üzerinde bol su ile siyah çözelti uzaklaşmaya kadar yıkanmış ve laboratuvar tipi disintegratörde 10 dak. süreyle açılıp, yarık açıklığı 0.15 mm olan sarsıntılı vakum eleğinde elenerek (TAPPI T 275 sp-02) liflenmeyen kısımlar ayrılmış ve elenme sonrası verim ve atık oranları (TAPPI T 210 cm-03) tespit edilmiştir.

Elde edilen lifler ECF (elementel chlorine free-klorsuz) ağartma işlemlerinden biri olan, ODEP (oksijen-klordioksit-alkali-peroksit) ağartma işlemine tabi tutulmuştur. Oksijen delignifikasyonu %10 hamur yoğunluğu, %2 NaOH (fırın kurusu hamur), %0.5 MgSO<sub>4</sub> (fırın kurusu hamur) ve 6 kgf cm<sup>-2</sup> O<sub>2</sub> basıncında 15 L'lik reaktör içerisinde 90 °C'de 60 dak. süresince gerçekleştirilmiştir. Klor dioksit ağartmasında ise (D) 10 g hamur (fırın

kurusu) 100 mL %1 ClO<sub>2</sub> ve 3 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (%98) solüsyonuyla su banyosunda 60 °C'de 60 dak. muamele edilmiştir. Alkali ekstraksiyonu (E) kademesinde lifler 100 mL %2 NaOH ile 15 L'lik reaktör içerisinde 60 °C'de 60 dak. muamele edilmiştir. Peroksit ağartma kademesi (P) ise %10 hamur yoğunluğu, %4 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (fırın kurusu hamur), %1.5 NaOH (fırın kurusu hamur), %0.5 silika (fırın kurusu hamur), %0.1 MgSO<sub>4</sub> (fırın kurusu hamur) kullanılarak 15 L'lik reaktör içerisinde 105 °C'de 120 dk. süresince gerçekleştirilmiştir. Ağartma işlemi tamamlandıktan sonra lifler 100 mL saf su ile 60 °C'de 60 dak. süresince yıkanmış ve sonrasında distile su ile yıkama işlemine devam edilmiştir.

Ağartma işlemi öncesi ve sonrasında liflerin viskozite (SCAN-CM 15-62) ve kappa numaraları (TAPPI T 236 om-99) tespit edilerek ağartma işleminin lignin ve polisakkarit yapısı üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Viskozite ölçümlerinde 9 g tam kuru hamur tartılarak 400 ml'lik behere konulmuş, üzerine 9 g sodyum klorit (NaClO<sub>2</sub>) (%100'lük), 3 g sodyum asetat, 6 g asetik asit, 200 ml destile su, 1 damla formik asit ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 16-18 saat bekletilmiş, sürenin bitiminde watman 4 nolu kağıt üzerinde süzülerek saf su ile iyice yıkanmıştır. Daha sonra ağartılmış hamurun rutubeti belirlenerek viskozite ölçümüne geçilmiştir. Viskozite ölçümünde tam kuru 0.1 g hamur alınmış, üzerine 10 mL saf su, 10 ml bakır etilen diamin eklenerek viskozite ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Viskozite ölçümlerinde Düzce Üniversitesi Merkez Laboratuvarında bulunan Fungilab Expert-1 Viskozimetre cihazı kullanılmıştır (Spindle: L1, Tork: 15-40 N/m<sup>2</sup>, Dönme Hızı: 200 rpm, Sıcaklık: 21.5 °C).

Ağartılmış kraft hamur lifleri **H1** olarak kodlandırılmış ve bu liflerin morfolojik ve yapısal (SEM), viskoelastik (Reometre) ve kimyasal (HPLC, NMR ve FTIR) özellikleri belirlenmiştir.

## 2.3 MFC ve NFC ÜRETİMİ

### 2.3.1. Mekanik Liflendirme

Ağartılmış kraft hamur lifleri Waring Blender [161] ile mekanik olarak liflendirilmiştir. Liflendirme işlemi %2 (w/w) hamur konsantrasyonunda 10 dakikada gerçekleştirilmiştir.

Mekanik liflendirme sonrasında elde edilen lifler **H1M** olarak kodlandırılmış ve bu liflerin morfolojik ve yapısal (SEM), viskoelastik (Reometre) ve kimyasal (HPLC, NMR ve FTIR) özellikleri belirlenmiştir.

### 2.3.2. Enzimatik Muamele

Mekanik liflendirme sonrasında elde edilen lifler selüloz ve hemiselüloz enzimleriyle muamele edilmiştir. Bu bağlamda her bir enzim uygulaması 50 g (fırın kurusu) lif 2.5 L fosfat tamponunda (%2 w/w konsantrasyonda) 50 °C'de 2 saat (ph 7) süreyle sıcak su banyosunda muamele edilmiştir. Fosfat tamponu 11 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 9 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> kullanılarak hazırlanmıştır. Hemiselüloz Pulpzyme HC enzimi 0, 25, 100 ve 250 AXU/g ve selüloz Celluclast 1.5 L enzimi 0, 2, 5, 10 EGU/g ve konsantrasyonlarında hazırlanarak %2 w/w konsantrasyondaki lifler ile muamele edilmiştir. Muamele süresince her 30 dakikada bir örnekler karıştırılmış ve işlem sonunda örnekler saf suyla yıkanmıştır. Enzimatik muameleyi sonlandırmak için örnekler 80 °C'de 30 dak. sıcak su banyosunda muamele edilmiştir. Süre sonunda hamurlar saf suyla tekrar tekrar yıkanmıştır.

4 Farklı konsantrasyonlarda gerçekleştirilen enzim muamelesine bağlı olarak hemiselüloz enzim muamelesine tabi tutulan numuneler **H1ME1, H1ME2, H1ME3 ve H1ME4** olarak ve selüloz enzim muamelesine tabi tutulan numuneler ise **H1ME5, H1ME6, H1ME7 ve H1ME8** olarak kodlandırılmıştır. H1ME1 ve H1ME5 numuneleri ise her iki enzim türü için 0 AXU/g veya 0 EGU/g'ı ifade etmekte olup, bu numuneler aslında H1M (enzimatik muameleye maruz kalmamış) ile aynıdır.

Herbir enzim muamelesi sonrasında liflerin morfolojik ve yapısal (SEM), viskoelastik (Reometre) ve kimyasal (HPLC, NMR ve FTIR) özellikleri belirlenmiştir.

### 2.3.3. Mekanik Liflendirme

Enzim muamelesi görmüş lifler daha önce belirtilen şartlar altında Waring Blender yardımıyla mekanik olarak ikinci kez tekrar liflendirilmiştir.

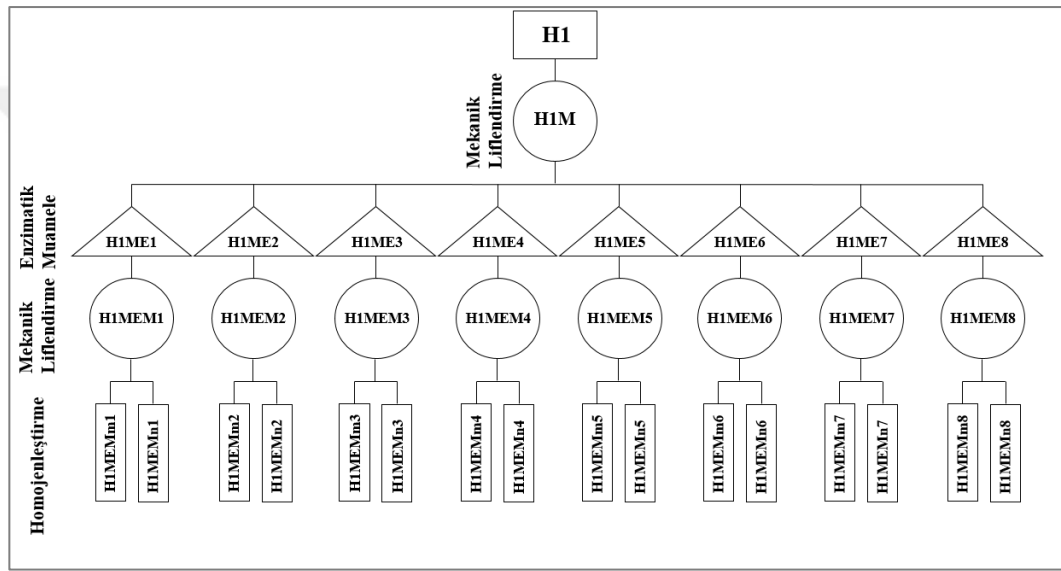
2. liflendirme sonrasında elde edilen lifler **H1MEM1, H1MEM2, H1MEM3, H1MEM4, H1MEM5, H1MEM6, H1MEM7 ve H1MEM8** olarak kodlandırılmış ve elde edilen liflerin morfolojik ve yapısal (SEM), viskoelastik (Reometre) ve kimyasal (HPLC, NMR ve FTIR cihazlarıyla) özellikleri belirlenmiştir.

### 2.3.4. Homojenleştirme (Fluidizing-Jelleştirme)

2. mekanik uygulama sonrasında elde edilen liflerin mikro ve nano boyuta indirgenmesi işlemleri Microfluidics M-110 Y marka yüksek basınçlı homojenizatör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda MFC üretimi için %2 w/w konsantrasyonundaki lifler 1 kere 200 µm çapındaki odacıktan yüksek basınç altında (14000 psi) geçirilmiştir. NFC

üretimi için ise lifler 1 kere 200 µm çapındaki odacıktan (14000 psi) sonra 5 kere 100 µm çapındaki odacıktan yüksek basınç altında (24000 psi) geçirilmiştir.

İşlem sonrasında elde edilen MFC numuneleri **H1MEMm1, H1MEMm2, H1MEMm3, H1MEMm4, H1MEMm5, H1MEMm6, H1MEMm7** ve **H1MEMm8** olarak ve NFC numuneleri ise **H1MEMn1, H1MEMn2, H1MEMn3, H1MEMn4, H1MEMn5, H1MEMn6, H1MEMn7** ve **H1MEMn8** olarak kodlandırılmış ve ağartılmış kraft hamur liflerinden (H1) elde edilen tüm MFC ve NFC numunelerinin morfolojik ve yapısal (SEM), viskoelastik (Reometre) ve kimyasal (HPLC, NMR ve FTIR cihazlarıyla) özellikleri belirlenmiştir.



Şekil 2.1. Çalışmada gerçekleştirilen iş paketi

## 2.4. UYGULANAN ANALİTİK ÖLÇÜMLER

### 2.4.1. HPLC (Yüksek performanslı Sıvı Kromatografisi)

HPLC analizlerinde lifler tam kuru hale getirilip Wiley tipi değirmende öğütülmüş ve laboratuvar tipi sarsak elekte elenip 60-80 mesh'lik elek üzerinde kalan kısımların rutubet miktarları (Tappi T 264) belirlenerek örnekler hidroliz işlemine tabi tutulmuştur. Hidroliz işlemi NREL yöntemine (Laboratory Analytical Procedures (LAP) from the National Renewable Energy Laboratory) göre uygulanmıştır. HPLC analizleri Agilent 1200 sistemi ve bu sisteme bağlı RID (refractive index detector) detektör ile gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20 µL, mobil faz olarak ultra saf su ve akış hızı dakikada 0.6 mL olacak şekilde belirlenmiştir. Şekerlerin (sellobioz, glukoz, mannoz,

ksiloz, galaktoz ve arabinoz) kromatografik ayrılması işlemi için SHODEX SP0810 kolonu kullanılmış ve kolon sıcaklığı 80 °C olarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca hidroliz sonrası asitte çözünmeyen lignin içerikleri tartımla, asitte çözünen lignin içeriği ise 320 nm dalga boyunda saf suya karşı UV spektrofotometrede belirlenmiştir.

#### **2.4.2. Reometre**

Tüm aşamalarda elde edilen ürünlerin reolojik davranışlarını anlamak için kayma hızı-kayma gerilimi, kayma hızı-viskozite ve frekans-elastik, viskoz modül ölçümleri 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Reoloji deneylerinde örnekler Ultraturax'da 15.000 rpm'de 5 dk. önce iyice karıştırılıp homojen halde kalması sağlanmıştır. Deneylerde kütlece %2 derişimde örnekler kullanılmıştır. Kayma hızı-kayma gerilimi ve kayma hızı-viskozite gibi akış deneyleri cone-plate (37.5 mm) geometrisine sahip Brookfield RST-CPS Rheometer cihazı ile gerçekleştirilirken, elastik modül ve viskoz modül deneyleri ise paralel plate geometrisine sahip Termo-Haake RS600 reometre cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Akış deneyleri ile örneklerin mekanik liflendirmeler, enzimatik muamele ve homojenizasyon işlemleri sonrasındaki akış özelliklerinin değişimleri incelenmiş ve modül deneyleri ile örneklerin jel yapılarına frekansın etkisi araştırılmıştır.

#### **2.4.3. SEM (Taramalı Elektron Mikroskopu)**

Çalışmada FEI Quanta FEG250 marka SEM cihazı kullanılarak numunelerin morfolojik ve yapısal karakterizasyonları belirlenmiştir. SEM görüntüleri sonucunda nanoselüloz moleküllerinin boyutları, topaklanması, kristalize ve amorf yapısı ile yüzeyinde meydana gelen fiziksel değişimler incelenmiştir. Bu kapsamda daha önce belirtilen tüm aşamalarda %2 konsantrasyonlardaki örnekler (lif, MFC ve NFC) 105°C'de 24 saat kurutulduktan sonra yalıtkan haldeki bu numuneler iletken hale getirilerek kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için numuneler sputter cihazının kafesine yerleştirilmiş ve uygun potansiyelde oluşan plazma ortamında yaklaşık 5 nm kalınlıkta gold-paladyum ile kaplanmıştır. Kaplanan numune mikroskoba yerleştirilerek stage içinde belli bir yükseklikte ışık kaynağı ile etkileştirilmiştir. Işık kaynağı olarak alan emisyonlu tabanca (FEG) kullanılmıştır. Örneğe 1-15 kV arasında hızlandırma potansiyeline sahip bir voltaj uygulanmış ve dedektör olarak secondary (ikincil) elektron dedektörü kullanılarak görüntüler alınarak yorumlanmıştır. Bu bağlamda liflerde 1 mikron, MFC ve NFC örneklerinde ise 1 mikron ve 100 mikron skalasında görüntüler alınmıştır.

#### **2.4.4. FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)**

Çalışmada ATR(Attenuated total reflectance)-FTIR analizleri, Shimadzu marka, IR-Prestige 21 model IR cihazı ile  $4\text{ cm}^{-1}$  çözünürlüğünde ve 20 tarama sonucunda elde edildi. Bu amaçla, ZnSe kristalinde belli bir basınçla sıkıştırılan numunelerin  $600\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$  aralığında bulunan bölgedeki karakteristik moleküler absorpsiyon pikleri belirlendi. Bu belirlenen bölge selüloz, hemiselüloz ve ligninin kimyasal karakterizasyonu için oldukça aydınlatıcı bilgiler vermektedir. Bu kapsamda daha önce belirtilen tüm aşamalarda %2 konsantrasyonlardaki örnekler ile çalışılmıştır.

#### **2.4.5. NMR (Nuclear Magnetic Spectroscopy)**

Çalışmada Bruker AVANCE III marka NMR cihazı kullanılarak numunelerin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu alınmıştır. Bu kapsamda daha önce belirtilen tüm aşamalardaki %2 konsantrasyonlarda bulunan örnekler (lif, MFC ve NFC)  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat kurutulduktan sonra, havanda toz haline getirilmiştir. Ardından cihazın uygun bölmesine yerleştirilmiş olup, analizlerde, NMR cihazı 300 MHz ve 7 Tesla değerinde iken, manyetik alana uygulanan bir spesifik açıda döndürme yöntemi olan MAS yöntemi (8500 Hz) ve  $^{13}\text{C}$  çekirdeğine ait manyetik rezonans sinyalinin çapraz polarizasyon yöntemi olan Cross Polarization kullanılarak örneklere ait spektrumların alınması sağlanmıştır.

#### **2.4.6. DTG (Differential Thermogravimetry) ve DSC (Differential Scanning Calorimetry)**

Çalışmada Shimadzu DTG60H ve Shimadzu DSC60 marka TGA ve DSC cihazları kullanılarak üretilen örneklerin termal özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır. DSC analizleri için alüminyum pan'a 9-10 mg örnek alınmış ve  $50\text{ mL/dk N}_2$  akışı ve  $10\text{ }^{\circ}\text{C/dak}$  ısıtma hızında,  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  -  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$  arası sıcaklık uygulanmıştır. Bu analizler sonucunda örneklerin bozunma sıcaklıkları belirlenmiştir.

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. VERİM, KAPPA VE VİSKOZİTE ANALİZLERİ

Kraft hamur lifi ve her bir ağartma kademesi sonrasında elde edilen hamurların verim, kappa ve viskozite değerleri Çizelge 3.1’de verilmiştir. Kraft hamurunun elenmiş verimi 45.6% (o.d yonga)’dır. Elek artığı ise çok küçük olup 0.03% (o.d hamur)’tür. Ağartılmamış kraft hamurunun kappa numarası 18.4, viskozite değeri ise 10.2 cP olarak tespit edilmiştir. Bazı odun materyalleri ve hamur koşulları için benzer sonuçlar literatürde bulunmaktadır [8]. Her bir ağartma kademesinde yapıdan lignin uzaklaştığı için kappa numarası ve viskozite değerinin düştüğü gözlemlenmiştir. Ağartılmış hamurun kappa numarasında 83.6% düşüş olduğu belirlenmiştir. Oksijen ağartma aşamasında (O) kappa numarası 10.4’e düşerken, viskozite değerinde ise çok küçük bir değişim gözlenmiştir. Bu değişim oksijen ağartma aşamasının selüloz üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Klordioksit ağartma aşamasında (D) ise kappa ve viskozite değerlerinde önemli düşüşlerin olduğu belirlenmiştir. Klordioksit ağartma kademesinde kappa ve viskozite değerlerinde meydana gelen önemli düşüşlerin polisakkarit degradasyonu neticesinde meydana geldiği literatür çalışmalarıyla da desteklenmektedir [9]. NaOH kullanılarak yapılan ağartma aşamasında (E), bazı lignin ve düşük molekül ağırlıklı maddelerin ekstrakte olduğu ve sonuç olarak toplam verimin düştüğü gözlemlenmiştir. Diğer yandan, alkali ekstraksiyon aşamasında hamurun viskozitesinde (5.60 cP) bir miktar artış gözlemlenirken, bu sonuç literatürle de desteklenmektedir [10]. Viskozitede meydana gelen bu artış düşük molekül ağırlıklı maddelerin yapıdan uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır. Ancak, peroksit aşamasında (P) kappa ve viskozite değerlerinin tekrar düştüğü belirlenmiştir.

Çizelge 3.1. Kraft hamurunun herbir ağartma aşamasından sonraki verim, kappa ve viskozite değerleri

Ağartma aşaması	Toplam Verim, %	Kappa	Viskozite, cP
Kraft	45.7 ± 0.46	18.4 ± 0.15	10.2 ± 0.38
Kraft-O	44.8 ± 0.17	10.4 ± 0.00	9.50 ± 0.26
Kraft-O-D	44.7 ± 0.22	4.16 ± 0.00	5.15 ± 0.21
Kraft-O-D-E	41.9 ± 0.34	3.59 ± 0.09	5.60 ± 0.10
Kraft-O-D-E-P	41.5 ± 0.26	3.02 ± 0.01	5.40 ± 0.10

## 3.2. KİMYASAL ÖZELLİKLER

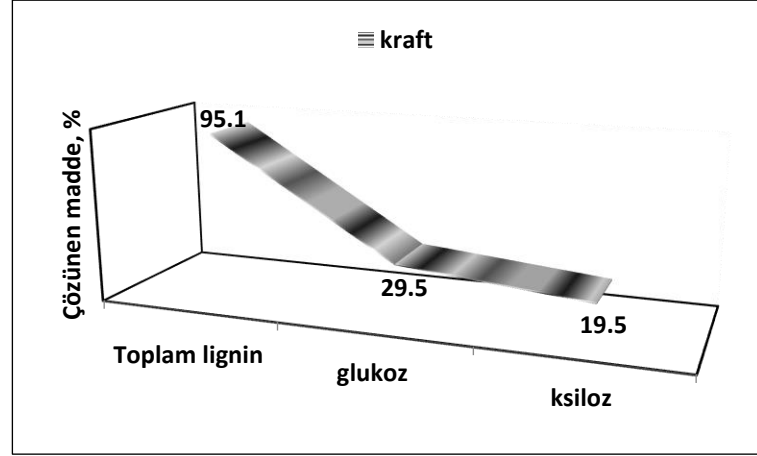
### 3.2.1. HPLC Analizleri

Piştirme ve ağartma işlemleri sırasında *E. camaldulensis* odun yongalarında, ağartılmamış ve ağartılmış kraft hamurlarının kimyasal bileşiminde % uzaklaşan maddeler Çizelge 3.2’de gösterilmiştir. HPLC analizlerinde *E. camaldulensis*’in toplam karbonhidratının 49.3% (o.d. yonga) olduğu görülmüştür. Karbonhidrat bileşimine bakıldığında, hemiselülozlarda en büyük oran 40.0% (o.d. yonga) ile glukozu aitken, ksiloz ise 8.67% (o.d. yonga)dir. Mannoz, arabinoz ve galaktoz ise toplamda 0.62% (o.d. yonga) oranındadır. Toplam lignin içeriği (asitte çözünen lignin+asitte çözünmeyen lignin içeriğinin) 28.3% (o.d. yonga) olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmanın bu sonuçları, Dutt ve Tyagi [162] ve Moussaouiti [11]’in bulguları ile karşılaştırılabilir.

Çizelge 3.2. *E. Camaldulensis* odun yongası ile hamur üretimi ve ağartma işlemlerinden sonra elde edilen hamurların kimyasal bileşenleri

Kimyasal Bileşenler (%)			
	Yonga	Kraft	Kraft (ODEP) H1
Glukoz	40.0 ± 1.53	61.8 ± 2.04	66.3 ± 0.90
Ksiloz	8.67 ± 0.19	15.3 ± 0.65	14.3 ± 0.85
Galaktoz	0.18 ± 0.14	-	-
Mannoz+Arabinoz	0.44 ± 0.20	0.33 ± 0.00	0.67 ± 0.00
Asitte Çözünmeyen Lignin (AIL)	27.6 ± 0.99	1.98 ± 0.54	0.40 ± 0.09
Asitte Çözünen Lignin (ASL)	0.74 ± 0.01	1.05 ± 0.02	1.16 ± 0.41
% uzaklaşan madde (o.d. yonga)			
Toplam madde	-	54.4	58.5
Glukoz	-	29.5	31.2
Ksiloz	-	19.5	31.6
Toplam lignin	-	95.1	97.7

Ağartılmış hamurun lignin, glukoz ve ksiloz çözünürlükleri sırasıyla 97.7%, 31.2% ve 31.6% (o.d. yonga)’dır. Ağartılmamış kraft hamurlarının glukoz içeriği, ağartma işlemleri sırasında meydana gelen delignifikasyon nedeniyle oransal olarak artmıştır. Kraft hamuru 15.3% ksiloz oranına sahiptir, fakat ağartma sonucunda yapıdan ksiloz ve lignin uzaklaşması nedeniyle ksiloz içeriğinde küçük bir düşüş gözlemlenmiştir.



Şekil 3.1. Tam kuru yonga ağırlığına oranla Kraft pişirme işlemi sonrası çözünen karbonhidrat ve lignin oranları.

Her ön muamele işleminden sonra glukoz ve ksiloz içeriği ile % uzaklaşan madde Çizelge 3.3 ve 3.4’te gösterilmiştir. Ağartılmış kraft hamuruna yapılan mekanik liflendirme işlemi sonrasında hamurun glukoz (1.80% o.d. ağartılmış hamur) ve ksiloz (0.20% ağartılmış hamur) içeriği azalmıştır. Chen [12]’nin yaptığı önceki çalışmalarda da benzer sonuçlar gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.3’te Pulpzyme HC 2500 enziminin ksiloz degradasyonu üzerinde etkili olduğu bulunmuş ve enzim konsantrasyonunun artmasıyla degradasyonun yükseldiği gözlemlenmiştir. Bu enzim glukoz degradasyonu üzerinde daha az etkiye sahiptir. Optimum Pulpzyme HC enzim konsantrasyonunun belirlenmesi noktasında muamele işlemleri sonrasında hammaddelerin yapısında kalan ksiloz/glukoz değeri baz alınmış olup, bu değerin maksimum olduğu nokta optimum olarak kabul edilmiştir (Ksilozun daha fazla yapıda kaldığı, glukozun ise daha fazla yapıdan uzaklaştığı nokta maksimum değeri vermektedir). Zira, literatür çalışmaları incelendiğinde yüksek hemiselüloz içeriğine sahip liflerde hemiselülozun selüloz nanofibrilleri arasındaki bağlantıyı engelleyerek homojenleştirme işleminin verimliliğini artırdığı [163], öte yandan selüloz üzerindeki etkisi daha fazla olan muamelenin hücre çeperi delaminasyonunu artırarak homojenleştirme işleminde kullanılan odacıklarda tıkanma problemini minimize ettiği belirtilmiştir [13]. Bu değer H1M (H1M=H1ME1) için 0.22 ve H1ME2, H1ME3 ve H1ME4 için sırasıyla 0.21, 0.22 ve 0.21 olarak tespit edilmiştir. HPLC verileri incelendiğinde, en yüksek ksiloz miktarına sahip olan **H1ME3 (100 AXU/g)** uygulaması optimum Pulpzyme HC enzim konsantrasyonu olarak tespit etmiştir. Öte yandan H1ME2, H1ME3 ve H1ME4 kendi aralarında incelendiğinde H1ME4 uygulaması diğer ikisine nazaran yapıdan daha fazla ksiloz uzaklaştırmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Hemiselülaz Pulpzyme HC enzim muamelesi sonrasında hammaddelerin kimyasal bileşenlerinde meydana gelen değişim.

Kimyasal Bileşenler (%)	Yonga	Kraft	Kraft-ODEP (H1)	H1M=H1ME1	H1ME2	H1ME3	H1ME4	H1MEM3	H1MEMm3	H1MEMn3
Glukoz	40.0 ± 1.53	61.8 ± 2.04	66.3 ± 0.90	65.7 ± 0.07	65.0 ± 0.22	66.8 ± 0.91	65.8 ± 0.91	66.3 ± 0.56	66.3 ± 0.05	65.9 ± 0.01
Ksiloz	8.67 ± 0.19	15.3 ± 0.65	14.3 ± 0.85	14.5 ± 0.24	13.9 ± 0.12	14.4 ± 0.04	13.9 ± 0.11	14.0 ± 0.10	13.9 ± 0.19	13.8 ± 0.82

Tam kuru, g	Yonga	Kraft	Kraft-ODEP (H1)	H1M=H1ME1	H1ME2	H1ME3	H1ME4	H1MEM3	H1MEMm3	H1MEMn3
Toplam Hammadde	500.0	228.0	207.5	204.0	202.5	195.0	195.0	193.5	193.5	193.5
Glukoz	200.0	140.9	137.6	134.0	131.6	130.3	128.3	128.3	128.3	127.5
Ksiloz	43.4	34.9	29.7	29.6	28.1	28.1	27.1	27.1	26.9	26.7
Toplam lignin	141.7	6.90	3.20	-	-	-	-	-	-	-
Hammadede kalan ksiloz/glukoz oranı	-	-	-	0.22	0.21	0.22	0.21	-	-	-

% Çözünen	Kraft	Kraft-ODEP (H1)	H1M=H1ME1	H1ME2	H1ME3	H1ME4	H1MEM3	H1MEMm3	H1MEMn3	
Tam kuru yongaya oranla	Hammadde	54.4	58.5	59.2	59.5	61.0	61.0	61.3	61.3	61.3
	Glukoz	29.5	31.2	33.0	34.2	34.9	35.8	35.9	35.9	36.2
Tam kuru yongaya oranla	Ksiloz	19.5	31.6	31.8	35.1	35.2	37.5	37.5	38.0	38.4
	Toplam lignin	95.1	97.7	-	-	-	-	-	-	-
Tam kuru ağartılmış life (Kraft-ODEP) oranla	Glukoz	-	-	2.56	4.32	5.32	6.73	6.75	6.75	7.31
	Ksiloz	-	-	0.31	5.14	5.37	8.65	8.70	9.36	10.0
	Toplam lignin	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Literatür çalışmaları incelendiğinde Celluclast 1.5 L enziminin selülaz aktivitesi dışında  $\beta$ -glukosidazlarca sağlanan hemiselülaz aktivitesine de sahip olduğu gözlemlenmiş olup [14], [164], çalışma kapsamında artan Celluclast 1.5 L enzim konsantrasyonlarında ağartılmış kraft hamuruna (kraft ODEP) oranla (H1), H1ME6, H1ME7 ve H1ME8 için sırasıyla %9.47, 14.7 ve 21.1 oranlarında glukoz ve %0.74, 1.23 ve 1.51 oranlarında ksilozun serbest hale geçtiği tespit edilmiştir. Optimum Celluclast 1.5 L enzim konsantrasyonunun belirlenmesi noktasında yine muamele işlemleri sonrasında hammaddelerin yapısında kalan ksiloz/glukoz değeri baz alınmış olup bu değer H1M (H1M=H1ME5) için 0.22 ve H1ME6, H1ME7 ve H1ME8 için sırasıyla 0.24, 0.25 ve 0.27 olarak tespit edilmiştir. HPLC verileri incelendiğinde, en yüksek ksiloz miktarına sahip olan **H1ME8 (10 EGU/g)** uygulaması optimum Celluclast 1.5 L enzim konsantrasyonu olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3.3-3.4 ve Şekil 3.2 birlikte incelendiğinde mekanik muameleler ve homojenleştirme işlemleri sonrasında elde edilen hammaddelerde glukoz ve ksiloz değerlerinin çok fazla etkilenmediği görülmektedir. MFC ve NFC üretimi sonrasında gerçekleştirilen HPLC analizlerinde yapıda kimyasal olarak çok fazla değişimin olmadığı

yapılan literatür çalışmalarıyla da desteklenmektedir [15], [165].

Çizelge 3.4. Selüloz Celluclast 1.5 L enzim muamelesi sonrası hammaddelerin kimyasal bileşenlerinde meydana gelen değişim.

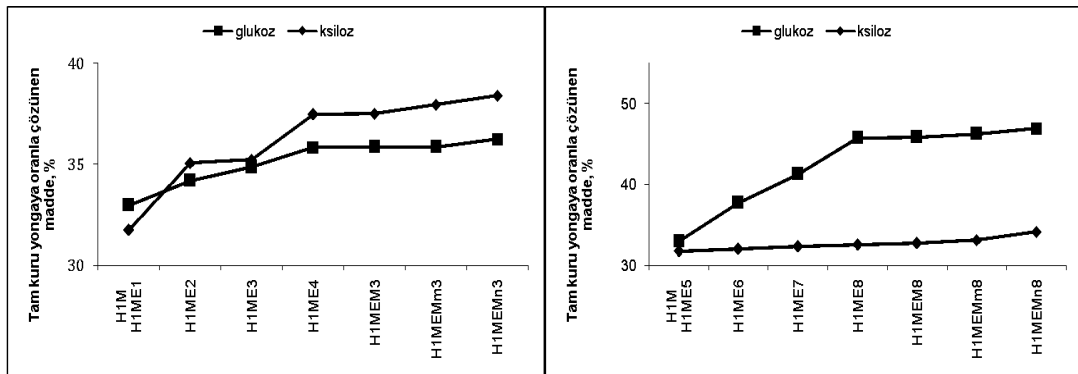
Kimyasal Bileşenler (%)	Yonga	Kraft	Kraft-ODEP (H1)	H1M=H1ME5	H1ME6	H1ME7	H1ME8	H1MEM8	H1MEMm8	H1MEMn8
Glukoz	40.0± 1.53	61.8 ± 2.04	66.3 ± 0.90	65.7 ± 0.07	64.7 ± 0.15	63.3 ± 0.22	62.0 ± 0.04	62.4 ± 0.01	62.3 ± 0.55	61.7 ± 0.74
Ksiloz	8.67 ± 0.19	15.3 ± 0.65	14.3 ± 0.85	14.5 ± 0.24	15.3 ± 0.66	15.8 ± 0.12	16.7 ± 0.02	16.8 ± 0.18	16.8 ± 0.10	16.6 ± 0.22

Tam kuru, g	Yonga	Kraft	Kraft-ODEP (H1)	H1M=H1ME5	H1ME6	H1ME7	H1ME8	H1MEM8	H1MEMm8	H1MEMn8
Toplam Hammadde	500.0	228.0	207.5	204.0	192.5	185.5	175.0	173.5	172.5	172.0
Glukoz	200.0	140.9	137.6	134.0	124.5	117.4	108.5	108.3	107.5	106.1
Ksiloz	43.4	34.9	29.7	29.6	29.5	29.3	29.2	29.1	29.0	28.6
Toplam lignin	141.7	6.90	3.20	-	-	-	-	-	-	-
Hammadede kalan ksiloz/glukoz oranı	-	-	-	0.22	0.24	0.25	0.27	-	-	-

	% Çözünen	Kraft	Kraft-ODEP (H1)	H1M=H1ME5	H1ME6	H1ME7	H1ME8	H1MEM8	H1MEMm8	H1MEMn8
Tam kuru yongaya oranla	Hammadde	54.4	58.5	59.2	61.5	62.9	65.0	65.3	65.5	65.6
Tam kuru yongaya oranla	Glukoz	29.5	31.2	33.0	37.7	41.3	45.8	45.9	46.3	46.9
	Ksiloz	19.5	31.6	31.8	32.1	32.4	32.6	32.8	33.1	34.1
	Toplam lignin	95.1	97.7	-	-	-	-	-	-	-
Tam kuru ağırtılmış lif (Kraft-ODEP) oranla	Glukoz	-	-	2.56	9.47	14.7	21.1	21.3	21.9	22.9
	Ksiloz	-	-	0.31	0.74	1.23	1.51	1.77	2.33	3.78
	Toplam lignin	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Şekil 3.2. Tam kuru yonga ağırlığına oranla mekanik, enzimatik ve homojenleştirme işlemleri sonrası hammaddelerde çözünen karbonhidrat oranları.

### 3.2.2. FTIR Analizleri

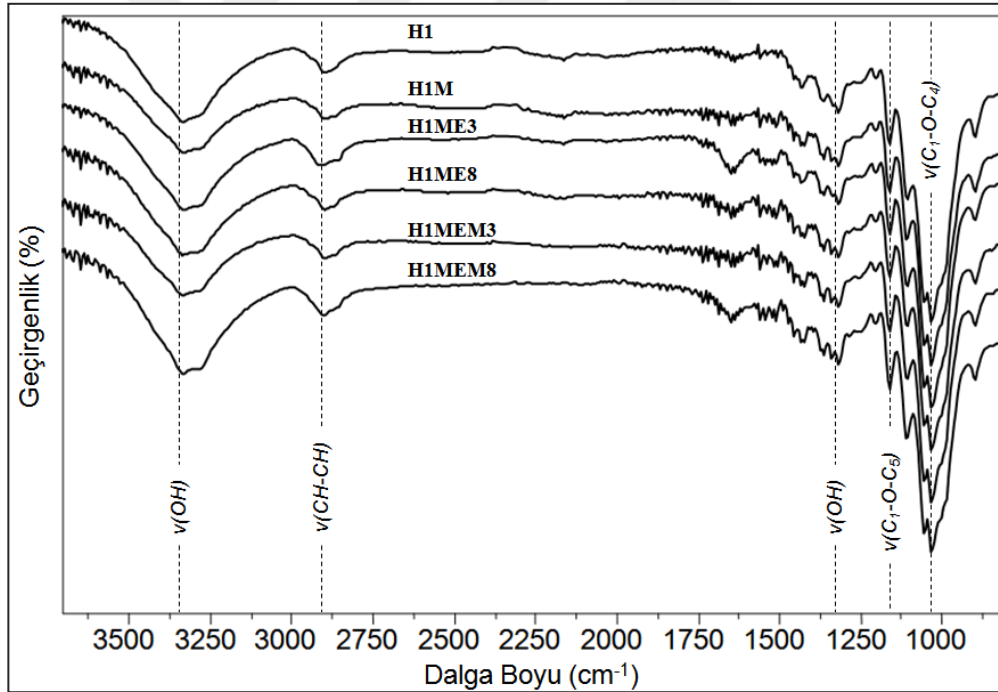
Örneklerin FTIR analizlerini araştırmak için yapılan araştırmada aşağıdaki 3 detay

üzerinde durulmuştur:

- Ön muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) arasındaki farklar,
- Farklı enzim ve enzim konsantrasyonları arasındaki farklar,
- Ağartılmış kraft hamur lifi ile MFC ve NFC ürünleri arasındaki farklar.

### 3.2.2.1. Ön Muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin FTIR Analizleri

Ön muamelelerin, FTIR spektroskopisindeki davranışlarını görmek için, ağartılmış kraft hamur lifleri (H1), 1. mekanik liflendirme sonucu elde edilen ürün (H1M), enzimatik muameleler sonucu elde edilen ürünler (H1ME3 ve H1ME8) ve 2. mekanik liflendirmeden çıkan ürünlerin (H1MEM3, H1MEM8), temel O-H gerilimleri, C-H gerilimleri, C-O-C gerilimleri ve diğer gerilimleri ayrıntılı olarak Şekil 3.3'te incelenmiştir.



Şekil 3.3. Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin FTIR analizleri

Şekil 3.3 incelendiğinde,  $3330\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen geniş pikler selülozun molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağlarından kaynaklanan serbest O-H gruplarına aittir [166], [167], [16], [17], [168], [169], [170], [171]. Ön uamele işlemleri sonucu geçirgenlik değerlerinin değiştiği gözlenmiştir. Bu değişim, glukozun parçalanması ve glukozun yüzey alanında daha az hidrojen bağı yapmasıyla açıklanabilir [17].

O-H düzlem içi eğilme titreşimine ait pik  $1336\text{ cm}^{-1}$ 'de [171], O-H eğilme titreşimine ait pik  $1202\text{ cm}^{-1}$  de gözlemlenmiştir [18], [166]. Mekanik ve enzim uygulamalarının sonucunda, genel anlamda piklerin geçirgenlik şiddetlerinde bir miktar azalma gözlenmiştir. Bunun sebebi olarak, etkileşimler sonucunda liflerin fiziksel yapıları değişmiş, yüzey alanlarının boyutları da azalmıştır. Dolayısıyla liflerin monomeri olan glukoz birimlerinin yüzey alanlarının boyutları küçülmüş ve daha fazla hidrojen bağı yapabilecek bir yüzey alanına sahip olmuştur [172]. Etkileşimler sonucunda, O-H gerilmelerinde kimyasal reaksiyonlardan kaynaklı olarak, dalga sayılarında önemli oranda kayma gözlenmemiştir.

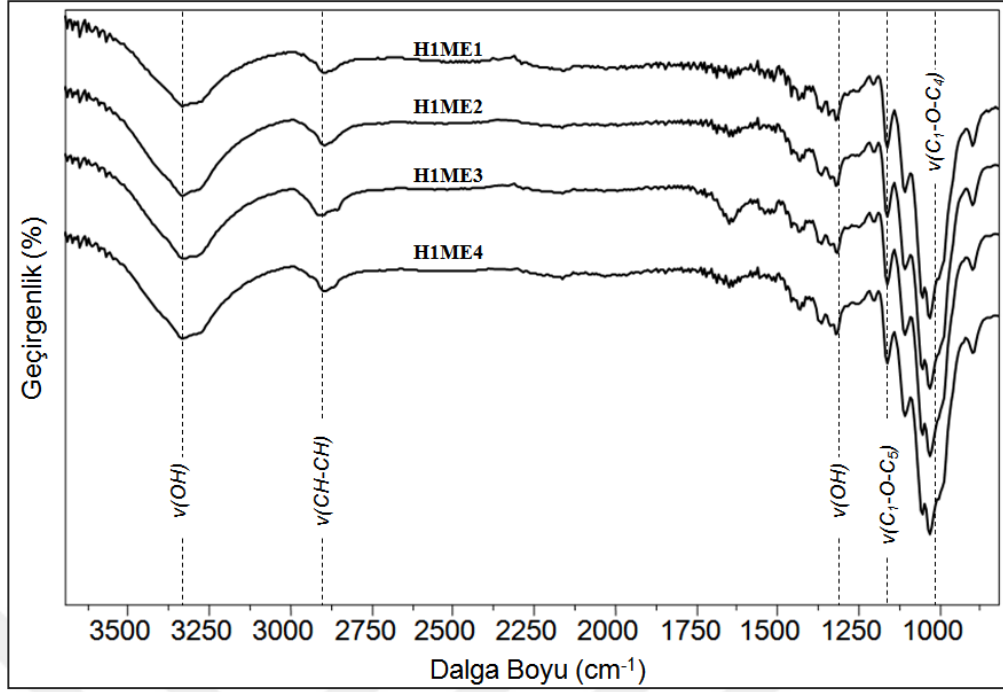
Kristallik oranını oluşturan ve selülozdaki önemli piklerden biri olan  $\text{CH}_2$  asimetric gerilme titreşimi ağırlıklı kraft hamuru (H1) için  $2986\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmiş [166], [16], [169], [170] ve ön muamele uygulamalarında yüksek dalga boylarında küçük kaymalar olduğu tespit edilmiştir.

Şekil 3.3 incelendiğinde,  $2900\text{ cm}^{-1}$ 'de birinci mekanik liflendirme sonrasında kayma gözlenmez iken, özellikle Celuclast 1.5 L enzimatik muamele etkisinden sonra ise kayma gözlenmiştir. 2. mekanik liflendirme sonrasında, özellikle Celluclast 1.5 L enzimli yapı olan H1MEM8'de önemli oranda kayma olmuştur. Ortaya çıkan bu durum numunelerde kristallik oranının değiştiğini göstermektedir [167], [16].

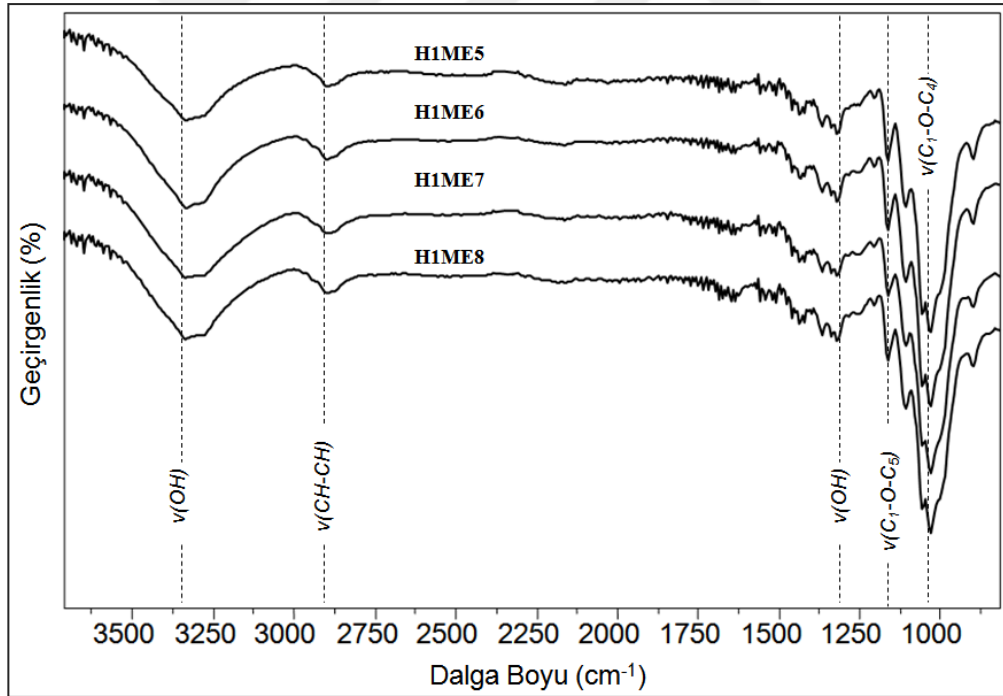
Kromotogram incelendiğinde, en şiddetli pikler  $1200$  ve  $1000\text{ cm}^{-1}$ 'de arasında gözlenmiş olup bunlar lignoselülozik yapıdaki C-O-C titreşimleridir [17].  $1162\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen pikler C-O-C simetric gerilme titreşimlerine ait olup bu pikler piranoz halkalarındaki eter bağlarıyla açıklanır. C-O asimetric ve simetric gerilme titreşimleri sırasıyla  $1053$  ve  $1035\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde ise bu piklerde dikkate değer kaymaların olmadığı görülmektedir.

### 3.2.2.2. Enzimatik Muameleler Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin FTIR Analizleri

Enzimatik muameleler sonucu elde edilen ürünler olan H1ME1-4 ve H1ME5-8'in, temel O-H (Hidroksil gerilmeleri), C-H gerilmeleri ve diğer gerilmelerinin pikleri ayrıntılı olarak incelenmiş olup Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'de verilmiştir.



Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda Pulpzyme HC enzim uygulanması sonucu elde edilen ürünlerin FTIR analizleri



Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlarda Celluclast 1.5 L enzim uygulanması sonucu elde edilen ürünlerin FTIR analizleri

Enzimatik muameleler sonucunda  $3330\text{ cm}^{-1}$ 'deki O-H gerilme titreşimlerinde,  $1336\text{ cm}^{-1}$ 'deki O-H düzlem içi eğilme titreşiminde ve  $1202\text{ cm}^{-1}$  O-H eğilme titreşimine ait piklerde bir kayma gözlenmez iken geçirgenlik şidetlerinde ise molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağlarının etkileşmesi sonucunda liflerin fiziksel yapıları değişmiş, yüzey

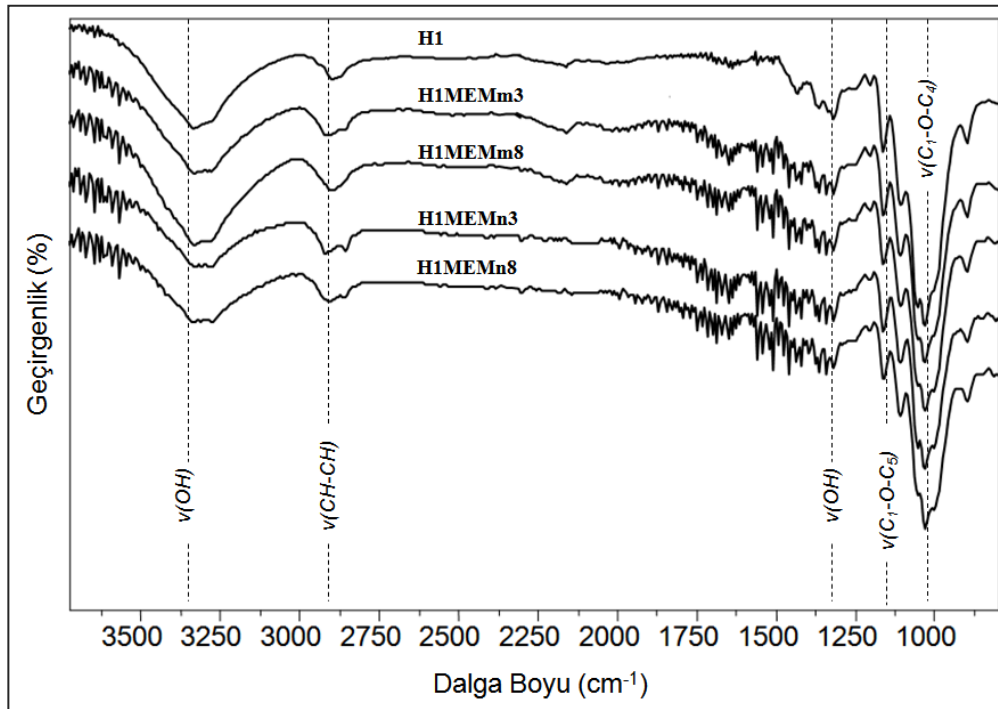
alanlarının boyutları da azalmıştır. Dolayısıyla liflerin monomeri olan glukoz birimlerinin yüzey alanlarının boyutları küçülmüş ve daha fazla hidrojen bağı yapabilecek bir yüzey alanına sahip olmuştur [172].

CH<sub>2</sub> asimetrik gerilme titreşimlerinde, özellikle H1ME3'te bir kayma gözlenirken, 890 cm<sup>-1</sup>'deki C-H gerilmesinde önemli bir kayma gözlenmemiştir. Celluclast 1.5 L enzim uygulaması sonrasında özellikle CH<sub>2</sub> asimetrik gerilme titreşimlerinde minimal olarak, daha yüksek dalga boyuna kayma ve pik şiddetinde değişimler gözlenmiştir. Bu durum da kristal/amorf yapısının değişime uğradığını destekler niteliktedir [167], [16].

Celluclast 1.5 enziminin, ürünlerle etkileştirilmesi sonucunda 1162 cm<sup>-1</sup>'de gözlenen piklerden olan glikozidik bağdaki C-O-C simetrik gerilme titreşiminin geçirgenlik değerinde ve 1035 cm<sup>-1</sup>'deki C-O simetrik gerilme titreşiminde değişim gerçekleşmiştir. Bu durum Celluclast 1.5 enziminin kimyasal etkileşim sonrasında glikozidik bağı etkilediğini göstermektedir.

### 3.2.2.3. Ağartılmış Kraft Hamur Lifi, MFC ve NFC Ürünlerinin FTIR Analizleri

Ağartılmış kraft hamur lifi (H1), H1MEMm3, H1MEMm8, H1MEMn3, H1MEMn8 ürünlerinin temel O-H (Hidroksil gerilimleri), C-H gerilimleri ve diğer gerilimlerinin pikleri ayrıntılı olarak incelenmiş ve Şekil 3.6'da verilmiştir



Şekil 3.6. Ağartılmış kraft hamur lifi (H1), H1MEMm3, H1MEMm8, H1MEMn3, H1MEMn8 ürünlerinin FTIR analizleri

Ağartılmış kraft hamur lifi (H1) ile MFC (H1MEMm8) ve NFC (H1MEMn8) numunelerinin  $3330\text{ cm}^{-1}$ 'deki serbest O-H gruplarına ait etkileşimler incelendiğinde, pik geçirgenlik şiddetlerinde azalmaya istinaden benzer etkiler burada da mevcuttur. Homojenizasyon işlemleri sonucu üretilen MFC ve NFC'lerin hidrojen bağı sayılarında azalma olduğu görülmüştür.

Ağartılmış kraft hamur lifi ile MFC ve NFC yapılarının,  $\text{CH}_2$  asimetrik gerilme titreşimleri incelendiğinde, gerilimlerde küçük kaymalar gözlenmektedir. Ağartılmış kraft hamur lifi  $2986\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenirken, fiziksel etkileşimler sonucunda oluşan NFC ve MFC'lerde bu pikin daha yüksek dalga boylarına kaydığı gözlenmektedir. Bu pik kristalite için önemli bir pik olduğu için bu pikin değişimi kristalitede bir değişim olduğunu göstermektedir [171]. Bu durumla birlikte pik geçirgenlik şiddetlerinde de azalma söz konusudur. Sonuçta, liflerin fiziksel yapıları değişmiş, yüzey alanlarının boyutları da azalmıştır. Hidroksil grupları ve hidrojen bağları tarafından sarılan ve selülozun temel monomerini oluşturan glukoz birimerinin yüzey alanlarının boyutları küçülmüş ve hidrojen bağı yapabilecek yüzey alanının azaldığı gözlenmiştir [17].

Şekil 3.6 incelendiğinde, homojenizasyon işlemleri sonucunda  $1162\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen piklerden olan glikozidik bağdaki C-O-C simetrik gerilme titreşimi ve  $1035\text{ cm}^{-1}$ 'deki C-O simetrik gerilme titreşimlerinin geçirgenlik değerlerinde kimyasal kaymalar gözlemlenmiştir.

### 3.2.3. $^{13}\text{C}$ -NMR Analizleri

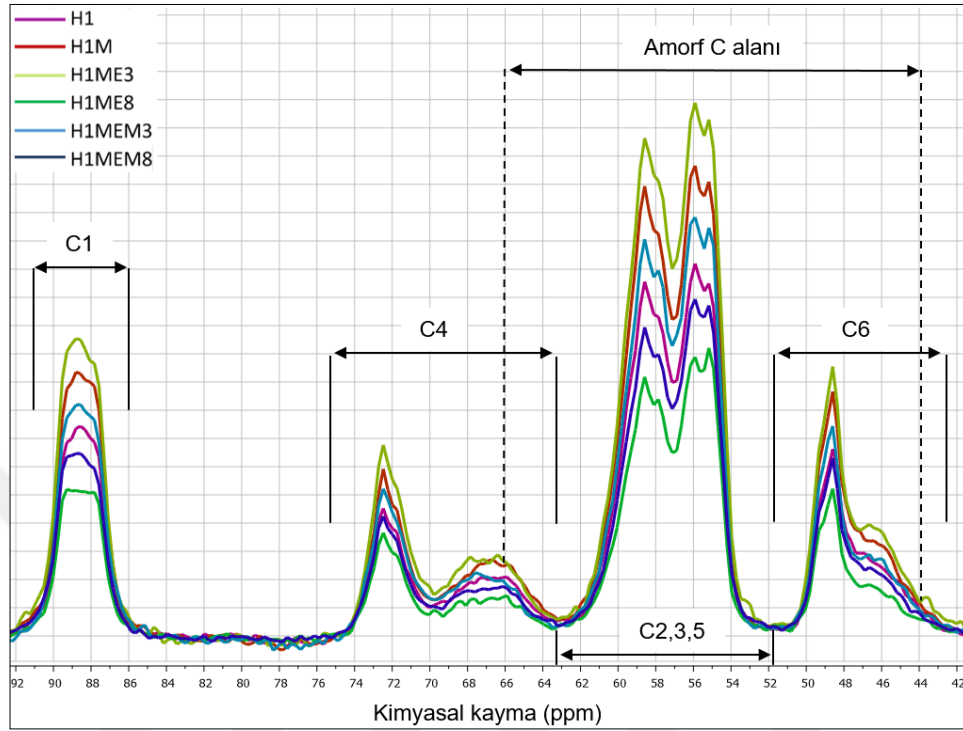
$^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spektrumları selülozun kimyasal yapısının aydınlatmak için oldukça etkili bir moleküler absorpsiyon yöntemidir. Selülozun  $^{13}\text{C}$ -NMR sonuçları, 40-100 ppm arasında kalan bölgede gerçekleşmiş olup, elde edilen grafikler aşağıdaki araştırmalar ile incelenmiştir.

Kraft hamur liflerinden üretilen örneklerin  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR analizlerini araştırmak için yapılan araştırmada aşağıdaki 3 detay üzerinde durulmuştur:

- Ön muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) arasındaki farklar,
- Farklı enzim ve enzim konsantrasyonları arasındaki farklar,
- Ağartılmış kraft hamur lifi ile MFC ve NFC ürünleri arasındaki farklar.

3.2.3.1 *Ön Muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR Analizleri*

Ağartılmış kraft hamurunun 1. mekanik liflendirme, optimum enzim muamelesi ve 2. Mekanik liflendirme işlemleri sonrasında elde edilen ürünler, CP/MAS  $^{13}\text{C}$ -NMR grafiği Şekil 3.7’de verilmiştir.



Şekil 3.7. Ön muameleler sonucunda elde edilen ürünlerin  $^{13}\text{C}$ -NMR sonuçları

Ön muamele işlemlerinin kimyasal yapısını gösteren Şekil 3.7 incelendiğinde, supramoleküler yapılardan kaynaklı farklı kimyasal reaksiyonlar ve fiziksel etkileşimlerin etkisinden dolayı bazı küçük kimyasal kaymalar gözlenmiştir [19], [173].

Çalışmada özellikle  $\text{C}_4$  pikleri üzerinde durulmuştur ve bu pikler spekturumlarda kristalin ve kristalin olmayan formlarda birbirini tamamlayan yan yana iki piktir. İlk görüntülenen pik (solda) kristalin karakterde, sonrasında görüntülenen pik (sağda) amorf karakterdedir [13]. Selülozun  $\text{C}_4$  kimyasal kaymaları; hammadde kaynağı, uygulanan ön muameleler ve  $^{13}\text{C}$ -NMR koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir [20].

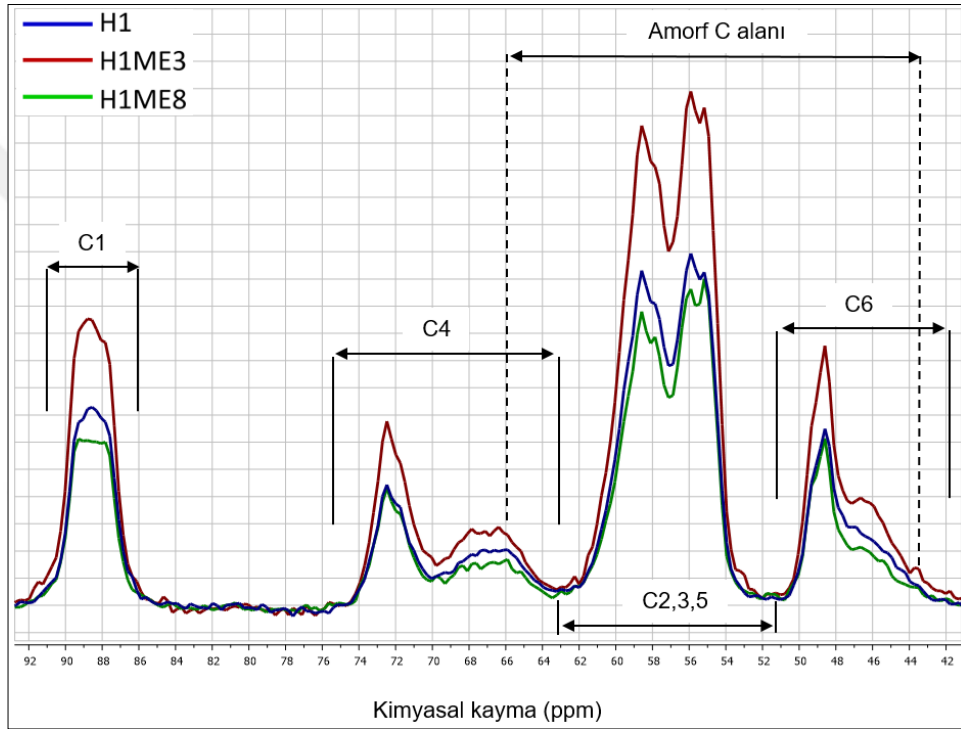
Literatürde; pamuk elyafı için 89 ppm’de ve amorf selüloz için 102 ppm’de  $\text{C}_4$  pikleri görülmektedir [22]. Çalışmada ise  $\text{C}_4$  pikleri kristalin ve amorf bölgeler için sırasıyla 73 ve 67 ppm’de gözlenmiştir [174], [175]. Çalışmadaki ön muamele uygulamaları, özellikle amorf bölge tarafındaki  $\text{C}_4$  piklerinde küçük kaymalara sebep olmuştur. Bu minimal kaymalar kristal ve amorf yapıdaki değişiklikler ile açıklanabilir. Bu açıklama  $2900\text{ cm}^{-1}$ ’deki asimetrik ve simetrik C-H titreşimleriyle de desteklenmektedir.

$\text{C}_1$  ve  $\text{C}_6$  pikleri sırasıyla 90 ve 48 ppm’de gözlenmiş olup, ön muamele işlemleri sonucu

elde edilen materyaller arasında önemli kaymalar görülmemektedir. Keskin ve çok şiddetli pikler ise 62-55 ppm'de gözlenmiş olup bu pikler glukozdaki C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> ve C<sub>5</sub> pozisyonları ile ilgilidir [21].

### 3.2.3.2. Enzimatik Muameleler Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin <sup>13</sup>C CP/MAS NMR Analizleri

Bu bölümde Pulpzyme HC ve Celluclast 1.5 L enzimlerinin, optimum konsantrasyon uygulamalarındaki numunelere ait CP/MAS <sup>13</sup>C-NMR spektrumları karşılaştırılmış ve Şekil 3.8'de verilmiştir.

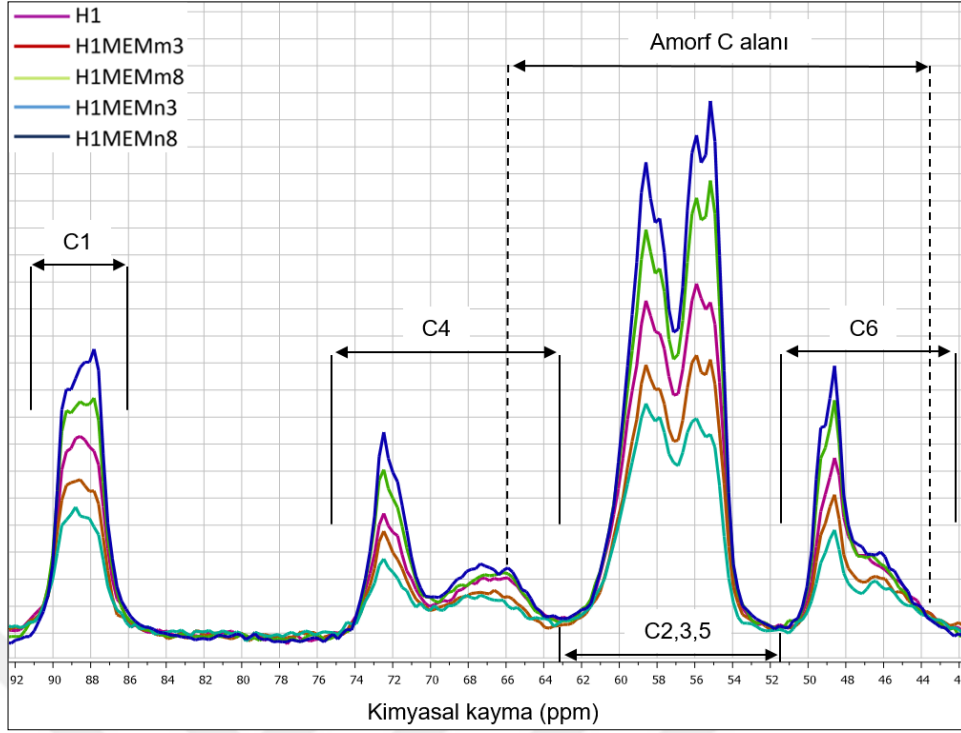


Şekil 3.8. Enzim aktivasyonu ile elde edilen ürünlerin <sup>13</sup>C-NMR sonuçları

Spektrumlar incelendiğinde Pulpzyme HC enziminin etkileştirilmesi ile oluşan numunenin NMR spektrumundaki pik şiddetlerinin daha yüksek olduğu ve kristallik ile ilgili olan C<sub>4</sub> pikinin ve amorflikla ilgili yanındaki bölgenin pik şiddetlerinin arttığı gözlenmiştir. Bu durumda kristallik oranında değişim olduğu söylenebilir.

### 3.2.3.3. Ağartılmış Kraft Hamur Lifi, MFC ve NFC Ürünlerinin <sup>13</sup>C CP/MAS NMR Analizleri

Ağartılmış kraft hamur lifi, MFC ve NFC ürünlerinin CP/MAS <sup>13</sup>C-NMR spektrumları Şekil 3.9'da verilmiştir.



Şekil 3.9. Ağartılmış kraft hamur lifi, MFC ve NFC'lerin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumları

Ağartılmış kraft hamur lifi (H1) ve bu hamurdan üretilen MFC ve NFC materyallerinin spektrumları incelendiğinde, özellikle  $\text{C}_4$ 'ün bulunduğu amorf bölgede benzer özellikler gösterdikleri görülmektedir. Hemiselüloz enziminin selüloz üzerinde daha etkin olduğu, kristallik ve amorfluğu veren  $\text{C}_4$  pikinin şiddetini arttırdığı gözlenirken, homojenizasyon işleminin ise Celluclast 1.5 L enzimi ile muamele edilen numunelerde daha belirgin pikleri verdiği gözlenmiştir.

### 3.3. REOLOJİK ÖZELLİKLER

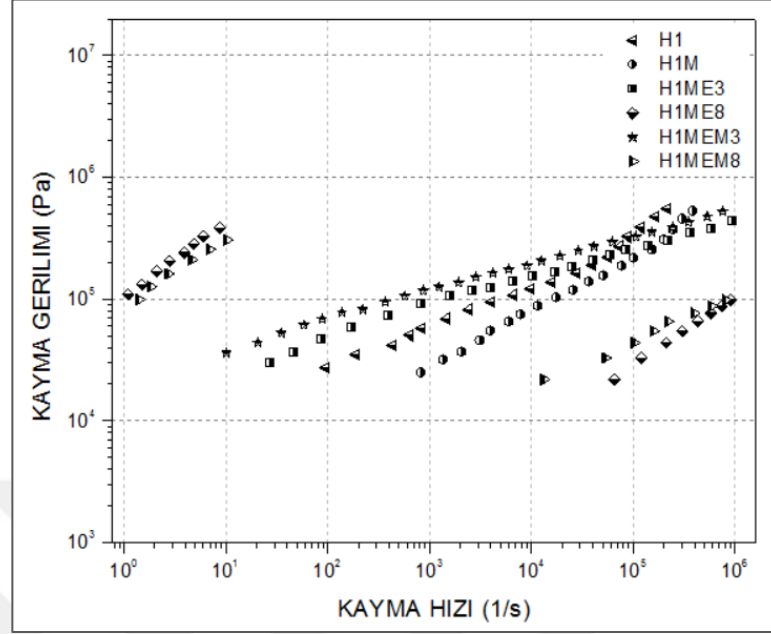
Örneklerin reolojik özelliklerini araştırmak için yapılan araştırmada aşağıdaki 3 detay üzerinde durulmuştur:

- Ön muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) arasındaki farklar,
- Farklı enzim ve enzim konsantrasyonları arasındaki farklar,
- Ağartılmış kraft hamur lifi ile MFC ve NFC ürünleri arasındaki farklar.

#### 3.3.1 Ön Muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin Reolojisi

Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerden H1, H1M, H1ME3, H1ME8, H1MEM3 ve

H1MEM8 ürünlerinin kayma gerilimi ve kayma hızları grafiği geçirilmiş ve Şekil 3.10'da verilmiştir.



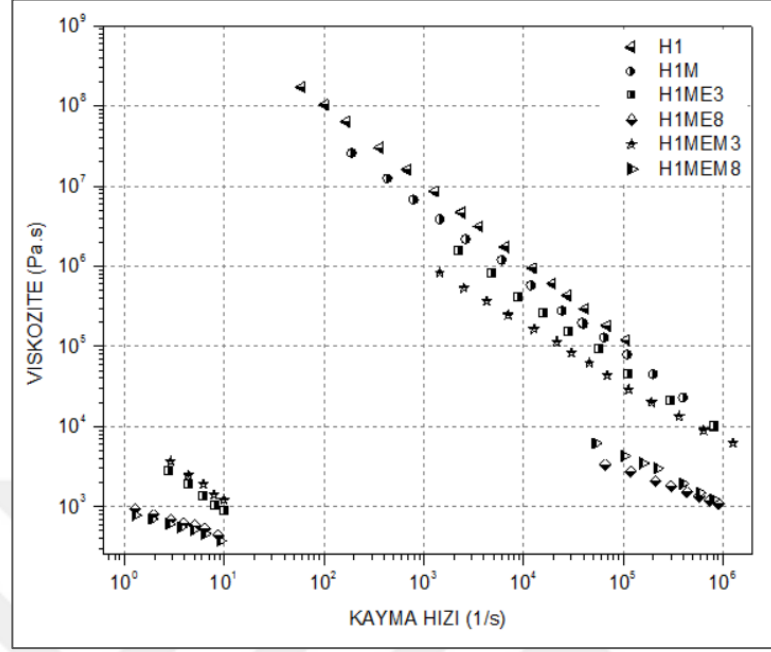
Şekil 3.10. Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin kayma gerilimi-kayma hızı değerleri

Şekil 3.10 incelendiğinde, kayma hızı ile numunelerin bireysel değerleri artış gösterirken numunelerin kendi aralarındaki karşılaştırmalarda ise muamele aşamasının artmasıyla başlangıç değerlerinde azalma gösterdiği görülmektedir. Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin kayma gerilimi değerlerine göre H1, kimyasal yapısından dolayı yüksek bir (kayma gerilimi) oranına sahip iken 1. mekanik liflendirme sonucu elde edilen H1M'nin kayma gerilimi incelendiğinde bu değer düşüştüğü gözlenmektedir.

Pulpzyme HC enzimi ile elde edilen H1ME3 ve H1MEM3 ürünlerinin değerleri incelendiğinde, kayma gerilimi değerlerinin diğer ürünler ile paralellik göstererek düşüştüğü gözlenmekte iken bu düşme miktarı Celluclast 1.5 L enzimi ile hazırlanan H1ME8 ve H1MEM8'in kayma gerilimi değerlerinde daha yüksek olmuştur. Celluclast 1.5 L enzimi numunelerin geriliminin daha fazla düşmesine sebep olmuştur.

Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin davranışları incelendiğinde, tüm örnekler, farklı bölgelerde ortak bir reaksiyon göstererek kayma incelmesi davranışı göstermektedirler. Kayma geriliminin kayma hızında karşı bu tip davranışlarına, kayma incelmesi davranışı denir. Örneklerimiz kayma incelmesi davranışı içerisinde [22], [176], [177].

Elde edilen ürünlerin kayma hızı- vizkozite ilişkilerini görmek amacıyla değerler grafiğe geçirilmiş ve Şekil 3.11'de verilmiştir.

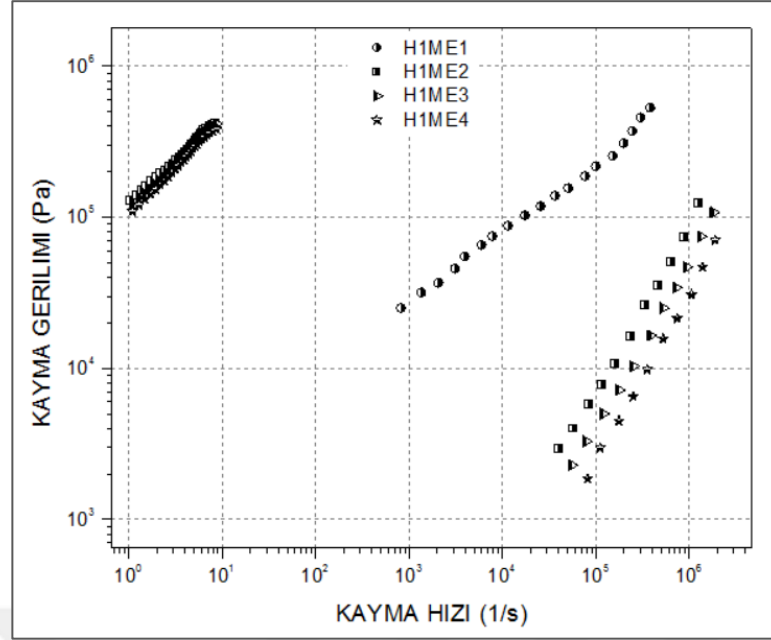


Şekil 3.11. Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin vizkozite-kayma hızı grafikleri

Şekil 3.11 incelendiğinde, kayma hızı arttıkça vizkozitenin düştüğü görülmektedir. Numuneler kayma incelmeleri davranışı [23] göstermek ile birlikte, vizkozite davranışları da incelendiğinde, psedoplastik malzeme sınıfında yer almaktadır. Ağartılmış kraft hamur lifi (H1) yüksek vizkozite değerine sahiptir. Birinci mekanik liflendirme (H1M) ve sonrasındaki enzimatik ön muameleler (H1ME3 ve H1ME8) vizkoziteyi düşürmüştür. Enzimatik ön muamele örnekleri incelendiğinde, Celluclast 1.5 L enzim muamelesinin (H1ME8) Pulpzyme HC enzim muamelesine (H1ME3) göre vizkoziteyi önemli ölçüde düşürdüğü görülmüştür. Ayrıca enzimatik muamelelerden sonra yapılan ikinci mekanik liflendirme işlemi (H1MEM3 ve H1MEM8) de vizkoziteyi düşürmüştür.

### 3.3.2. Enzimatik Muameleler Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin Reolojisi

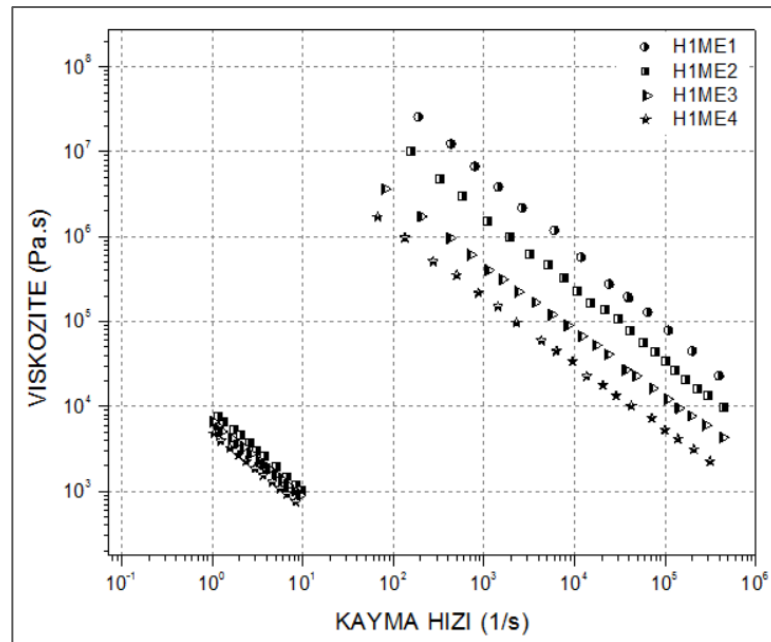
Enzim konsantrasyonlarının etkisini daha ayrıntılı bir şekilde gözlemlemek için Pulpzyme HC ve Celluclast 1.5 L enzimlerinin kayma hızı-kayma gerilimi ve kayma hızı vizkozite değerleri tabloya geçirilmiş Şekil 3.12, Şekil 3.13, Şekil 3.14 ve Şekil 3.15'de verilmiştir.



Şekil 3.12. Pulpzyme HC enzimi ile etkileşen numunelerin kayma hızı-kayma gerilimi grafiği (H1M=H1ME1).

Şekil 3.12 incelendiğinde, kayma gerilimi değerlerinin farklı enzim konsantrasyonlarında farklı değerler verdiği gözlenirken, Pulpzyme HC enzim konsantrasyonunun artması ile numunelerin kayma gerilimi değerlerinin düştüğü gözlenmektedir.

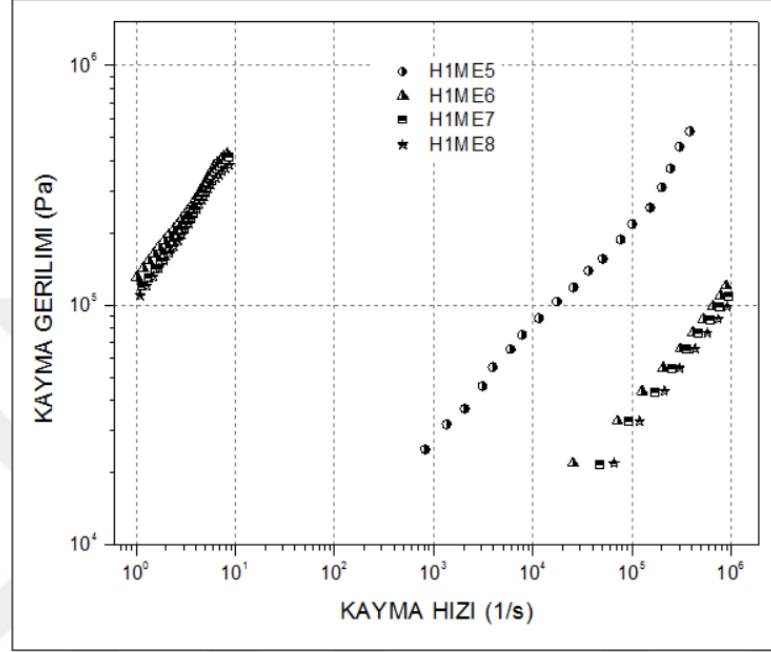
Pulpzyme HC enziminin viskozite'lerinin kayma hızına karşı oluşturdukları grafik ise Şekil 3.13'te verilmiştir.



Şekil 3.13. Pulpzyme HC enzimi ile etkileşen numunelerin viskozite-kayma hızı grafiği (H1M=H1ME1).

Grafikte görüldüğü gibi Pulpzyme HC enziminin farklı konsantrasyon değerleri ile muamele edilen örneklerin viskozite değerleri, artan kayma hızı ile doğrusal olarak azalmaktadır.

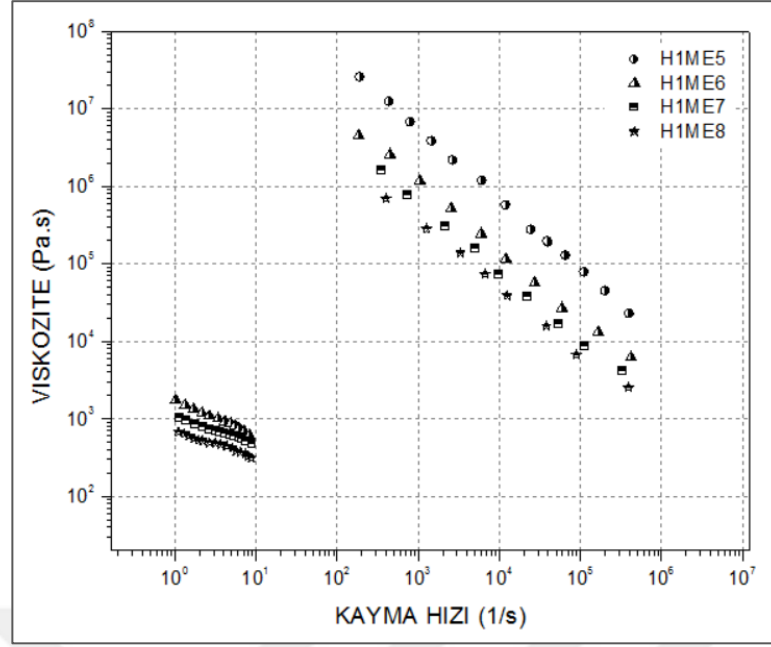
Celluclast 1.5 L enzimi ile etkileşen numunelerin kayma hızı-kayma gerilimi grafiği. Şekil 3.14'de verilmiştir.



Şekil 3.14. Celluclast 1.5 L enzimi ile etkileşen numunelerin kayma gerilimi-kayma hızı grafiği (H1M=H1ME5).

Şekil 3.14'de görüldüğü üzere, Celluclast 1.5 L enzimi ile farklı konsantrasyonlarda muamele edilen numunelerin kayma gerilimleri kayma hızı ile artış göstermektedir. Bu artış Pulpzyme HC enzimi ile karşılaştırıldığında daha orantılı bir artış olarak gözlemlenmekte olup Pulpzyme HC'deki kadar değerler arasında fark yoktur. Tüm numunelerde, kayma incelmesi (shear thinning) davranışı [23], numunelere uygulanan enzimatik muamele ile birlikte de devam etmektedir.

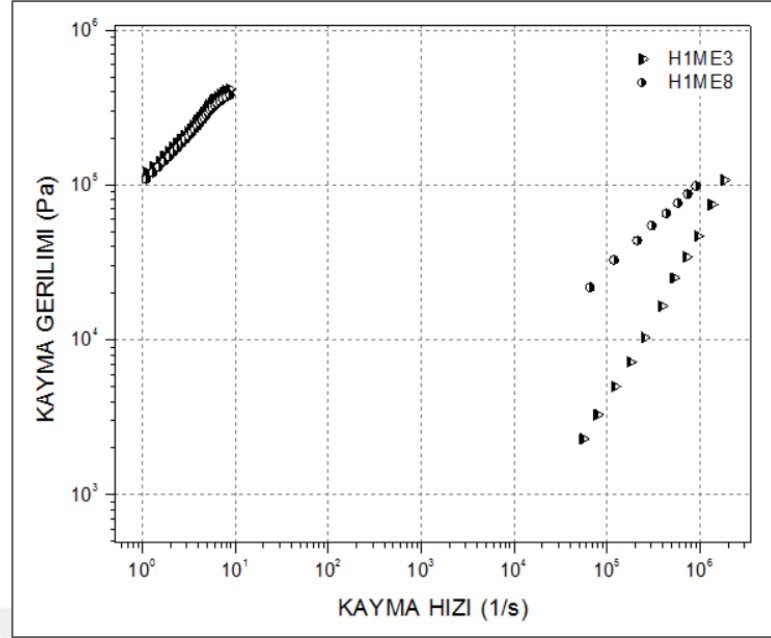
Celluclast 1.5 L enziminin numunelerdeki viskozitesini görmek adına, viskozite-kayma hızı grafiğe geçirilmiştir.



Şekil 3.15. Celluclast 1.5 L enzimi ile etkileşen numunelerin viskozite-kayma hızı grafiği (H1M=H1ME5).

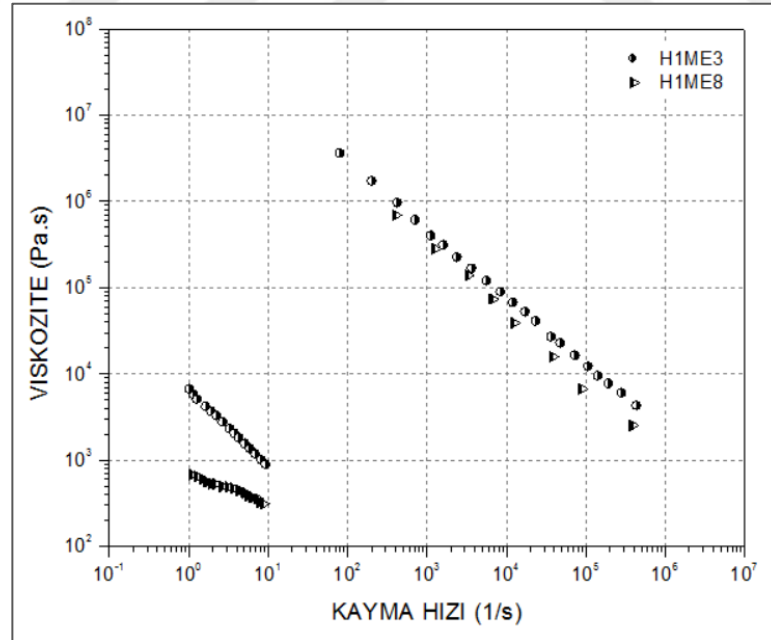
Şekil 3.15 grafiğinde enzim konsantrasyonu artışı ile viskozitede meydana gelen değişim verilmiştir. Buna göre, Celluclast 1.5 L enziminin aktivitesinin (konsantrasyonunun) artırılması ile vizkozite değerinin önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. En yüksek enzim aktivitesine sahip olan ürünün en düşük kayma gerilimi ve viskozite değeri verdiği görülmektedir.

Ayrıca, Pulpzyme HC ve Celluclast 1.5 L enzimlerinin optimum aktiviteye sahip konsantrasyonları ile (H1ME3 ve H1ME8) muamele edilen numunelere ait kayma gerilimi-kayma hızı ve vizkozite-kayma hızı grafikleri Şekil 3.16 ve Şekil 3.17’de verilmiştir.



Şekil 3.16. H1ME3 ve H1ME8 numunelerinin kayma gerilimi- kayma hızı grafiği

Şekil 3.16 incelendiğinde, düşük kayma hızlarında Celluclast 1.5 L enzimi ile muamele edilen H1ME8'in daha düşük gerilim değerine sahip olduğu gözlenirken, yüksek kayma hızlarında ise Pulpzyme HC enzimi ile muamele edilen H1ME3'ün daha düşük gerilim değerine sahip olduğu gözlenmiştir.

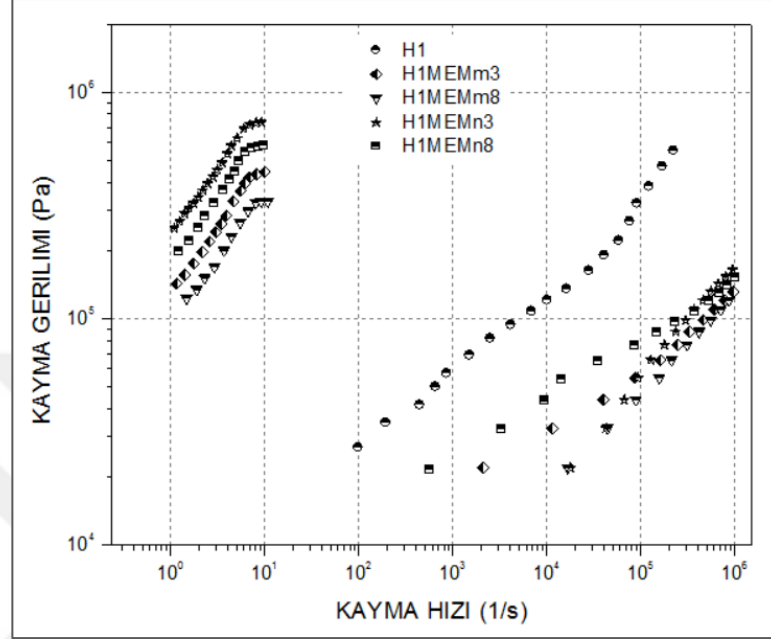


Şekil 3.17. H1ME3 ve H1ME8 numunelerini viskozite-kayma hızı grafikleri

Şekil 3.17 incelendiğinde Celluclast 1.5 L enziminin, Pulpzyme HC enzimine göre daha düşük bir viskozite oranına sahip bir ürün meydana getirdiği görülmektedir.

### 3.3.3. Ağartılmış Kraft Hamur Lifi, MFC ve NFC Ürünlerinin Reolojik Özelliklerinin Araştırılması

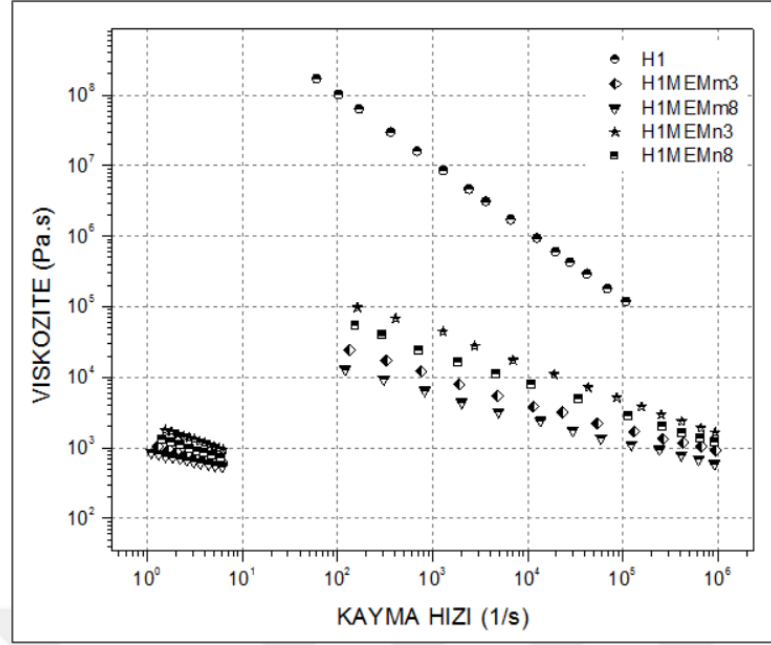
Homojenizasyon işlemi ile elde edilen numunelerin kayma gerilimi- kayma hızı grafikleri Şekil 3.18’de verilmiştir.



Şekil 3.18. H1, H1MEMm3, H1MEMm8, H1MEMn3 ve H1MEMn8 numunelerine ait kayma gerilimi-kayma hızı grafiği

MFC (H1MEMm3 ve H1MEMm8) ile NFC'lerin (H1MEMn3 ve H1MEMn8) kayma gerilimi değerleri incelendiğinde ağartılmış kraft hamur lifine (H1) göre gerilim değerlerinin oldukça düştüğü gözlemlenmiştir ( $10^2$ - $10^6$  kayma hızında). Kendi aralarında ise MFC'nin NFC'ye göre daha düşük bir kayma gerilimi oranına sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Viskozite ilişkilerini gözlemek amacıyla viskozite kayma hızı oranları Şekil 3.19’da grafiğe aktarılmıştır.

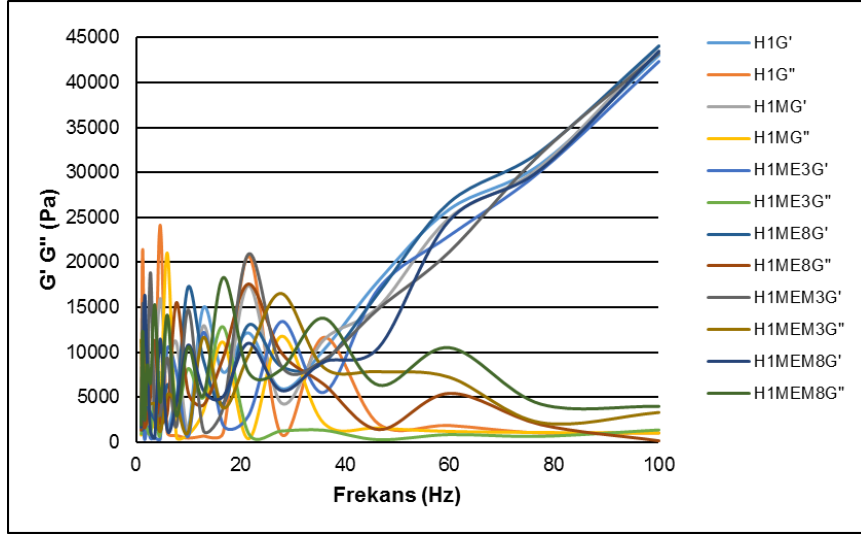


Şekil 3.19. H1, H1MEMm3, H1MEMm8, H1MEMn3 ve H1MEMn8 numunelerine ait viskozite-kayma hızı ilişkisi

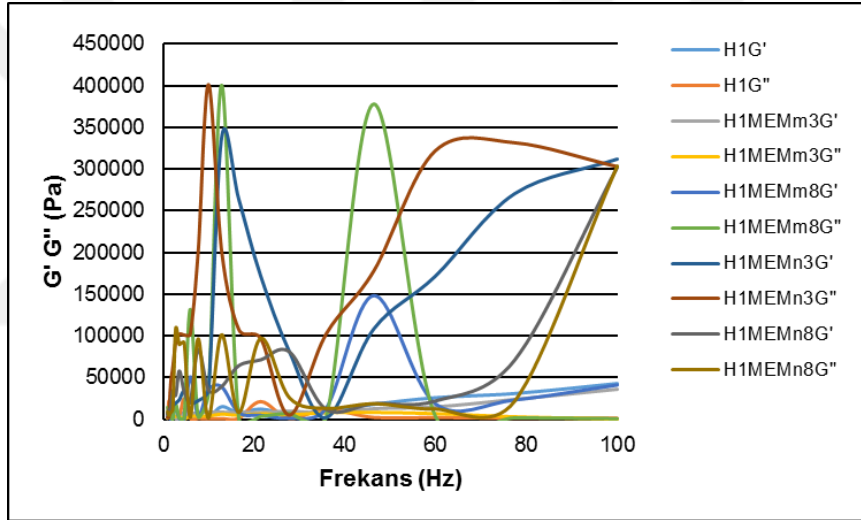
Şekil 3.19 incelendiğinde, MFC (H1MEMm3 ve H1MEMm8) ve NFC (H1MEMn3 ve H1MEMn8) materyallerinde viskozite değerinin ağartılmış kraft hamur lifine (H1) göre önemli ölçüde düştüğü gözlenmektedir. Viskozitede meydana gelen bu düşüş, ön muameleler (mekanik liflendirme ve enzimatik muamele) ve homojenizasyon işlemleri sonrasında materyal yapısında meydana gelen önemli modifikasyonlar nedeniyledir ve ayrıca lifler arasında molekül içi ve moleküller arası bağlanmayla topaklanan lif boyutunun dağılımına göre değişir [22].

MFC ve NFC materyalleri karşılaştırıldığında, NFC materyallerinin daha yüksek viskozite değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Bu bulgu Einsteinın: yüksek topaklanmayla sonuçlanan, spesifik yüzey alanının artırılması dahilinde selülozun yüzey reaktifliğinin artması olan higher length to diameter ratio [149] katsayısının artışıyla açıklanabilir. Benzer sonuçlar Missoum [25] tarafından gözlenmiştir.

Yukarıdaki davranışlarla birlikte numunelerin viskoz ve elastik özelliklerini incelemek amacıyla dinamik viskozite ölçümleri yapılarak Storage modulus ( $G'$ ) ve Loss modulus ( $G''$ )'leri belirlenmeye çalışılmıştır. Burada  $G' \gg G''$  ise numune elastik davranış,  $G' \ll G''$  ise numune viskoz davranış gösterecektir. Bu amaçla, bazı örneklerin frekans – storage ve loss modulus değerleri grafiğe aktarılmıştır (Şekil 3.20 ve Şekil 3.21).



Şekil 3.20. Ağartılmış Kraft hamur liflerinden farklı ön mumale işlemleri sonrasında elde edilen numunelere ait elastik ve viskoz modül-frekans grafiği



Şekil 3.21. Ağartılmış Kraft hamur liflerinden elde edilen MFC ve NFC numunelerine ait elastik ve viskoz modül-frekans grafiği

Numunelerde, muamelelerle birlikte genel olarak kayma gerilmelerinde azalma gözlemlenirken, her bir numune ayrı olarak incelendiğinde ise kayma hızı ile yüzey gerilimi belirli bir değere kadar artış göstermiş olup bu noktadan sonra sabit kalmaktadır. Bu davranışlar literatür ile uyumludur [178], [179]. Örneklerin viskozite değerleri de literatürle paralellik göstermekte olup artan kayma hızına karşın azalma göstermiştir [13], [180], [181]. Bu ortaya çıkan değerler incelendiğinde, MFC ve NFC numuneleri kayma incilmesi türünden visko-elastik davranış göstermiş ve psedoplastik malzemeler ile uyum içerisinde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca psedoplastik yapı, değişken işlemler sonucunda bozulmaya uğramamıştır. Selüloz süspansiyonlarının reolojik davranışlarını etkileyen temel unsurlar, topaklanma, liflerin konumu ve süspansiyonların yoğunluğudur. Bu

parametreleri etkileyen unsurlar da, mekanik kuvvetler ve wanderwalls ile elektrostatik çift katmanlı yüzey gerilimleri olan, kolloidal kuvvetlerdir. Wanderwalls kuvvetleri, molekülün yüzeyindeki geçici indüklenmiş ya da sürekli dipollerin oluşması sonucunda, yüzey moleküllerinin birbirlerini çekmesidir. Elektrostatik çift katmanlar (Electrostatic double layers) ise yüklü yüzey veya su ortamının etrafında toplanan iyonların, birbirini itmesi sonucu oluşur. Kayma hızı değerinin artmasıyla, mekanik kuvvetler ve kolloidal kuvvetlerin etkileşimleri azalır ve vizkozite değerleri düşer [180].

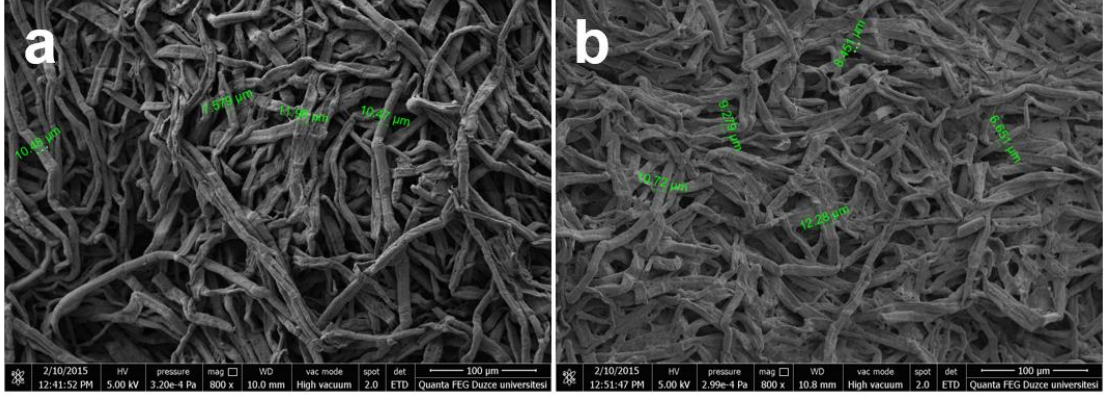
Selüloz lifleri ayrıca 3 boyutlu sistem denilen, amorf ile kristal yapıların bir arada bulunduğu bir kafes ağında bulunur. Yumru ve sarmal haldeki bu sistem, topaklanmış olarak bulunan liflere uygulanan gerilimin etkisiyle, lifler hemen aşınır ya da ikiye bölünerek yavaş yavaş açılır. Bu durum sonucunda topaklanma bozulur. Bu sistemlerde kayma gerilimi, belli bir değere kadar hızla artarken, viskozite de azalır [176]. Yapılan çalışmada ağartılmış kraft hamur lifleri düşük kayma hızlarında yüksek viskozite değerlerine sahip iken jel tipi davranış özelliği göstermiştir. Dolayısıyla yüksek viskoziteye sahiptir. Ancak uygulanan gerilimin etkisiyle liflerin direnci azalmış ve viskozite değerleri düşmüştür. Mekanik işlem, enzimatik muamele ve homojenizasyon işlemleri ile örneklerin boyutları küçültülmüş ve buna bağlı olarak yüksek frekanslarda jel oluşumu devam etmiştir.

Ayrıca çalışma kapsamında enzimatik muameleler sonucunda, viskozitede elde edilen veriler, enzimatik muameleler sonrası elde edilen DSC verilerini destekler niteliktedir. Buna göre, odun liflerinin, artan enzim konsantrasyonları ile genel anlamda bozunma sıcaklıkları düşmüş, en çok düşme de Celluclast 1.5 L enzimi ile etkileşen numunelerde gözlenmiştir. Aynı zamanda Celluclast 1,5 L ile etkileşen numunelerin reolojik özellikleri incelendiğinde, yüzey gerilimlerinde diğer ürünlere göre daha yüksek oranda azalma gözlenmiştir. Bu durum sonucunda da enzimler ile bozunma sıcaklıkları arasında doğru orantılı bir ilişki olduğunu gösterir.

### **3.4 MORFOLOJİK ÖZELLİKLER**

Şekil 3.22'de ağartılmış kraft hamuru (H1) ve aynı hamurun mekanik liflendirme sonrası (H1M) SEM görüntüsü verilmiştir. Literatürde homojenleştirme işlemi öncesinde uygulanabilecek bir mekanik ön muamele işleminin selüloz I yapısında hasarlı bölgeler oluşturduğu ve hücre çeperini şişirerek homojenleştirme işleminin etkinliğini artırdığı

belirtilmiş olup [13], 100 µm skalasında alınan ölçümlerde mekanik liflendirme sonrası liflerde saçaklanmaların meydana geldiği görülmektedir. Öte yandan mekanik liflendirme işlemi lif hücre çeperi içerisindeki zayıf noktaların miktarını kontrol edilebilir seviyede tutarak bir sonraki enzimatik muamele işleminin etkinliğini artırmakta, bu ise daha sonrasında homojenleştirme işlemini kolaylaştırmaktadır.

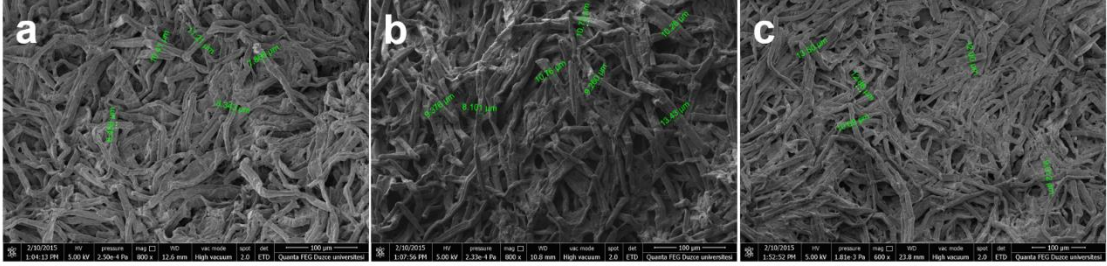


Şekil 3.22. a) H1 ve b) H1M (H1M= H1ME1= H1ME5) SEM görüntüleri

Şekil 3.23 ve 3.24'de ağartılmış kraft hamurunun (H1) 1. mekanik liflendirme işlemi sonrasında farklı konsantrasyonlarda Pulpzyme HC (H1ME2, H1ME3 ve H1ME4) ve Celluclast 1.5 L (H1ME6, H1ME7 ve H1ME8) enzim muameleleri sonrası SEM görüntüleri 100 µm skalasında verilmiştir. Literatür çalışmaları incelendiğinde nano boyutta selüloz I elde etmede homojenleştirme işleminin tek başına yeterli olmadığı belirtilmektedir. Homojenleştirme işlemi öncesinde uygulanabilecek bir mekanik ön muamele ise tek başına yeterli olmamakla beraber böylesine bir etkiyle fibriler yapı zarar görmekte, fakat lif çeperi içerisindeki yapı tam olarak dağıtılamadığından ötürü lifin şişmesi çok fazla olmamaktadır [87]. Bu yapının tamamen dağılması ise kimyasal veya enzimatik bir etkiyle mümkün olabilmektedir. Homojenleştirme öncesinde uygulanabilecek bir kuvvetli asit hidrolizi işleminin ise nano boyutta selüloz I elde etmede etkin olduğu ancak, lifler üzerindeki yoğun etkisi nedeniyle düşük en boy oranına (aspect ratio) sahip selüloz I eldesine imkan tanıdığı belirtilmektedir [13]. Ancak bu çalışma kapsamında kullanılan özellikle selüloz (Celluclast 1.5 L) enziminin kristalin olmayan selülozun seçici hidrolizine imkan tanınması sebebiyle homojenleştirme işlemi sonrasında yüksek en boy oranına sahip nano boyutta selüloz I elde edilebileceği tespit edilmiştir.

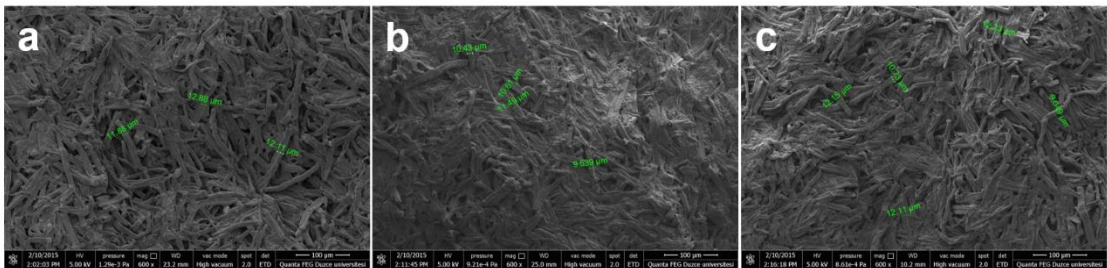
HPLC analizleri sonrasında optimum Pulpzyme HC enzim muamelesi olarak H1ME3 muamelesi tespit edilmiş ve yüksek hemiselüloz içeriğinin liflerin hücre çeperi kohezyonunu düşürdüğü ve hücre çeperi delaminasyonunu kolaylaştırdığı belirtilmiştir

[163], [13]. Eldeki bu bilgi SEM analizleri ile birlikte değerlendirildiğinde (Şekil 3.23) H1ME3'ün diğer ikisine nazaran homojenleştirme işleminin etkinliğini daha fazla artırdığı ve böylece daha kolay MFC ve NFC eldesine imkan tanıdığı gözlemlenmiştir.



Şekil 3.23. a) H1ME2, b) H1ME3, c) H1ME4 SEM görüntüleri

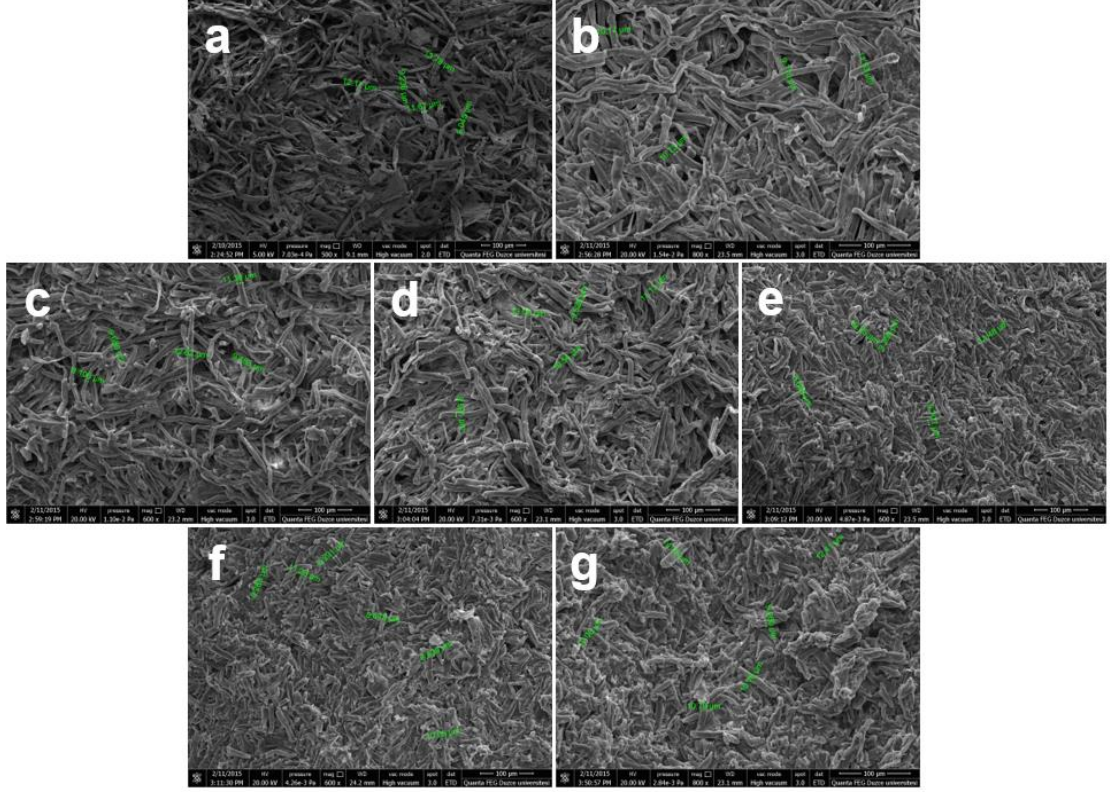
Öte yandan HPLC analizleri sonrasında optimum Celluclast 1.5 L enzim muamelesi olarak H1ME8 muamelesi tespit edilmiştir. Literatür çalışmaları incelendiğinde yüksek hemiselüloz içeriğinin tek başına homojenleştirme işleminde homojenizatördeki odacıkların tıkanmasını engellemeye yeterli olmayacağı, ancak selüloz enziminin hücre çeperi delaminasyonunu artırmasıyla odacıklardaki tıkanmanın daha etkin bir şekilde önlenilebileceği belirtilmektedir [13]. Bu çalışma kapsamında da artan Celluclast 1.5 L enzim konsantrasyonu lifler üzerinde oldukça etkili olmuş ve bunun neticesinde özellikle H1ME8 muamelesi ve bunu takip eden 2. mekanik liflendirme işlemi sonrasında homojenizatördeki odacıklarda tıkanma söz konusu olmamıştır. Şekil 3.24 incelendiğinde H1ME8 muamelesi sonrası liflerde hücre çeperi delaminasyonunun diğer ikisine nazaran daha fazla olduğu görülmektedir.



Şekil 3.24. a) H1ME6, b) H1ME7, c) H1ME8 SEM görüntüleri

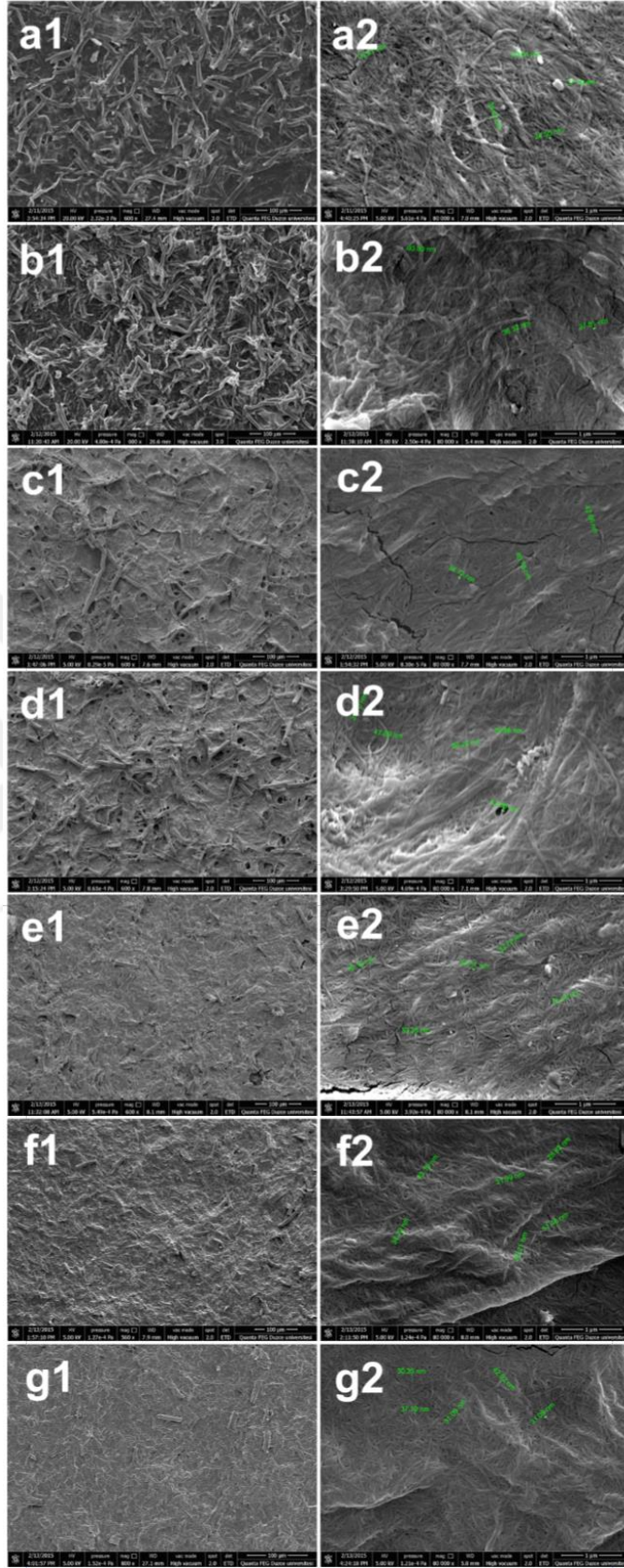
Şekill 3.25'de enzimatik muamele işlemlerini takiben uygulanan 2. mekanik liflendirme işlemi sonrasında elde edilen SEM görüntüleri 100 µm skalasında verilmiştir. Bu kademedeki liflere uygulanan 2. mekanik liflendirme işlemi hücre çeperini şişirerek homojenleştirme işleminin etkinliğini artırmış ve sonrasında uygulanan homojenleştirme işleminde homojenizatördeki odacıklarda tıkanma söz konusu olmamıştır. Bu aşamada özellikle Celluclast 1.5 L enzim muamelelerini takip eden 2. mekanik liflendirme işlemi

sonrasında liflerdeki hücre çeperi delaminasyonu oldukça yoğun gözlemlenmiş ve MFC üretimi için %2 w/w konsantrasyonundaki liflerin yalnızca 1 kere 200 µm çapındaki odacıktan yüksek basınç altında (14000 psi) geçirilmesi uygun görülmüştür.



Şekil 3.25. a) H1MEM1=H1MEM5, b) H1MEM2, c) H1MEM3, d) H1MEM4, e) H1MEM6, f) H1MEM7, g) H1MEM8 SEM görüntüleri

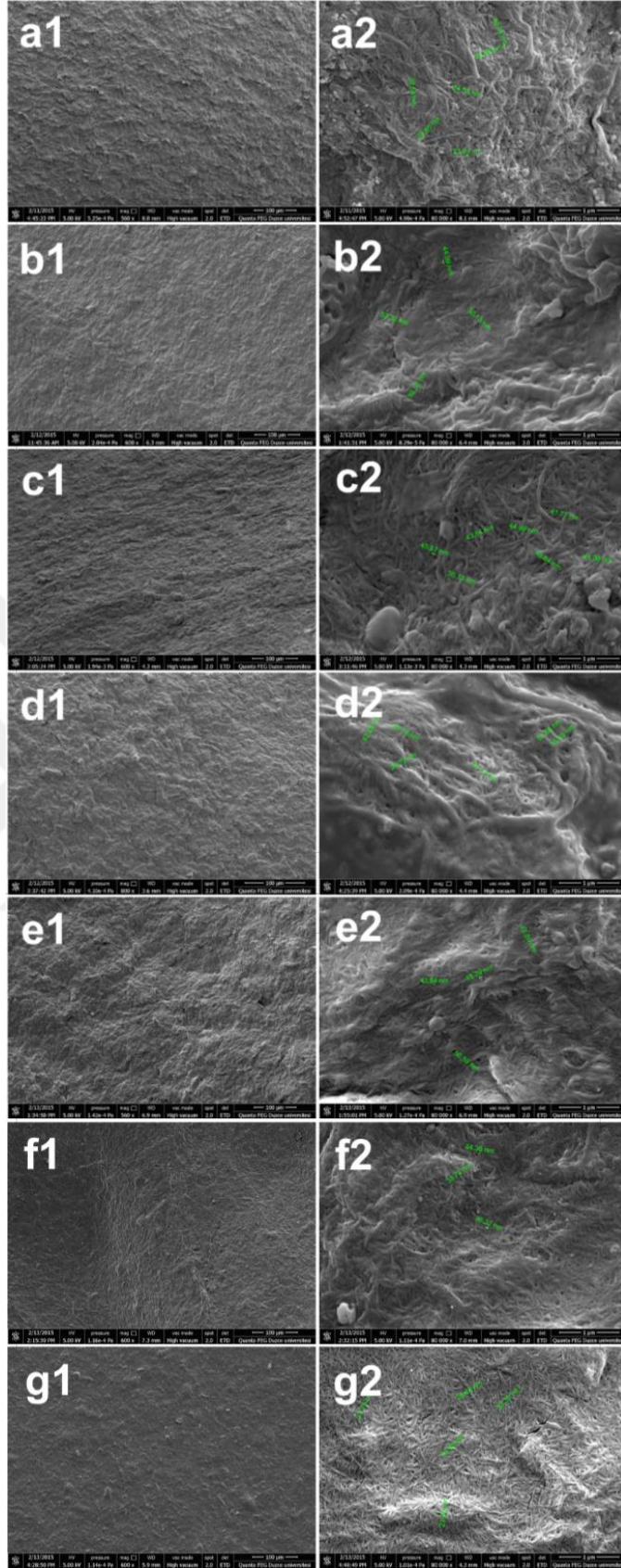
Şekil 3.26'da 100 µm ve 1 µm skalasında farklı ön muamele işlemleri sonrasında elde edilen MFC'lere ait SEM görüntüleri verilmiştir. 100 µm skalasında geniş yelpazede alınan görüntülerde mikron genişliğindeki liflerin giderek parçalandığı ve 1 µm skalasında daha yakından alınan görüntülerde ise yer yer nanofibrillerin yer aldığı görülmektedir. Ön muamele işlemlerinde artan enzim konsantrasyonuna bağlı olarak artan hücre çeperi delaminasyonu her iki enzim türü içinde şekillerde net bir şekilde gözlemlenmektedir.



Şekil 3.26. a) H1MEMm1=H1MEMm5, b) H1MEMm2, c) H1MEMm3, d) H1MEMm4, e) H1MEMm6, f) H1MEMm7, g) H1MEMm8 100 µm ve 1 µm skalasında alınan SEM görüntüleri

Şekil 3.27'de 100 µm ve 1 µm skalasında farklı ön muamele işlemleri sonrasında elde edilen NFC'lere ait SEM görüntüleri verilmiştir. Homojenleştirme işleminde 1 kere 200 µm çapındaki odacıktan (14000 psi) geçirildikten sonra 5 kere 100 µm çapındaki odacıktan yüksek basınç altında (24000 psi) geçirilen liflerden elde edilen NFC örneklerinin SEM görüntüleri 100 µm skalasında incelendiklerinde oldukça homojen bir üretimin gerçekleştiği gözlemlenmekte olup, mikron seviyesinde genişliğe sahip hiçbir lif tespit edilmemiştir. Bu çalışma kapsamında ağartılmış kraft hamur liflerinden ön muamele ve homojenleştirme işlemleri sonrasında 20-50 nm arasında değişen genişliklere sahip nanofibrillerin elde edildiği gözlemlenmiştir. Üretilen nanofibrillerin ortalama uzunlukları  $3820 \pm 170$  nm, ortalama genişlikleri  $35 \pm 12$  nm'dir. NFC'un ortalama en boy oranı ise  $115 \pm 35$  nm'dir.

Zimmermann [57] yapmış oldukları çalışmada hemiselülozca zengin sülfite hamurunu önce mekanik ön muamele işlemine tabi tutmuş ve sonrasında elde edilen lifleri mikrofluidizerdan geçirerek 100 nm altında genişliğe ve yüksek en boy oranına sahip nanofibrillerin elde edilebildiğini ortaya koymuşlardır. Taniguchi ve Okamura [29] da süper öğütme (super-grinding) metoduyla odun hamurundan 20-90 nm genişliğinde nanofibrillerin elde edilebildiğini ortaya koymuşlar ve lif boyuna eksenine kayma gerilmelerine maruz kaldığında liflerin nano boyuta indirgenebileceğini belirtmişlerdir. Literatür çalışmaları incelendiğinde homojenleştirme işlemlerinde kullanılan mikrofluidizerların da benzer bir etkiyle yüksek basınç altında lifleri nano boyuta indirgediği görülmektedir [28]. Lif boyuna eksenine uygulanan kayma gerilmeleri (kullanılan homojenizatör tipi, 1500 bar üzerinde uygulanan basınç ve 75-200 µm arasında değişen Y veya Z morfolojisi), süre ve odacıklardan geçiş sayısı gibi faktörler elde edilecek son ürünün boyutları üzerinde oldukça etkilidir. Ankerfors [30] da sülfite hamurunu mekanik ve enzimatik ön muamele işlemleri sonrasında mikrofluidizerdan geçirmiş ve 10-20 nm genişliğinde nanofibrillerin elde edilebildiğini ortaya koymuşlardır. Herrick [46] da odun hamurundan homojenizasyon işlemi sonrasında 25-100 nm genişliğinde nanofibrillerin elde edilebildiğini ortaya koymuşlardır. Leitner [90] ise şeker kamışından kimyasal yöntemle elde ettikleri hamur liflerini mekanik ön muamele sonrası APV Gaulin laboratuvar tipi homojenizatörden 300 bar basınç altında 10-15 kez geçirerek 30-100 nm genişliğinde nanofibrillerin elde edilebildiğini ortaya koymuşlardır.



Şekil 3.27. a) H1MEMn1=H1MEMn5, b) H1MEMn2, c) H1MEMn3, d) H1MEMn4, e) H1MEMn6, f) H1MEMn7, g) H1MEMn8 100 µm ve 1 µm skalasında alınan SEM görüntüleri

### 3.5. TERMAL ÖZELLİKLER

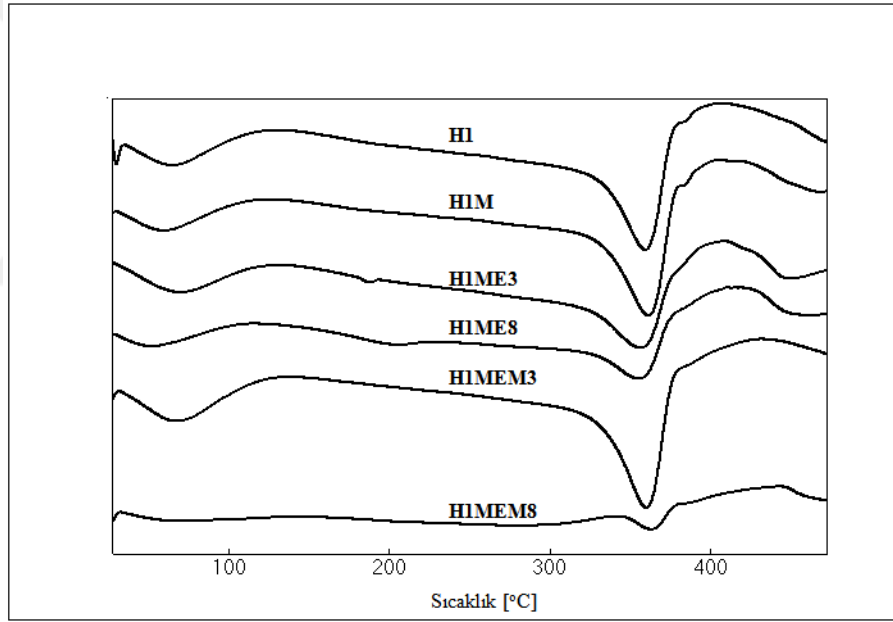
#### 3.5.1. DSC Analizleri

Örneklerin DSC analizlerini araştırmak için yapılan araştırmada aşağıdaki 3 detay üzerinde durulmuştur:

- Ön muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) arasındaki farklar,
- Farklı enzim ve enzim konsantrasyonları arasındaki farklar,
- Ağartılmış kraft hamur lifi ile MFC ve NFC ürünleri arasındaki farklar.

##### 3.5.1.1 Ön Muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin DSC Analizleri

Ön muameleler sonucu elde edilen örneklerin DSC grafikleri şekil 3.28’de verilmiştir.



şekil 3.28. Ön muameleler sonucunda elde edilen ürünlerin DSC grafikleri.

şekil 3.28’de verilen grafiğteki numunelerin bozunma sıcaklıklarınının sayısal değerleri, ayrıntılı olarak Çizelge 3.5’te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Ön muameleler sonucunda elde edilen numunelerin bozunma değerleri

	Bozunma sıcaklığı (°C)	Isı (J/g)
H1	359.16	188.32
H1M	358.64	130.40
H1ME3	356.29	108.41
H1ME8	355.48	87.56
H1MEM3	360.15	187.06
H1MEM8	362.67	19.94

Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin DSC grafikleri incelendiğinde, Celluclast 1.5 L enzimiyle muamele edilen H1MEM8 ürünü hariç neredeyse bütün örnekler benzer degradasyon özelliği göstermiştir. Çalışma kapsamında örneklerin DSC analizlerinde iki endotermik pik üzerinde durulmuştur. İlk olarak 50 °C'den başlayarak 100 °C'ye kadar devam eden ve serbest haldeki suyun uzaklaşan miktarını veren endotermik pik gözlenmektedir. Bu pikin alanlarında değişimler söz konusudur. Bu değişim, moleküllerin, işlemler sonucunda yüzey alanlarının değişmesi ve hidrojen bağı yapabilme kapasitesinin değişiminden kaynaklanmaktadır [182], [183]. Enzimatik muameleler sonucu elde edilen materyaller karşılaştırıldığında, Celluclast 1.5 L enzimiyle muamele edilen materyalin (H1MEM8) 50-100 °C arasında daha fazla degrade olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 3.5'te verilen değerler incelendiğinde, grafiklerde 350-380 °C arasında geniş endotermik bir pik gözlenmektedir. Selülozun bozulmasını gösteren bu pik [184], [185], [183], [186], [182] materyallerin DSC analizlerini incelerken üzerinde durduğumuz ikinci piktir. Buradaki bozunma sıcaklığı, termal kararlılığın yüksek olmasıyla ilişkilidir ve bu sıcaklık materyallerin kristallik derecesine göre değişir [17].

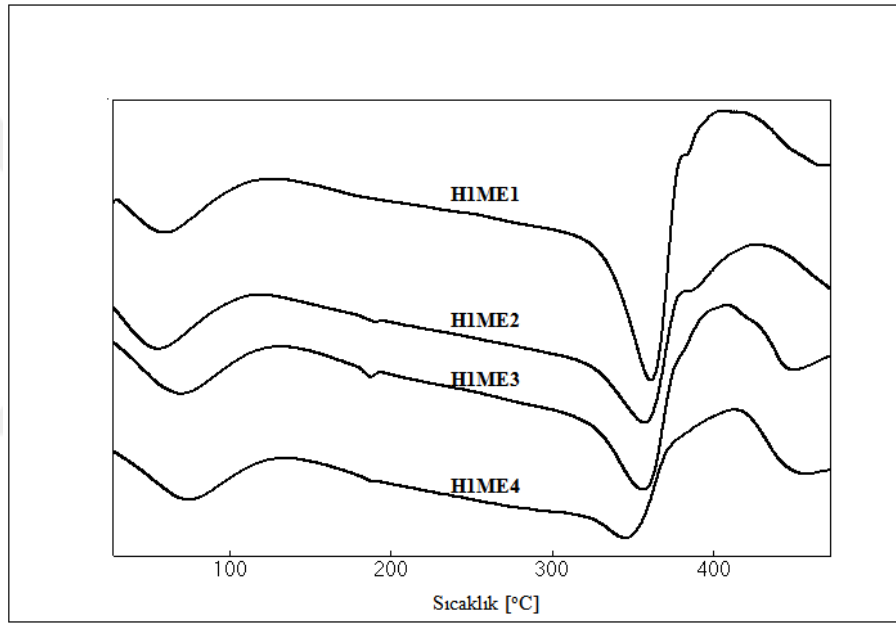
Elde edilen örneklerin sıcaklık ile bozunması ve entalpi değişimleri incelenmiş olup sonuçlar literatür ile uyumlu biçimdedir [184], [185].

Çizelge 3.5'te verilen değerler incelendiğinde, ağartılmış kraft hamur lifine uygulanan mekanik ve enzimatik ön muamele işlemleri sonrasında bozunma sıcaklıklarının düştüğü görülmüştür. H1, H1M, H1ME3 ve H1ME8 materyalleri için bozunma sıcaklıkları sırasıyla 359, 358, 356, 355 °C'dir. Bu düşüş glikozidik bağların deformasyonundan dolayı yapıdaki kristallik/amorfluk oranının değişmesinden kaynaklanmaktadır [31]. Selülozun yapısındaki glikozidik bağın bozulması ile birlikte glukoz monomerindeki hidroksil bağlarından birinin, kendine en yakın komşu glukoz monomerindeki 1. C ile

yeni bir halka yapımı sonucu oluşan leavoglukoz, depolimerizasyona yol açar, bu oluşum sonucu hidrojen bağı azalması sonucunda da kristallik/amorfluk oranı değişerek bozunma sıcaklığını etkiler. Celluclast 1.5 L enzimi önemli bir etki göstererek bozunma sıcaklığını düşürmüştür. Bu sonuç, materyalin molekül ağırlığının ve polimerizasyon derecesinin düşmesinden kaynaklanmaktadır.

### 3.5.1.2 Enzimatik Muameleler Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin DSC Analizleri

Pulpzyme HC ve Celluclast 1.5 L enzim konsantrasyonlarının numunelerin DSC analizleri üzerindeki etkisini görmek amacıyla elde edilen sonuçlar grafiğe geçirilmiş ve Şekil 3.29 ve Şekil 3.30'da verilmiştir.



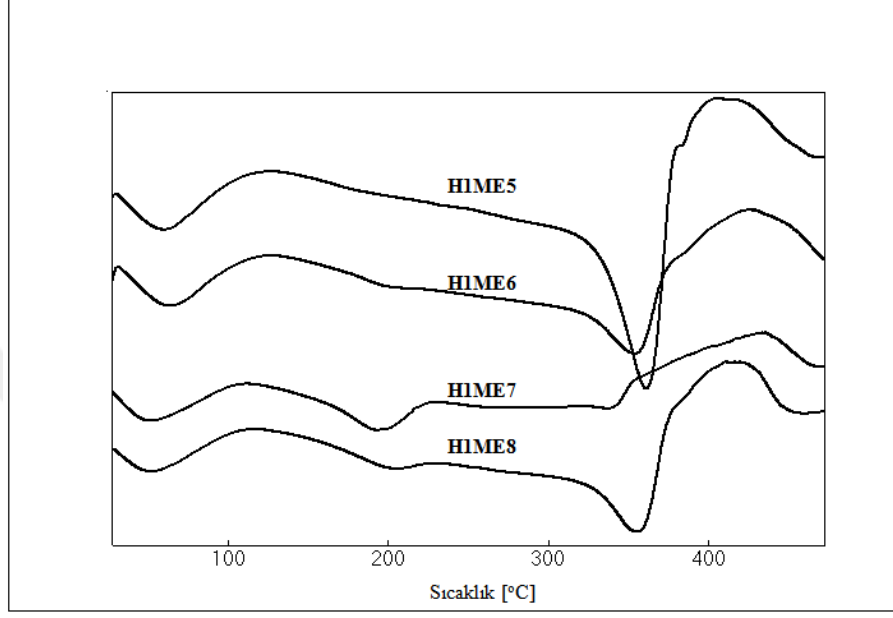
Şekil 3.29. Pulpzyme HC enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin DSC grafikleri (H1M=H1ME1).

Çizelge 3.6. Numunelere uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Pulpzyme HC enzim muameleleri sonucunda numunelerin bozunma sıcaklıkları

	Bozunma sıcaklığı (°C)	Isı (J/g)
H1ME1	361.22	228.78
H1ME2	357.14	118.9
H1ME3	356.29	119.22
H1ME4	345.03	56.3

Sonuçlar incelendiğinde, enzim konsantrasyonunun artması ile 350-380 °C'lerde gözlenen bozunma sıcaklığında düşme gözlenmektedir. Pulpzyme HC enzimi, hemiselülozdaki glukoz birimlerine aktifliği (konsantrasyon oranı) ile doğru orantılı

olarak etki yaparak, bozunma sıcaklığını düşürmüştür. Bunun nedeni de glukoz birimlerinin etkilenmesi sonucunda, polimer yapıdaki kristalite oranının düşmesi olabilir. Ayrıca enzim aktivasyonunun artması ile, 50-100 °C arasındaki bölgedeki su kaybını veren pikin alanında genişleme söz konusudur. Bu durum, yüzey alanının değişimi sonucu selüloz moleküllerinin, hidrojen bağı yapma kapasitesinin artması ile ilgilidir.



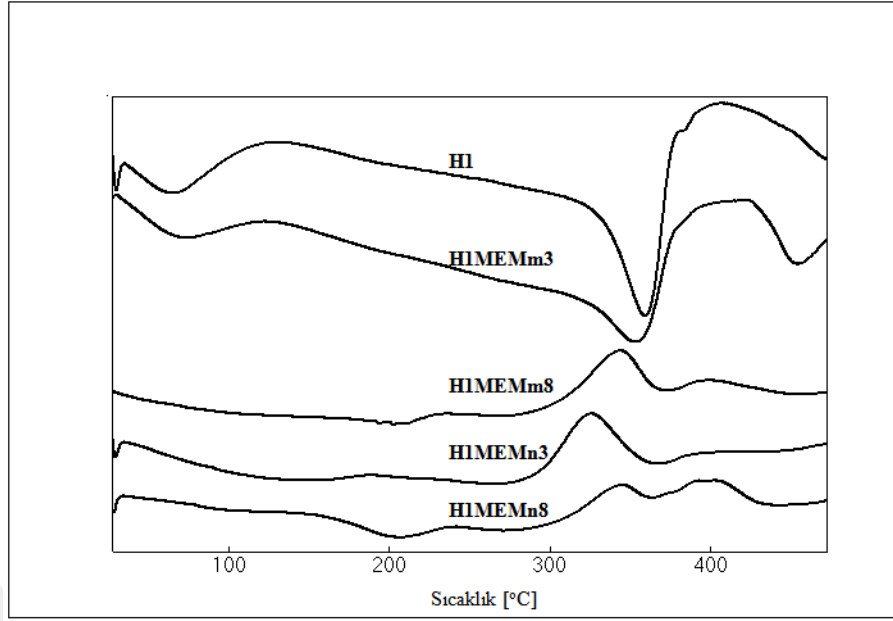
Şekil 3.30. Celluclast 1.5 L enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin DSC grafikleri.

Çizelge 3.7. Numunelere uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Celluclast 1.5 L enzim muameleleri sonucunda numunelerin bozunma sıcaklıkları

	Erime noktası (°C)	Isı (J/g)
H1ME5	360.02	274.02
H1ME6	353.61	134.43
H1ME7	336.99	247.21
H1ME8	355.48	164.75

Şekil 3.30 incelendiğinde, enzim konsantrasyonunun artması ile, 350-380 °C'lerde gözlenen geniş endotermik pikin daha düşük sıcaklıklarda bozunma gerçekleştirdiği ve bu bozunmanın H1ME7 nolu üründe daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Celluclast 1.5 L enzimi selülozdaki, glukoz birimlerine, aktifliği ile doğru orantılı bir etki yaparak kristalite oranını değiştirmiştir. 50-100 °C arasındaki bölgedeki su kaybını veren pikin alanında daralma söz konusudur. Bu durum da yüzey alanı ve hidrojen bağı kapasitesi ile ilgilidir.

### 3.5.1.3. Ağartılmış Kraft Hamur Lifi, MFC ve NFC Ürünlerinin DSC Analizleri



Şekil 3.31. Ağartılmış kraft hamur lifi, MFC ve NFC ürünlerinin DSC grafikleri.

Şekil 3.31 incelendiğinde, 50-100 °C arasındaki ilk endotermik pik, ağartılmış kraft hamuru (H1) ve Pulpzyme HC ön muamelesinden sonra elde edilen MFC materyalinde (H1MEMm3) açıkça görülmektedir. Bozunma sıcaklığı 359 °C olan ağartılmış kraft hamur lifi (H1), ön muameleler ve homojenizasyon işlemi için hemiselüloz enzimi ile MFC elde etmek amacıyla uygulanan işlem olan, 200 µm'lik hücreden geçirildikten sonra, bozunma sıcaklığında düşme gözlenmiştir. Ardından NFC üretmek için uygulanan işlem sonrasında ise kristal oranı düşerek bozunma sıcaklığında yükselme göstermiştir.

Selülozun bozulmasını veren 350-380 °C'lerde, MFC ve NFC materyallerinin degradasyon sıcaklıklarında farklılıklar gözlenmiştir. Ön muamele ajanı olarak kullanılan Celluclast 1.5 L enzimi sonucu elde edilen MFC (H1MEMm8) ve NFC (H1MEMn8) materyallerinin daha amorf bir yapıda oldukları gözlenmiştir. NFC materyalleri daha yüksek viskozite değerleri göstermiş olup, çalışmada yapılan reolojik analizler bu sonucu desteklemektedir.

### 3.5.2. TGA Analizleri

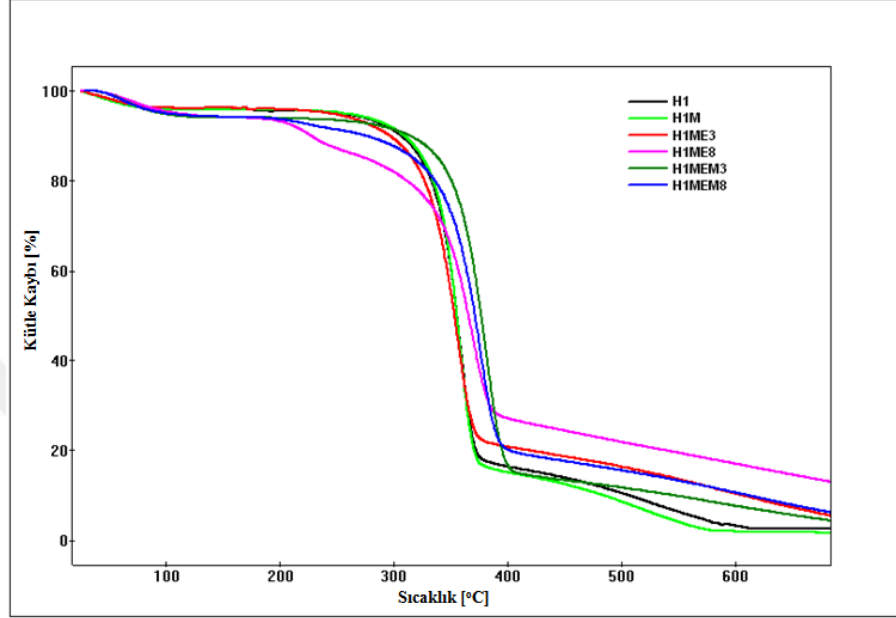
Örneklerin TGA analizlerini araştırmak için yapılan araştırmada aşağıdaki 3 detay üzerinde durulmuştur:

- Ön muameleler (1.mekanik liflendirme, optimum enzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) arasındaki farklar,

- Farklı enzim ve enzim konsantrasyonları arasındaki farklar,
- Ağartılmış kraft hamur lifi ile MFC ve NFC ürünleri arasındaki farklar.

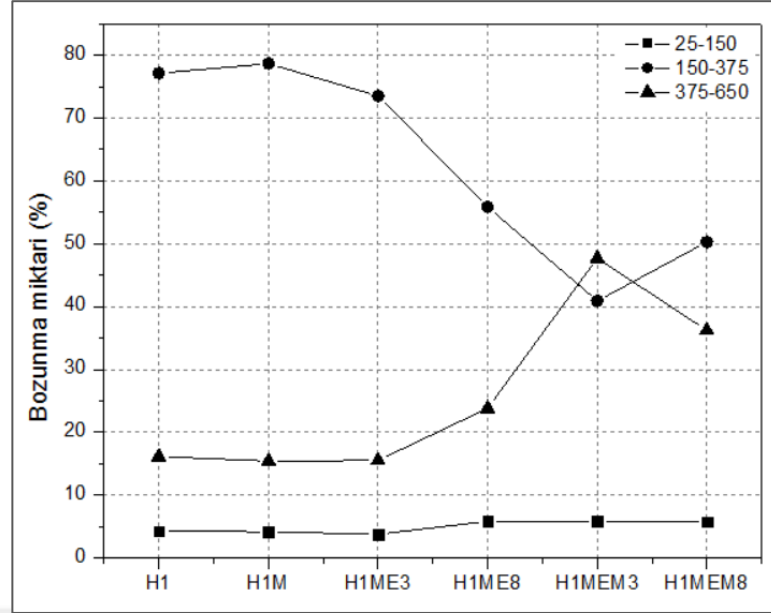
### 3.5.2.1 Ön Muameleler (1.mekanik liflendirme, optimumenzimatik muameleler, 2. mekanik liflendirme) Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin TGA Analizleri

Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin TGA grafikleri Şekil 3.32’de verilmiştir.



Şekil 3.32. Ön muameleler sonucunda elde edilen ürünlerin TGA grafikleri.

Şekil 3.32 incelendiğinde, sıcaklıkla kütle kayıplarının arttığı gözlenmektedir. Başlangıçtaki bozunma sıcaklıkları H1 için 272 °C iken mekanik liflendirme sonucu elde edilen H1M materyalinde neredeyse hiç değişiklik olmamıştır. Celluclast 1.5 L enzimi ile muamele edilen örnekler, Pulpzyme HC enzimi ile muamele edilen örneklere göre daha düşük bozunma sıcaklığı göstermiştir. Enzim muamelelerinin ardından yapılan ikinci mekanik liflendirme işlemi sonrasında elde edilen H1MEM3 ve H1MEM8 materyalleri daha düşük bozunma sıcaklığı göstermiştir.

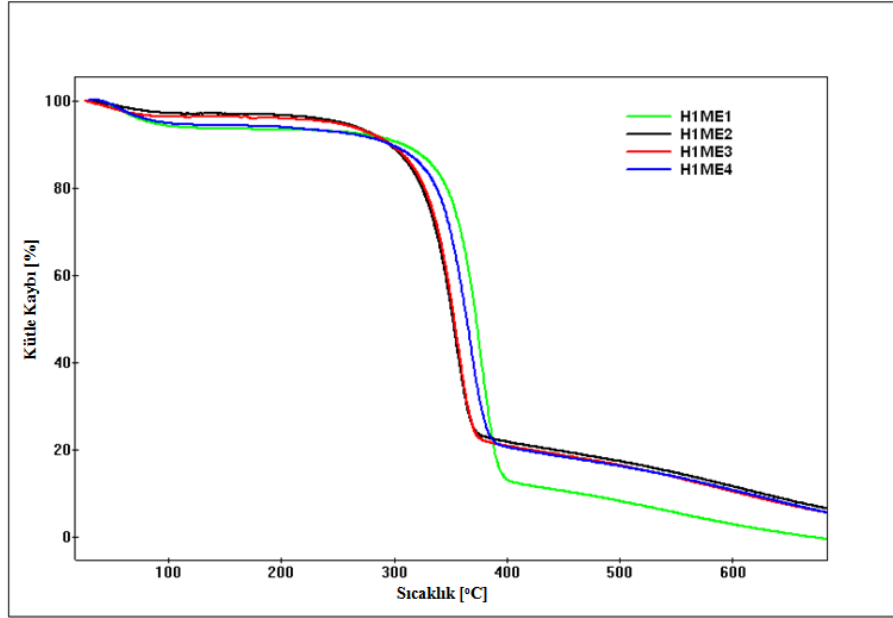


Şekil 3.33. Ön muameleler sonucu elde edilen ürünlerin bozunma miktarı

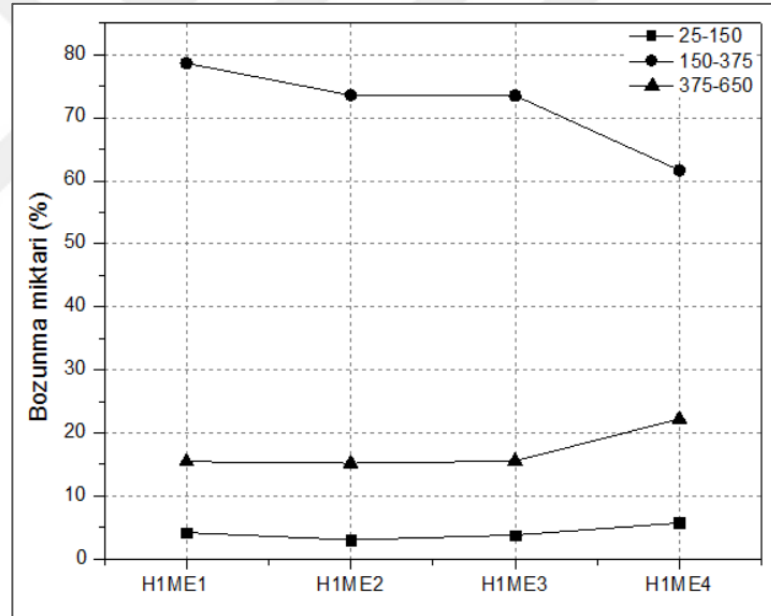
Şekil 3.33'te verilen sıcaklık zamanlarındaki kütle kayıpları incelendiğinde ise ilk bölge olan 25-150 °C aralığında %3-6 oranında su ve düşük molekül ağırlıklı yapıların uzaklaştığı [182], [32], ikinci bölge olan 150-375 °C aralığında %40-80 oranında selüloz, hemiselüloz ve ligninin yapıdan uzaklaştığı [185] üçüncü bölge olan 375-650 °C arasında ise % 10-50 arasında lignin ve diğer büyük katı kalıntılardan kaynaklı karbon moleküllerinin yapıdan uzaklaştığı gözlenmiştir [33]. Lignin ve katı kalıntıların uzaklaştığı 375-650 °C arasındaki bölgede H1MEM3 en yüksek bozunma miktarına sahip iken ikinci bölgede en düşük bozunma miktarına sahip olmuştur.

### 3.5.2.2. Enzimatik Muameleler Sonucunda Elde Edilen Ürünlerin TGA Analizleri

Ağartılmış kraft hamur liflerinden Pulpzyme HC enziminin farklı konsantrasyonlardaki uygulamaları sonucu elde edilen numunelerin TGA analizlerini ve bozunma miktarlarını gösteren grafikler Şekil 3.34 ve Şekil 3.35'te verilmiştir.



Şekil 3.34. Pulpzyme HC enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin TGA grafikleri (H1M=H1ME1).

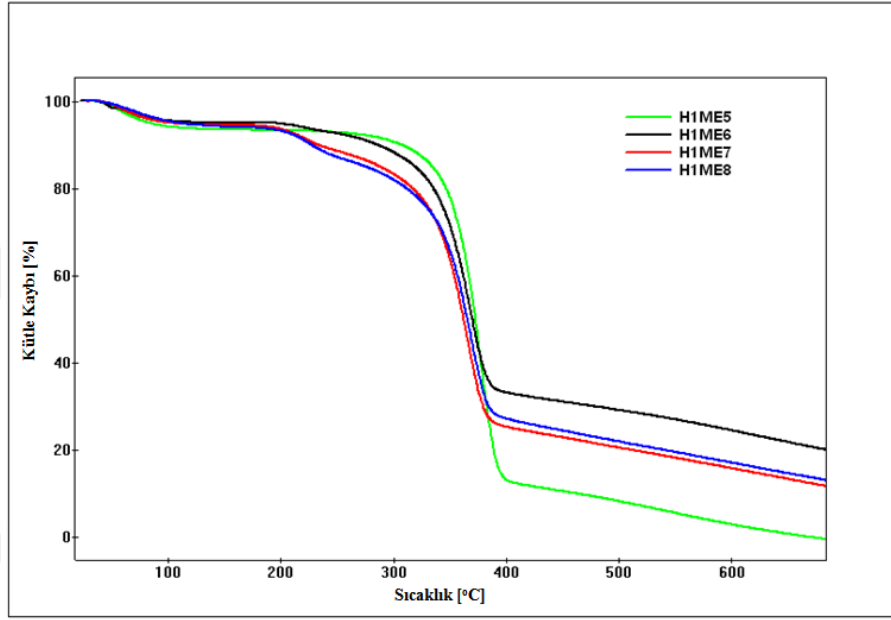


Şekil 3.35. Pulpzyme HC enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin bozunma miktarı

Pulpzyme HC enzim muamelesi sonucu elde edilen ürünlerin TGA grafikleri incelendiğinde en düşük bozunma sıcaklığı H1ME3 (265 °C) örneğinde gözlenmiştir (Şekil 3.34). Şekil 3.35'deki kütle kayıpları incelendiğinde ise ilk bölge olan 25-150 °C aralığında %3-6 oranında su ve düşük molekül ağırlıklı yapıların uzaklaştığı [182] ikinci bölge olan 150-375 °C aralığında %60-80 oranında selüloz, hemiselüloz ve ligninin yapıdan uzaklaştığı, üçüncü bölge olan 375-650 °C arasında ise %15-25 arasında lignin

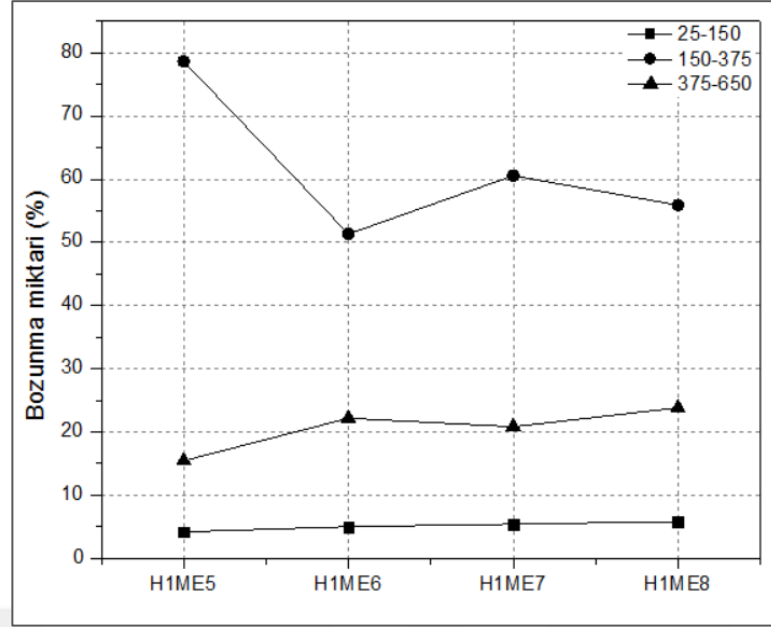
ve diğ er büyük katı kalıntılardan kaynaklı karbon moleküllerinin yapıdan uzaklaştığı gözlenmiştir [33]. Lignin ve katı kalıntıların uzaklaştığı 375-650 °C arasındaki bölgede H1ME4 en yüksek bozunma miktarına sahip iken ikinci bölgede en düşük bozunma miktarına sahip olmuştur.

Ağartılmış kraft hamur liflerinden Celluclast 1.5 L enziminin farklı konsantrasyonlardaki uygulamaları sonucu elde edilen numunelerin TGA analizlerini ve bozunma miktarlarını gösteren grafikler Şekil 3.36 ve Şekil 3.37’de verilmiştir.



Şekil 3.36. Celluclast 1.5 L enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin TGA grafikleri (H1M=H1ME5).

Celluclast 1.5 L enzim muamelesi sonucu elde edilen ürünlerin TGA grafikleri incelendiğinde en düşük bozunma sıcaklığı H1ME6 (251 °C) örneğinde gözlenmiştir (Şekil 3.36). Şekil 3.37’de görüldüğü üzere, lignin ve katı kalıntıların uzaklaştığı 375-650 °C arasındaki bölgede H1ME8 en yüksek bozunma miktarına sahip olmuştur.

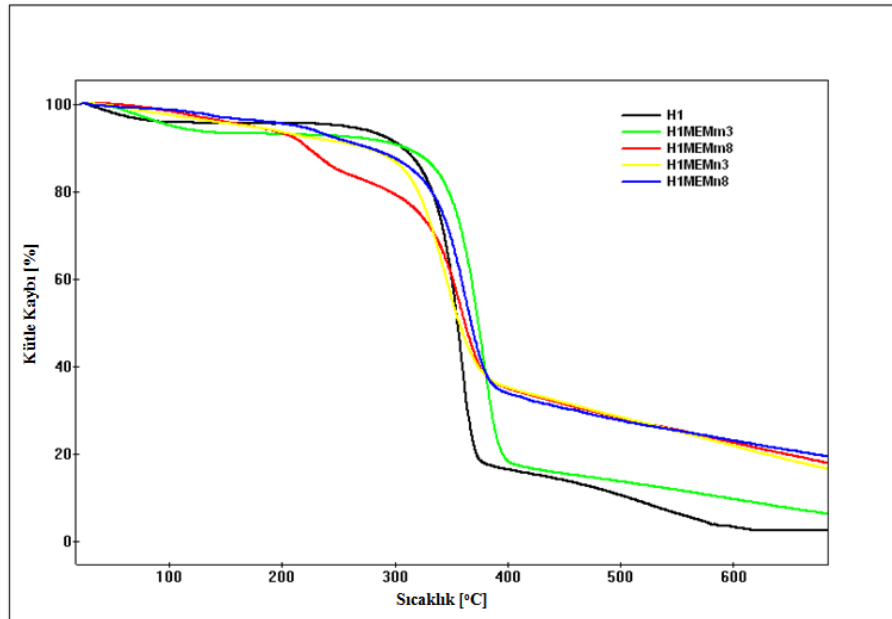


Şekil 3.37. Celluclast1.5 L enzim muamelesi sonucunda elde edilen ürünlerin bozunma miktarı

Ön muamelelerde kullanılan Pulpzyme HC ve Celluclast 1.5 L enzimleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise, Celluclast 1.5 L enziminin selüloz üzerinde daha etkin olduğu görülürken, materyallerin bozunma sıcaklıklarını daha fazla düşürdüğü gözlenmiştir.

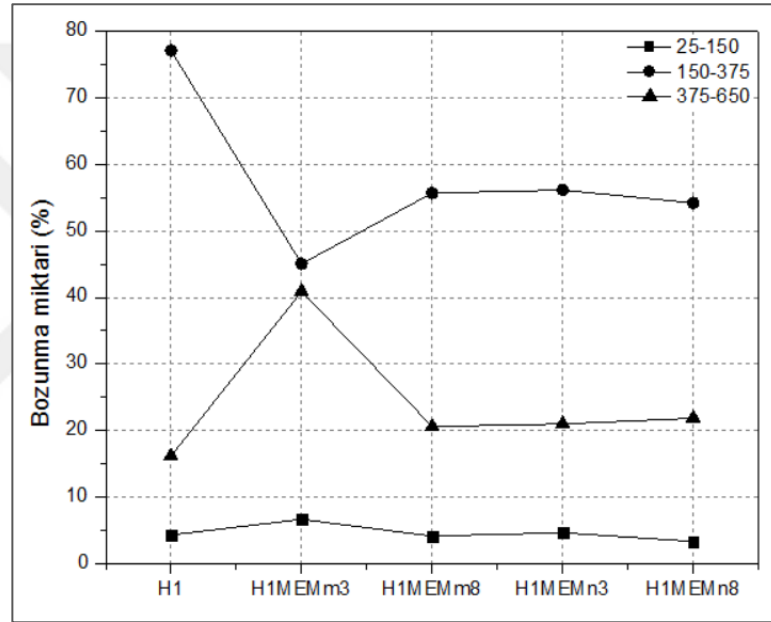
### 3.5.2.3. Ağartılmış Kraft Hamur Lifi, MFC ve NFC Ürünlerinin TGA Analizleri

Ağartılmış kraft hamur lifi ve optimum enzim muamelesi sonucu elde edilen MFC ile NFC örneklerinin TGA grafikleri Şekil 3.38’de verilmiştir.



Şekil 3.38. Ağartılmış kraft hamur lifi ve MFC ile NFC ürünlerinin TGA grafikleri

Şekil 3.38 incelendiğinde, 25 °C'den 150 °C'ye kadar olan bölgede MFC örneklerinde NFC örneklerine göre daha düşük sıcaklıklarda su ve düşük molekül ağırlıklı yapıların uzaklaştığı gözlenmektedir. Selüloz, hemiselüloz ve lignin degradasyonunu gösteren bölgede (150-375 °C) ise ilk bozunma Celluclast 1.5 L enzim muamelesi sonucu elde edilen H1MEMn8 (218 °C) örneğine aittir. Ağartılmış kraft hamur lifi, MFC ve NFC kıyaslandığında homojenizasyon işlemi ile yapı parçalandıkça bozunma oranı düşmekte ve buna bağlı olarak yapıdaki selüloz oranı da azalmaktadır. Nanoselüloz düşük termal kararlılık göstermiştir. Düşük bozunma sıcaklığı, ön muameleler sırasında kristalinitenin düşmesinden kaynaklanmaktadır ve bu sonuç SEM görüntülerindeki daha gözenekli yapı ile NMR ve DSC bulgularıyla da desteklenmektedir [34].



Şekil 3.39. Ağartılmış kraft hamur lifi ve MFC ile NFC ürünlerinin bozunma miktarı

Şekil 3.39 incelendiğinde ise, Pulpzyme HC enzim muamelesini takiben yapılan homojenizasyon işlemi sonucu elde edilen H1MEMm3 numunesi 1. ve 3. bölgede en yüksek bozunma miktarı gösterirken 2. bölgede en düşük bozunma miktarı göstermiştir.

## 4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Pulpzyme HC ve Celluclast 1.5 L enzimlerinin kullanılmasıyla başarılı bir şekilde MFC ve NFC üretimi gerçekleştirilmiş olup elde edilen numunelerin kimyasal, reolojik ve morfolojik özellikleri incelenmiştir.

Her bir ağartma kademesinde yapıdan lignin uzaklaştığı için kappa numarası ve viskozite değerinin düştüğü gözlemlenmiştir. Ağartma aşamaları kraft hamurunun kappa numarasında 83.6%, viskozitesinde ise 47.1% düşüşe neden olmuştur. Oksijen ağartma aşamasının selüloz üzerinde etkili olduğu gözlenirken, özellikle klordioksit ağartma aşamasında ise meydana gelen polisakkarit degradasyonundan dolayı kappa ve viskozite değerlerinin önemli ölçüde düştüğü gözlenmiştir. Alkali ekstraksiyonu ise düşük molekül ağırlıklı maddeleri yapıdan uzaklaştırdığı için viskozitede bir miktar artışa sebep olmuştur. Ağartma aşamalarında yapıdan lignin uzaklaşması homojenizasyon işlemleri sırasında kullanılan odacıklarda tıkanma problemini azaltmaktadır. MFC ve NFC üretimi için yapılan ön denemelerde, lignin bulunan yapıların odacıklarda tıkanmaya sebep olduğu gözlenmiştir. Bu sonuca istinaden, MFC ve NFC üretimleri için gerçekleştirilen ağartma aşamalarının etkinliği homojenizasyon sırasında yaşanabilecek tıkanma problemlerini azaltacağı düşünülmektedir.

HPLC sonuçları, Pulpzyme HC enziminin ksiloz degradasyonu üzerinde etkili olduğunu ancak glukoz degradasyonu üzerinde ise daha az etkili olduğunu göstermiştir. Celluclast 1.5 L enziminin ise selülaz aktivitesi dışında hemiselülaz aktivitesine de sahip olduğu görülmüştür. Ağartılmış kraft hamuruna yapılan enzim muamelelerinden sonra optimum enzim konsantrasyonunu belirlemek için ksiloz/glukoz değerinin maksimum olduğu (ksilozun daha fazla yapıda kalıp, glukozun daha fazla yapıdan uzaklaştığı) nokta baz alınmıştır. Yüksek hemiselüloz içeriği selüloz nanofibrilleri arasındaki bağlantıyı engelleyerek homojenleştirme işleminin verimliliğini artırmaktadır. Buna göre farklı enzim türleri ve konsantrasyonları denenerek daha iyi MFC ve NFC üretimleri gerçekleştirilebilir.

Mekanik ve enzimatik muameleyi takiben hemen ardından yapılan homojenleştirme işlemleri, numunelerin fiziksel yapılarını değiştirerek glukoz birimlerinin yüzey alanlarının küçülmesine ve daha fazla hidrojen bağı yapabilecek bir yüzey alanına sahip olmasına neden olmuştur. Kristallik oranı ve H- bağı sayısının değişmesine bağlı olarak

numunelerin geçirgenlik değerlerinde minimal kaymalar gözlenmiştir. FTIR kromotogramlardaki en şiddetli piklerin ise piranoz halkalarındaki eter bağlarıyla açıklanan lignoselülozik yapıdaki C-O-C simetrik gerilme titreşimlerine ait olduğu belirlenmiştir. Ön muamele uygulamalarının kristal ve amorf yapıya olan etkisini, NMR sonuçlarındaki C<sub>4</sub> pikinde meydana gelen küçük kaymalar da destekler niteliktedir. Glikozidik bağlarda meydana gelen deformasyondan dolayı yapıdaki kristallik/amorfluk oranının değişmesi aynı zamanda bozunma sıcaklıklarında da düşüşe sebep olmuştur. DSC sonuçlarında, ön muamele aşamalarının artmasıyla degradasyon sıcaklıklarının düştüğü görülmekte olup, bu sonuç polimer yapıdaki kristallik oranının düşmesiyle açıklanabilir. NFC üretiminde ön muamele ajanı olarak kullanılan Celluclast 1.5 L enzimi, amorf selülozda seçici hidrolize ve nanoselülozda yüksek en boy oranının oluşmasına sebep olmuştur. Celluclast 1.5 L enzimi ile muamele edilen örnekler daha düşük bozunma sıcaklıklarına sahip olup, bu materyallerin kristalinitesinin düşmesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca elde edilen bu sonuç DSC ve NMR bulgularıyla da desteklenmektedir.

Reoloji analizlerinde, ön muamele aşamalarından sonra genel anlamda numunelerin viskozite değerlerinin düştüğü gözlenmiştir. Elde edilen örnekler farklı bölgelerde ortak bir reaksiyon göstererek kayma incelenmesi davranışı göstermişlerdir. Pulpzyme HC ve Celluclast 1.5 L enzimlerinin aktivasyon oranlarının artmasıyla numunelerin gerilim değerlerinin arttığı gözlenirken, viskozite değerlerinin ise düştüğü gözlenmiştir. Ağartılmış kraft hamur lifine göre, homojenizasyon işlemleri sonucu elde edilen MFC ve NFC numunelerinde viskozite değerlerinin önemli ölçüde düştüğü belirlenmiştir. MFC ve NFC materyalleri karşılaştırıldığında ise NFC materyallerinin daha yüksek viskozite değerlerine sahip olduğu görülmüştür. MFC ve NFC numuneleri kayma incelenmesi türünden visko-elastik davranış göstermiş ve psedoplastik malzemeler ile uyum içerisinde olduğu belirlenmiştir. Süspansiyon yoğunluğu topaklanma ve liflerin konumu selüloz süspansiyonlarının reolojik davranışlarını etkileyen temel unsurlar olup, bu parametreleri koloidal ve mekanik kuvvetler etkilemektedir. Enzimatik muameleler sonucu elde edilen viskozite verilerini, DSC verileri de destekler niteliktedir. Buna göre, odun liflerinin, artan enzim konsantrasyonları ile genel anlamda bozunma sıcaklıkları düşmüş, en çok düşme de Celluclast 1.5 L enzimi ile etkileşen numunelerde gözlenmiştir. Celluclast 1.5 L enzim uygulaması viskoziteyi önemli ölçüde düşürerek örneklerin düşük frekansta jel benzeri bir davranış göstermesini sağlamıştır. Aynı zamanda Celluclast 1.5 L enzimi ile

etkileşen numunelerin reolojik özellikleri incelendiğinde, yüzey gerilimlerinde diğer ürünlere göre daha yüksek oranda azalma gözlenmiştir. Bu durum enzimler ile bozunma sıcaklıkları arasında doğru orantılı bir ilişki olduğunu gösterir.

SEM görüntülerinde, ön muamele aşamalarının artmasıyla liflerde saçaklanmaların meydana geldiği ve bunun ise homojenleştirme işlemine kolaylık sağladığı görülmüştür. Tek bir ön muamele aşamasının homojenizasyon üzerinde yeterince etkin olamayacağı tespit edilmiş olup, enzimatik ön muamelenin homojenleştirme işleminin verimliliğini artırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca kullanılan homojenizatör tipi, uygulanan basınç, süspansiyon yoğunluğu, süre ve odacıklardan geçiş sayısı da MFC ve NFC üretim verimliliğini etkilemektedir. Zira, üretim aşamasına geçmeden önce yaptığımız ön denemeler de bunu desteklemektedir. Yapılan denemelerde 2% selüloz konsantrasyonu belirlenmiş olup, bu konsantrasyon literatür çalışmalarıyla da uyum içerisindedir. Ayrıca selüloz süspansiyonunun odacıklardan geçiş sayısı belirlenirken, 200 ve 100 µm çapındaki odacıklardan geçiş sayılarında farklı kombinasyonlar denenmiş olup elde edilen ürünlerin SEM görüntüleri incelenerek MFC ve NFC üretimleri için optimum geçiş sayıları belirlenmiştir. NFC üretimi için belirlediğimiz geçiş sayısı (200 µm çapındaki odacıktan (14000 psi) 1 kere, 100 µm çapındaki odacıktan (24000 psi) 5 kere) SEM görüntülerinde gözlenen oldukça homojen lif dağılımının bir sonucudur ve mikron seviyesinde genişliğe sahip hiçbir lif tespit edilmemiştir. Homojenleştirme işlemi sırasında odacıklardan geçiş sayısının gereğinden fazla yapılmasının da odacıklarda tıkanmaya sebep olduğu yapılan denemelerde görülmüştür. HPLC analizleri sonrasında belirlenen optimum enzim konsantrasyonları SEM görüntülerini destekler nitelikte olup, belirlenen optimum numunelerdeki lif boyutlarının daha homojen olduğu gözlenmiştir. Üretilen nanofibrillerin ortalama uzunlukları  $3820 \pm 170$  nm, ortalama genişlikleri  $35 \pm 12$  nm'dir. NFC'nin ortalama en boy oranı ise  $115 \pm 35$  nm'dir.

Ülkemizde nanoselüloz üretim teknolojileri üzerine yapılan çalışmalar oldukça az olmasına karşın uygulama alanı oldukça geniştir. Nanoselüloz üretim teknolojilerinin geliştirilerek özellikle kağıt ve kompozit film sektöründe önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Gelişmiş ülkelerin hükümetlerince desteklenen nanoteknolojik yeni yaklaşımların ülkemizde de acilen başlatılması ve bu konuda yapılacak yeni araştırmalara destek verilmesi önem arz etmektedir. Orman endüstrisi alanında yapılacak olan nanoteknolojik araştırmalar ise hem literatüre hem de bu alanda hizmet veren sanayicilere büyük destek sağlayacak olup, bu teknoloji ile üretilen üstün özelliklere sahip yeni

modifiye ürünler ülke ekonomisini de olumlu yönde etkileyecektir.



## KAYNAKLAR

- [1] V.B. Agbor, N. Cicek, R. Sparling, A. Berlin and D.B. Levin, "Biomass pretreatment: Fundamentals toward application," *Biotechnol. Adv.*, vol. 29, no. 6, pp. 675–685, 2011.
- [2] D. Klemm, F. Kramer, S. Moritz, T. Lindström, M. Ankerfors, D. Gray and A. Dorris, "Nanocelluloses: A new family of nature-based materials," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 50, no. 24, pp. 5438–5466, 2011.
- [3] H.P.S. Abdul Khalil, A.H. Bhat and A.F. Ireana Yusra, "Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review," *Carbohydr. Polym.*, vol. 87, no. 2, pp. 963–979, 2012.
- [4] Y. Li and H.Q. Dai, "Preparation of nanocrystalline cellulose by chemical methods," *J. Nanjing For. Univ.*, vol. 36, no. 5, pp. 161–166, 2012.
- [5] K.L. Spence, R.A. Venditti, O.J. Rojas, Y. Habibi and J.J. Pawlak, "A comparative study of energy consumption and physical properties of microfibrillated cellulose produced by different processing methods," *Cellulose*, vol. 18, no. 4, pp. 1097–1111, 2011.
- [6] H.V. Lee, S.B.A. Hamid and S.K. Zain, "Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: Structure and chemical process," *Sci. World J.*, vol. 2014, 2014.
- [7] X. F. Chang, J. A. Olson, and R. P. Beatson, "A comparison between the effects of ozone and alkaline peroxide treatments on TMP properties and subsequent low consistency refining," *BioResources*, vol. 7, no. 1, pp. 99–111, 2012.
- [8] U. Ayata, "A research of eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* and *Eucalyptus grandis*) wood properties and their use in the paper industry," Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş-Türkiye, 2008.
- [9] J.M.C. Barroca Maria, M.S. Simoes Rogerio and A.M. Castro Jose Almiro, "Kinetics of chlorine dioxide delignification of a hardwood pulp," *Appita J.*, vol. 54, pp. 190–195, 2001.
- [10] M.N. Islam, "Effect of chemical charges in cooking and their effectiveness on pulp bleaching," *J. Sci. Ind. Res. (India)*, vol. 63, no. 6, pp. 522–526, 2004.
- [11] M.E. Moussaouiti, B. Barcha, E.F. Alves and R.C. Francis, "Kraft pulping characteristics of three Moroccan eucalypti. Part 1. Physical and chemical properties of woods and pulps," *BioResources*, vol. 7, pp. 1558–1568, 2012.
- [12] X. Chen, E. Kuhn, W. Wang, S. Park, K. Flanagan, O. Trass, L. Tenlep, L. Tao and M. Tucker, "Comparison of different mechanical refining technologies on the enzymatic digestibility of low severity acid pretreated corn stover," *Bioresour. Technol.*, vol. 147, pp. 401–408, 2013.
- [13] M. Pääkko, M. Ankerfors, H. Kosonen, A. Nykänen, S. Ahola, M. Österberg, J. Ruokolainen, J. Laine, P.T. Larsson, O. Ikkala and T. Lindström, "Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels," *Biomacromolecules*, vol. 8, no. 6, pp. 1934–1941, 2007.
- [14] M.A. Khan, "Hydrolysis of hemicellulose by commercial enzyme mixtures," Lulea University of Technology, Luleå-Sweden, 2010.
- [15] S. Virtanen, J. Vartianen, H. Setälä, T. Tammelin and S. Vuoti, "Modified

nanofibrillated cellulose–polyvinyl alcohol films with improved mechanical performance,” *RSC Adv.*, vol. 4, pp. 11343–11350, 2014.

[16] T.N. Ang, G.C. Ngoh, A.S.M. Chua and M.G. Lee, “Elucidation of the effect of ionic liquid pretreatment on rice husk via structural analyses,” *Biotechnol. Biofuels*, vol. 5, pp. 67–77, 2012.

[17] H.M. Ng, L.T. Sin, T.T. Tee, S.T. Bee, D. Hui, C.Y. Low and A.R. Rahmat, “Extraction of cellulose nanocrystals from plant sources for application as reinforcing agent in polymers,” *Compos. Part B Eng.*, vol. 75, pp. 176–200, 2015.

[18] M. Jonoobi, K.O. Niska, J. Harun, A. Shakeri and M. Misra, “Chemical composition, crystallinity, and thermal degradation of bleached and unbleached kenaf bast (*Hibiscus cannabinus*) pulp and nanofibers,” *BioResources*, vol. 4, pp. 626–639, 2009.

[19] G. Zuckerstätter, G. Schild, P. Wollboldt, T. Röder, H. Weber and H. Sixta, “The elucidation of cellulose supramolecular structure by <sup>13</sup>C CP-MAS NMR,” *Lenzinger Berichte*, vol. 87, pp. 38–46, 2009.

[20] M. Mariño, L.L. Silva, N. Durán and L. Tasic, “Enhanced materials from nature: nanocellulose from citrus waste,” *Molecules*, vol. 20, no. 4, pp. 5908–5923, 2015.

[21] G.E. Maciel, W.L. Kolodziejcki, M.S. Bertran and B.E. Dale, “<sup>13</sup>C NMR and order in cellulose,” *Macromolecules*, vol. 15, no. 2, pp. 686–687, 1982.

[22] X. Jia, Y. Chen, C. Shi, Y. Ye, M. Abid, S. Jabbar, P. Wang, X. Zeng and T. Wu, “Rheological properties of an amorphous cellulose suspension,” *Food Hydrocoll.*, vol. 39, pp. 27–33, 2014.

[23] M. Berca and P. Navard, “Shear dynamics of aqueous suspensions of cellulose whiskeys,” *Macromolecules*, vol. 33, no. 16, pp. 6011–6016, 2000.

[24] A. Dufresne, J.Y. Cavaille and M.R. Vignon, “Mechanical behavior of sheets prepared from sugar beet cellulose microfibrils,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 64, no. 6, pp. 1185–1194, 1997.

[25] K. Missoum, N. Belgacem, M. Krouit, C. Martin, S. Tapin-Lingua and J. Bras, “Influence of fibrillation degree & surface grafting of micro-fibrillated cellulose on their rheological behaviour in aqueous suspension,” in *Tappi Nanotechnology Conference for the Forest Product Industry, Espoo-Finland*, 2010.

[26] P.R. Charani, M. Dehghani-Firouzabadi, E. Afra and A. Shakeri, “Rheological characterization of high concentrated MFC gel from kenaf unbleached pulp,” *Cellulose*, vol. 20, no. 2, pp. 727–740, 2013.

[27] R.J. Moon, A. Martini, J. Nairn, J. Simonsen and J. Youngblood, “Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 40, pp. 3941–3994, 2011.

[28] T. Zimmermann, N. Bordeanu and E. Strub, “Properties of nanofibrillated cellulose from different raw materials and its reinforcement potential,” *Carbohydrate Polym.*, vol. 79, no. 4, pp. 1086–1093, 2010.

[29] T. Taniguchi and K. Okamura, “New films produced from microfibrillated natural fibers,” *Polym. Int.*, vol. 47, pp. 291–294, 1998.

[30] M. Ankerfors, T. Lindström and G. Henriksson, “Method for the manufacture of microfibrillated cellulose,” Patent Number:20090221812 A1, 2009.

- [31] T. Hosoya and S. Sakaki, "Levoglucosan formation from crystalline cellulose: importance of a hydrogen bonding network in the reaction," *ChemSusChem*, vol. 6, pp. 2356–2368, 2013.
- [32] W. Chen, H. Yu, Y. Liu, P. Chen, M. Zhang and Y. Hai, "Individualization of cellulose nanofibers from wood using high-intensity ultrasonication combined with chemical pretreatments," *Carbohydr. Polym.*, vol. 83, no. 4, pp. 1804–1811, 2010.
- [33] L. Luduena and D. Fasce, "Alvarez A., Stefani I.P., Nanocellulose from rice husk following alkaline treatment to remove silica," *BioResources*, vol. 6, pp. 1440–1453, 2011.
- [34] J. Li, X. Wei, Q. Wang, J. Chen, G. Chang, L. Kong, J. Su and Y. Liu, "Homogeneous isolation of nanocellulose from sugarcane bagasse by high pressure homogenization," *Carbohydr. Polym.*, vol. 90, no. 4, pp. 1609–1613, 2012.
- [35] C.P.Jr. Poole and F.J. Owens, *Introduction to nanotechnology*. New Jersey, 2003.
- [36] C. Buzea, I. Pacheco and K. Robbie, "Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity," *Biointerphases*, vol. 2, no. 4, p. MR17-MR172, 2007.
- [37] N. Taniguchi, "On the basic concept of nanotechnology," in *Proc. Intl. Conf. Prod., London-England*, 1974, p. 245.
- [38] M. Lee, *Enzyme kinetics and industrial applications of enzymes*. New Jersey: Biochemical Engineering, Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1992.
- [39] H. Okkay, "Selülozik atıkların ultrasonik ön işlenmesi ve mikrodalga reaktörde hidrolizi," Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli-Türkiye, 2007.
- [40] S. Akmaz, "Selülozun enzimli hidroliz yolu ile glukozaya dönüştürülmesi ve tepkime kinetiğinin incelenmesi," İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul-Türkiye, 2001.
- [41] B.G. Rånby, "Aqueous colloidal solutions of cellulose micelles," *Acta Chem. Scand.*, vol. 3, pp. 649–650, 1949.
- [42] X.M. Dong, T. Kimura, J.F. Revol and D.G. Gray, "Effects of ionic strength on the isotropic–chiral nematic phase transition of suspensions of cellulose crystallites," *Langmuir*, vol. 12, no. 8, pp. 2076–2082, 1996.
- [43] M.M.D. Lima and R. Borsali, "Rodlike cellulose microcrystals: structure, properties, and applications," *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 25, no. 7, pp. 771–787, 2004.
- [44] W.J. Orts, L. Godbout, R.H. Marchessault and J.F. Revol, "Enhanced ordering of liquid crystalline suspensions of cellulose microfibrils: a small-angle neutron scattering study," *Macromolecules*, vol. 31, no. 17, pp. 5717–5725, 1998.
- [45] A.F. Turbak, F.W. Snyder and K.R. Sandberg, "Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: properties, uses and commercial potential," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 37, pp. 815–827, 1983.
- [46] F.W. Herrick, R.L. Casebier, J.K. Hamilton and K.R. Sandberg, "Microfibrillated cellulose: morphology and accessibility," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 37, pp. 797–813, 1983.
- [47] T. Lindstrom and M. Ankerfors, "Nanocellulose developments in scandinavia," in

7th International Paper and Coating Chemistry Symposium, Ontario-Canada, 2009.

[48] L. Wågberg, L. Winter, L. Ödberg and T. Lindström, “On the charge stoichiometry upon adsorption of a cationic polyelectrolyte on cellulosic materials,” *Colloids and Surfaces*, vol. 27, no. 4, pp. 163–173, 1987.

[49] M. Henriksson, G. Henriksson, L.A. Berglund and T. Lindström, “An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of micro-fibrillated cellulose (MFC) nanofibres,” *Eur. Polym. J.*, vol. 43, no. 8, pp. 3434–3441, 2007.

[50] T. Saito, Y. Nishiyama, J.L. Putaux, M. Vignon and A. Isogai, “Homogeneous suspensions of individualized microfibrils from TEMPO-catalyzed oxidation of native cellulose,” *Biomacromolecules*, vol. 7, no. 6, pp. 1687–1691, 2006.

[51] T. Saito and A. Isogai, “Preparation of cellulose single microfibrils from native celluloses by TEMPO-mediated oxidation,” *Cellul. Commun.*, vol. 14, no. 2, pp. 62–66, 2007.

[52] A. Olszewska, P. Eronen, L.S. Johansson, J.M. Malho, M. Ankerfors, T. Lindström, J. Ruokolainen, J. Laine and M. Österberg, “The behaviour of cationic nanofibrillar cellulose in aqueous media,” *Cellulose*, vol. 18, no. 5, pp. 1213–1226, 2011.

[53] G.S. Banker and V. Kumar, “Microfibrillated oxycellulose,” Patent Number:5405953, 1995.

[54] Z. Tan, X. Nguyen and K.L. Maurer, “Chemical activation and refining of southern pine kraft fibers,” Patent Number:20070119556 A1, 2007.

[55] T. Lindstrom and L. Winter, “Mikrofibrillär cellulose som komponent vid papperstillverkning,” *STFI-meddelande*, p. 159, 1988.

[56] A.F. Turbak, F.W. Snyder and K.R. Sandberg, “Suspensions containing microfibrillated cellulose,” Patent number:4452721, 1982.

[57] T. Zimmermann, E. Pöhler and T. Geiger, “Cellulose fibrils for polymer reinforcement,” *Adv. Eng. Mater.*, vol. 6, no. 9, pp. 754–761, 2004.

[58] T. Taniguchi, “A microfibrillated method of natural fibres,” *Sen 'i Gakkaishi*, vol. 82, pp. 119–123, 1996.

[59] S. Iwamoto, A.N. Nakagaito, H. Yano and M. Nogi, “Optically transparent composites reinforced with plant fiber-based nanofibers,” *Appl. Phys. A-Mater*, vol. 81, no. 6, pp. 1109–1112, 2005.

[60] Y. Matsuda, “Properties and use of microfibrillated cellulose as papermaking additive,” *Sen 'i Gakkaishi*, vol. 56, no. 7, pp. 192–196, 2000.

[61] Y. Matsuda, M. Hirose and K. Ueno, “Super Microfibrillated, Process for Producing the Same and Coated Paper and Tinted Paper Using the Same,” US Pat. 6183596 B1, 2001.

[62] S. J. and M. M. Sain, “Isolation of cellulose microfibrils – an enzymatic approach,” vol. 1, pp. 176–188, 2006.

[63] B. Wang, M. Sain and K. Oksman, “Study of structural morphology of hemp fiber from the micro to the nanoscale,” *Appl. Compos. Mater.*, vol. 14, no. 2, pp. 89–103, 2007.

[64] H. Ishikawa and S. Ide, “Method of producing finely divided fibrous cellulose particles,” Patent Number:5269470, 1993.

- [65] F. Curtol and N.C. Eksteen, "Method and apparatus for manufacturing of microfibrillated cellulose fiber," Patent Number:20060006189 A1, 2006.
- [66] M.J. Cash, A.N. Chan, H.T. Conner, P.J. Cowan, R.A. Gelman, K.M. Lusvardi, S.A. Thompson and F.P. Tise, "Derivatized microfibrillar polysaccharide," Patent Number:6602994 B1, 2003.
- [67] H.P. Zhao, X.Q. Feng and H. Gao, "Ultrasonic technique for extracting nanofibres from nature materials," *Appl. Physic. Lett.*, vol. 90, no. 7, pp. 73112-73112-2, 2007.
- [68] I. Siro and D. Plackett, "Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review," *Cellulose*, vol. 17, no. 3, pp. 459-494, 2010.
- [69] M. Ankerfors, "Microfibrillated cellulose: energy-efficient preparation techniques and key properties," Licentiate Thesis, Innventia AB, Stockholm, Sweden, 2012.
- [70] E. Dinand, H. Chanzy and M. Vignon, "Parenchymal cell cellulose from sugar beet pulp: preparation and properties," *Cellulose*, vol. 3, no. 1, pp. 183-188, 1996.
- [71] A. Alemdar and M. Sain, "Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues-wheat straw and soy hulls," *Bioresour. Technol.*, vol. 99, no. 6, pp. 1664-1671, 2008.
- [72] Y. Habibi and M. Vignon, "Optimization of cellouronic acid synthesis by TEMPO mediated oxidation of cellulose III from sugar beet pulp," *Cellulose*, vol. 15, no. 1, pp. 177-185, 2008.
- [73] A. Dufresne, D. Dupeyre and M. Vignon, "Cellulose microfibrils from potato tuber cells: processing and characterization of starch-cellulose microfibril composites," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 76, no. 14, pp. 2080-2092, 2000.
- [74] D.M. Bruce, R.N. Hobson, J.W. Farrent and D.G. Hepworth, "High-performance composites from low-cost plant primary cell walls," *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, vol. 36, no. 11, pp. 1486-1493, 2005.
- [75] D. Bhattacharya, L.T. Germinario and W.T. Winter, "Isolation, preparation and characterization of cellulose microfibers obtained from bagasse," *Carbohydr. Polym.*, vol. 73, no. 3, pp. 371-377, 2008.
- [76] J. Morán, V. Alvarez, V. Cyras and A. Vázquez, "Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers," *Cellulose*, vol. 15, no. 1, pp. 149-159, 2008.
- [77] M.E. Malainine, M. Mahrouz and A. Dufresne, "Thermoplastic nanocomposites based on cellulose microfibrils from opuntia ficus-indica parenchyma cell," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 65, no. 10, pp. 1520-1526, 2005.
- [78] Y. Habibi, M. Mahrouz and M.R. Vignon, "Microfibrillated cellulose from the peel of prickly pear fruits," *Food Chem.*, vol. 115, no. 2, pp. 423-429, 2009.
- [79] R. Zuluaga, J.L. Putaux, A. Restrepo, I. Mondragon and P. Gañán, "Cellulose microfibrils from banana farming residues: isolation and characterization," *Cellulose*, vol. 14, no. 6, pp. 585-592, 2007.
- [80] G. Siqueira, S.K. Tadokoro, A.P. Mathew and K. Oksman, "Carrot nanofibers and nanocomposites applications," in *In 7th International Symposium on Natural Polymers and Composites, Gramado-Brazil*, 2010.
- [81] W. Chen, H. Yu and Y. Liu, "Preparation of millimeter-long cellulose I nanofibers

with diameters of 30–80nm from bamboo fibers,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 86, no. 2, pp. 453–461, 2011.

[82] S. Iwamoto, K. Abe and H. Yano, “The effect of hemicelluloses on wood pulp nanofibrillation and nanofiber network characteristics,” *Biomacromolecules*, vol. 9, no. 3, pp. 1022–1026, 2008.

[83] A.B. Fall, S.B. Lindström, O. Sundman, L. Odberg and L. Wagberg, “Colloidal stability of aqueous nanofibrillated cellulose dispersions,” *Langmuir*, vol. 27, no. 18, pp. 11332–11338, 2011.

[84] A.M. Scallan and A.C. Tigerström, “Swelling and elasticity of the cell walls of pulp fibers,” *J. Pulp Pap. Sci.*, vol. 18, no. 5, pp. 188–193, 1992.

[85] A. Swerin and L. Wågberg, “Size-exclusion chromatography for characterization of cationic-polyelectrolytes used in papermaking,” *Nord. Pulp Pap. Res. J.*, vol. 9, no. 1, pp. 18–25, 1994.

[86] J.A. Walecka, “An Investigation of low degree of substitution carboxymethylcelluloses,” Doctoral Thesis, Lawrence College, Appleton, Wisconsin, USA, 1956.

[87] J.E. Stone, A.M. Scallan and B. Abrahamson, “Influence of beating on cell wall swelling and internal fibrillation,” *Sven. Papperstidning*, vol. 71, no. 19, pp. 687–694, 1968.

[88] G. Siqueira, S. Tapin-Lingua, J. Bras, D. da Silva Perez and A. Dufresne, “Morphological investigation of nanoparticles obtained from combined mechanical shearing, and enzymatic and acid hydrolysis of sisal fibers,” *Cellulose*, vol. 17, no. 6, pp. 1147–1158, 2010.

[89] G. Siqueira, S. Tapin-Lingua, J. Bras, D. da Silva Perez and A. Dufresne, “Mechanical properties of natural rubber nanocomposites reinforced with cellulosic nanoparticles obtained from combined mechanical shearing, and enzymatic and acid hydrolysis of sisal fibers,” *Cellulose*, vol. 18, no. 1, pp. 57–65, 2011.

[90] J. Leitner, B. Hinterstoisser, M. Wastyn, J. Keckes and W. Gindl, “Sugar beet cellulose nanofibril-reinforced composites,” *Cellulose*, vol. 14, no. 5, pp. 419–425, 2007.

[91] G. Siqueira, J. Bras and A. Dufresne, “Luffa cylindrica as a lignocellulosic source of fiber, microfibrillated cellulose and cellulose nanocrystals,” *BioResources*, vol. 5, no. 2, pp. 727–740, 2010.

[92] K.L. Spence, R.A. Venditti, O. Rojas, Y. Habibi and J. Pawlak, “The effect of chemical composition on microfibrillar cellulose films from wood pulps: water interactions and physical properties for packaging applications,” *Cellulose*, vol. 17, no. 4, pp. 835–848, 2010.

[93] K.L. Spence, R.A. Venditti, Y. Habibi, O.J. Rojas and J.J. Pawlak, “The effect of chemical composition on microfibrillar cellulose films from wood pulps: mechanical processing and physical properties,” *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 15, pp. 5961–5968, 2010.

[94] N. Lavoine, I. Desloges, A. Dufresne and J. Bras, “Microfibrillated cellulose-its barrier properties and applications in cellulosic materials: a review,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 90, no. 2, pp. 735–764, 2012.

[95] E.L. Hult, P.T. Larsson and T. Iversen, “Cellulose fibril aggregation-an inherent

- property of kraft pulps,” *Polymer (Guildf)*., vol. 42, no. 8, pp. 3309–3314, 2001.
- [96] “Anonim,” 2013. [Online]. Available: [www.circot.res.in](http://www.circot.res.in).
- [97] S. István and D. Plackett, “Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review,” *Cellulose*, vol. 17, no. 3, pp. 459–494, 2010.
- [98] G. Chinga-Carrasco, Y. Yu and O. Diserud, “Quantitative electron microscopy of cellulose nanofibril structures from Eucalyptus and Pinus radiata kraft pulp fibers,” *Microsc. Microanal.*, vol. 17, no. 4, pp. 563–571, 2011.
- [99] G. Chinga-Carrasco, A. Miettinen, C.L. Luengo Hendriks, E.K. Gamstedt and M. Kataja, “Structural characterisation of kraft pulp fibres and their nanofibrillated materials for biodegradable composite applications,” in *In Nanocomposites and Polymers with Analytical Methods*, ed: Cuppoletti, J., Rijeka-Croatia, 2011, pp. 243–260.
- [100] A.N. Nakagaito and H. Yano, “The effect of morphological changes from pulp fiber towards nano-scale fibrillated cellulose on the mechanical properties of highstrength plant fiber based composites,” *Appl. Phys. A-Mater*, vol. 79, no. 4, pp. 547–552, 2004.
- [101] S.Y. Lee, S.J. Chun, I.A. Kang and J.Y. Park, “Preparation of cellulose nanofibrils by high-pressure homogenizer and cellulose-based composite films,” *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 15, no. 1, pp. 50–55, 2009.
- [102] S. Iwamoto, A.N. Nakagaito and H. Yano, “Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites,” *Appl. Physic A*, vol. 89, no. 2, pp. 461–466, 2007.
- [103] K. Abe, S. Iwamoto and H. Yano, “Obtaining cellulose nanofibers with a uniform width of 15 nm from wood,” *Biomacromolecules*, vol. 8, no. 10, pp. 3276–3278, 2007.
- [104] K. Uetani and H. Yano, “Nanofibrillation of wood pulp using a high-speed blender,” *Biomacromolecules*, vol. 12, no. 2, pp. 348–353, 2010.
- [105] S.J. Eichhorn, A. Dufresne, M. Aranguren, N.E. Marcovich, J.R. Capadona, S.J. Rowan, C. Weder, W. Thielemans, M. Roman, S. Renneckar, W. Gindl, S. Veigel, J. Keckes, H. Yano, K. Abe, M. Nogi, A. N. Nakagaito, A. Mangalam, J. Simonsen and A.S. Benight, “Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites,” *J. Mater. Sci.*, vol. 45, pp. 1–33, 2010.
- [106] C. Aulin, S. Ahola, P. Josefsson, T. Nishino, Y. Hirose, M. Osterberg and L. Wagberg, “Nanoscale cellulose films with different crystallinities and mesostructures—their surface properties and interaction with water,” *Langmuir*, vol. 25, no. 13, pp. 7675–7685, 2009.
- [107] G. Chinga-Carrasco, “Cellulose fibres, nanofibrils and microfibrils: the morphological sequence of mfc components from a plant physiology and fibre technology point of view,” *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 6, no. 417, pp. 2–7, 2011.
- [108] M. Andresen and P. Stenius, “Water-in-oil emulsions stabilized by hydrophobized microfibrillated cellulose,” *J. Dispers. Sci. Technol.*, vol. 28, no. 6, pp. 837–844, 2007.
- [109] K. Khanari, K. Syverud, G. Chinga-Carrasco, K. Paso and P. Stenius, “Structure of nanofibrillated cellulose layers at the o/w interface,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 356, no. 1, pp. 58–62, 2011.
- [110] F. Hayaka, T. Saito, T. Iwata, Y. Kumamoto and A. Isogai, “Transparent and high gas barrier films of cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation,” *Biomacromolecules*, vol. 10, no. 1, pp. 162–165, 2009.

- [111] “Anonim,” 2013. [Online]. Available: <http://en.wikipedia.org/wiki/Nanocellulose>.
- [112] T. Daisuke, S. Ishioka and T. Matsumoto, “Effect of fiber concentration and axial ratio on the rheological properties of cellulose fiber suspensions,” *J. Soc. Rheol.*, vol. 30, no. 1, pp. 27–32, 2002.
- [113] A. Christian, M. Gällstedt and T. Lindström, “Oxygen and oil barrier properties of microfibrillated cellulose films and coatings,” *Cellulose*, vol. 17, no. 3, pp. 559–574, 2010.
- [114] S.J. Anna, M.A.S. Azizi Samir and L.A. Berglund, “Biomimetic polysaccharide nanocomposites of high cellulose content and high toughness,” *Biomacromolecules*, vol. 8, no. 8, pp. 1263–1269, 2007.
- [115] H. Marielle, L.A. Berglund, P. Isaksson, T. Lindström and T. Nishino, “Cellulose nanopaper structures of high toughness,” *Biomacromolecules*, vol. 9, no. 6, pp. 1579–1585, 2008.
- [116] J.M.B. Fernandes Diniz, M.H. Gil and J.A.A.M. Castro, “Hornification-its origin and interpretation in wood pulps,” *Wood Sci. Technol.*, vol. 37, no. 6, pp. 489–494, 2004.
- [117] R.A. Young, “Comparison of the properties of chemical cellulose pulps,” *Cellulose*, vol. 1, no. 2, pp. 107–130, 1994.
- [118] M. Pääkko, J. Vapaavuori, R. Silvennoinen, H. Kosonen, M. Ankerfors, T. Lindstrom, L.A. Berglund and O. Ikkala, “Long and entangled native cellulose i nanofibers allow flexible aerogels and hierarchically porous templates for functionalities,” *Soft Matter*, vol. 4, no. 12, pp. 2492–2499, 2008.
- [119] F. Fischer, A. Rigacci, R. Pirard, S. Berthon-Fabry and P. Achard, “Cellulose-based aerogels,” *Polymer (Guildf)*, vol. 47, no. 22, pp. 7636–7645, 2006.
- [120] S. Liu, Q. Yan, D. Tao, T. Yu and X. Liu, “Highly flexible magnetic composite aerogels prepared by using cellulose nanofibril networks as templates,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 89, no. 2, pp. 551–557, 2012.
- [121] Y. Peng, D. Gardner and Y. Han, “Drying cellulose nanofibrils: in search of a suitable method,” *Cellulose*, vol. 19, no. 1, pp. 91–102, 2012.
- [122] Y. Peng, H. Yousoo and J.D. Gardner, “Spray-drying cellulose nanofibrils: effect of drying process parameters on particle morphology and size distribution,” *Wood Fiber Sci.*, vol. 44, no. 4, pp. 1–14, 2012.
- [123] M. Nogi, S. Iwamoto, A.N. Nakagaito and H. Yano, “Optically transparent nanofiber paper,” *Adv. Mater.*, vol. 21, no. 16, pp. 1595–1598, 2009.
- [124] M. Henriksson, L.A. Berglund, P. Isaksson, T. Lindstrom and T. Nishino, “Cellulose nanopaper structures of high toughness,” *Biomacromolecules*, vol. 9, no. 6, pp. 1579–1585, 2008.
- [125] K. Syverud and P. Stenius, “Strength and barrier properties of mfc films,” *Cellulose*, vol. 16, no. 1, pp. 75–85, 2009.
- [126] M. Andresen , P. Stenstad , T. Moretro, S. Langsrud, K. Syverud, L.S. Johansson and P. Stenius, “Nonleaching antimicrobial films prepared from surface-modified microfibrillated cellulose,” *Biomacromolecules*, vol. 8, no. 7, pp. 2149–2155, 2007.
- [127] M. Nogi and H. Yano, “Optically transparent nanofiber sheets by deposition of

transparent materials: a concept for a roll-to-roll processing,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 94, no. 23, pp. 233111–233117, 2009.

[128] H. Fukuzumi, T. Saito, T. Iwata, Y. Kumamoto and A. Isogai, “Transparent and high gas barrier films of cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation,” *Biomacromolecules*, vol. 10, no. 1, pp. 162–165, 2008.

[129] E. Sjöström, “The origin of charge on cellulosic fibers,” *Nord. Pulp Pap. Res. J.*, vol. 4, no. 2, pp. 90–93, 1989.

[130] J. Mosbye, S. Moe and J. Laine, “The charge and chemical composition of fines in mechanical pulp,” *Nord. Pulp Pap. Res. J.*, vol. 17, no. 3, pp. 352–356, 2002.

[131] A. Teleman, V. Harjunpää, M. Tenkanen, J. Buchert, T. Hausalo, T. Drakenberg and T. Vuorinen, “Characterisation of 4-deoxy- $\beta$ -L-threo-hex-4-enopyranosyluronic acid attached to xylan in pine kraft pulp and pulping liquor by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy,” *Carbohydr. Res.*, vol. 272, no. 1, pp. 55–71, 1995.

[132] J. Buchert, A. Teleman, V. Harjunpää, M. Tenkanen, L. Viikari and T. Vuorinen, “Effect of cooking and bleaching on the structure of xylan in conventional pine kraft pulp,” *Tappi J.*, vol. 78, no. 11, pp. 125–130, 1995.

[133] A. Sundberg, K. Sundberg, C. Lillandt and B. Holmbom, “Determination of hemicelluloses and pectins in wood and pulp fibers by acid methanolysis and gas chromatography,” *Nord. Pulp Pap. Res. J.*, vol. 11, no. 4, pp. 445–451, 1996.

[134] G. Gellerstedt, H.L. Hardell and E L. Lindfors, “The reactions of lignin with alkaline hydrogen peroxide, part iv. products from the oxidation of quinone model compounds,” *Acta Chem. Scand. Ser. B Org. Chem. Biochem.*, vol. B34, no. 9, pp. 669–673, 1980.

[135] J. Laine, L. Lövgren, P. Stenius and S. Sjöberg, “Potentiometric titration of unbleached kraft cellulose fibre surfaces,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 88, no. 2–3, pp. 277–287, 1994.

[136] J. Grignon and A.M. Scallan, “Effect of pH and neutral salts upon the swelling of cellulose gels,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 25, no. 12, pp. 2829–2843, 1980.

[137] N. Wu, M.A. Hubbe, O.J. Rojas and S. Park, “Permeation of polyelectrolytes and other solutes into the pore spaces of water-swollen cellulose: a review,” *BioResources*, vol. 4, no. 3, pp. 1222–1262, 2009.

[138] J. Gregory, “Fundamentals of flocculation,” *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, vol. 19, no. 3, pp. 185–230, 1989.

[139] O.J. Rojas and M.A. Hubbe, “The dispersion science of papermaking,” *J. Dispers. Sci. Technol.*, vol. 25, no. 6, pp. 713–732, 2004.

[140] F. Mabire, R. Audebert and C. Quivoron, “Synthesis and solution properties of water soluble copolymers based on acrylamide and quaternary ammonium acrylic comonomer,” *Polymer (Guildf.)*, vol. 25, no. 9, pp. 1317–1322, 1984.

[141] M. Shirazi, T.G.M. Van de Ven and G. Garnier, “Adsorption of modified starches on pulp fibers,” *Langmuir*, vol. 19, no. 26, pp. 10835–10842, 2003.

[142] A. Buléon, P. Colonna, V. Planchot and S. Ball, “Starch granules: structure and biosynthesis,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 23, no. 2, pp. 85–112, 1998.

[143] E. Retulainen, K. Luukko, K. Fagerholm, J. Pere, J. Laine and H. Paulapuro,

“Papermaking quality of fines from different pulps-the effect of size, shape and chemical composition,” *Appita J.*, vol. 55, no. 6, pp. 457–460, 2002.

[144] S. Ahola, M. Österberg and J. Laine, “Cellulose nanofibrils adsorption with poly (amide-amine) epichlorohydrin studied by QCM-D and application as a paper strength additive,” *Cellulose*, vol. 15, no. 2, pp. 303–314, 2008.

[145] Ø. Eriksen, K. Syverud and Ø. Gregersen, “The use of microfibrillated cellulose produced from kraft pulp as strength enhancer in TMP paper,” *Nord. Pulp Pap. Res. J.*, vol. 23, no. 3, pp. 299–304, 2008.

[146] H. Yano and S. Nakahara, “Bio-composites produced from plant microfiber bundles with a nanometer unit web-like network,” *J. Mater. Sci.*, vol. 39, no. 5, pp. 1635–1638, 2004.

[147] M.A. Hubbe and J.A. Heitmann, “Review of factors affecting the release of water from cellulosic fibers during paper manufacture,” *BioResources*, vol. 2, no. 3, pp. 500–533, 2007.

[148] M.A. Hubbe, “Bonding between cellulosic fibers in the absence and presence of dry-strength agents-a review,” *BioResources*, vol. 1, no. 2, pp. 281–318, 2006.

[149] A. Dufresne, “Polysaccharide nano crystal reinforced nanocomposites,” *Can. J. Chem.*, vol. 86, no. 6, pp. 484–494, 2008.

[150] X. Cao, Y. Chen, P.R. Chang, A.D. Muir and D. Falk, “Starch-based nanocomposites reinforced with flax cellulose nanocrystals,” *EXPRESS Polym. Lett.*, vol. 2, no. 7, pp. 502–510, 2008.

[151] M. Henriksson and L.A. Berglund, “Structure and properties of cellulose nanocomposite film containing melamine formaldehyde,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 106, no. 4, pp. 2817–2824, 2007.

[152] M. Ioelovich and A. Leykin, “Nanocellulose and its application,” *J.SITA*, vol. 6, no. 3, pp. 17–24, 2004.

[153] “Anonim,” 2013. [Online]. Available: [www.pfi.no/New-Biomaterials/Projects/NanoHeal](http://www.pfi.no/New-Biomaterials/Projects/NanoHeal).

[154] D. Klemm, D. Schumann, F. Kramer, N. Hessler, M. Hornung, H.P. Schmauder and S. Marsch, “Nanocelluloses as innovative polymers in research and application,” *Adv. Polym. Sci.*, vol. 205, pp. 49–96, 2006.

[155] T. Wim, C.A. Warbey and D.A. Walsh, “Permselective nanostructured membranes based on cellulose nanowhiskers,” *Green Chem.*, vol. 11, no. 4, pp. 531–537, 2009.

[156] J.S. Anna, M.A.S. Azizi Samir and L.A. Berglund, “Biomimetic foams of high mechanical performance based on nanostructured cell walls reinforced by native nanofibrils,” *Adv. Mater.*, vol. 20, no. 7, pp. 1263–1269, 2008.

[157] H. Lindy and W. Thielemans, “Cellulose nanowhisker aerogels,” *Green Chem.*, vol. 12, no. 8, pp. 1448–1453, 2010.

[158] S. Houssine, M. Salajková, Q. Zhou and L.A. Berglund, “Mechanical performance tailoring of tough ultra-high porosity foams prepared from cellulose I nanofiber suspensions,” *Soft Matter*, vol. 6, no. 8, pp. 1824–1832, 2010.

[159] “Anonim,” 2013. [Online]. Available:

[http://www.newscientist.com/article/mg21528786.100-why-wood-pulp-is-worlds-new-wonder-material.html#.UqMiF\\_RYNV0](http://www.newscientist.com/article/mg21528786.100-why-wood-pulp-is-worlds-new-wonder-material.html#.UqMiF_RYNV0).

[160] “Anonim,” 2013. [Online]. Available: <http://fwmail.net/bilim/yaslanmayi-geciktiren-madde-kesfedildi/>.

[161] X.F. Chang, J.A. Olson and R.P. Beatson, “A comparison between the effects of ozone and alkaline peroxide treatments on TMP properties and subsequently low consistency refining,” *BioResources*, vol. 7, pp. 99–111, 2012.

[162] D. Dutt and C.H. Tyagi, “Comparison of various eucalyptus species for their morphological, chemical, pulp and paper making characteristics,” *Indian J. Chem. Technol.*, vol. 18, no. 2, pp. 145–151, 2011.

[163] R. Kolakovic, “Nanofibrillar cellulose in drug delivery, division of pharmaceutical technology faculty of pharmacy,” University of Helsinki, Finland, 2013.

[164] H.R. Sørensen, S. Pedersen, A. Viksø-Nielsen and A.S. Meye, “Efficiencies of designed enzyme combinations in releasing arabinose and xylose from wheat arabinoxylan in an industrial ethanol fermentation residue,” *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 36, no. 5–6, pp. 773–784, 2005.

[165] Z. Zhang, “Chemical functionalization of nanofibrillated cellulose by alkoxysilanes: application to the elaboration of composites and foams,” Université Bordeaux, Bordeaux-France, 2013.

[166] K.K. Pandey, “A Study of Chemical Structure of Soft and Hardwood and Wood Polymers by FTIR Spectroscopy,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 71, pp. 1969–1975, 1999.

[167] M.V. Poletto and A.J. Zattera, “Structural characteristics and thermal properties of native cellulose,” *Materials (Basel)*, vol. 7, no. 9, pp. 6105–6119, 2014.

[168] K. Benhamou, A. Dufresne, A. Magnin, G. Mortha and H. Kaddami, “Control of size and viscoelastic properties of nanofibrillated cellulose from palm tree by varying the TEMPO-mediated oxidation time,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 99, pp. 74–83, 2014.

[169] “Anonim,” 2015. [Online]. Available: <http://www.tappi.org/content/events/10nano/papers/6.4.pdf>.

[170] K. Missoum, J. Bras and M.N. Belgacem, “Organization of aliphatic chains grafted on nanofibrillated cellulose and influence on final properties,” *Cellulose*, vol. 19, no. 6, pp. 1957–1973, 2012.

[171] A. Kumar, Y.S. Negi, V. Choudhary and N.K. Bhardwaj, “Characterization of cellulose nanocrystals produced by acid-hydrolysis from sugarcane bagasse as agro-waste,” *J. Mater. Phys. Chem.*, vol. 2, no. 1, pp. 1–8, 2014.

[172] N. Hon-Meng, L.T. Sin, T. Tiam-Ting, B. Soo-Tueen, D. Hui, L. Chong-Yu and A.R. Rahmat, “Extraction of cellulose nanocrystals from plant sources for application as reinforcing agent in polymers,” *Compos. Part B Eng.*, vol. 75, pp. 176–200, 2015.

[173] W.L. Earl and D.L. Vanderhart, “High resolution magic angle sample spinning <sup>13</sup>C NMR of solid cellulose I,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 102, pp. 3251–3252, 1980.

[174] K.O. Reddy, J. Zhang, J. Zhang and A.V. Rajulu, “Preparation and properties of self-reinforced cellulose composite films from AGAVE microfibrils using an ionic liquid,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 114, pp. 537–545, 2014.

[175] C.U. Maheswari, K.O. Reddy, E. Muzenda, B.R. Guduri and A.V. Rajulu,

- “Extraction and characterization of cellulose microfibrils from agricultural residue,” *Cocos nucifera L., Biomass Bioenergy*, vol. 46, pp. 555–563, 2012.
- [176] D. Liu, X. Chen, Y. Yue, M. Chen and Q. Wu, “Structure and rheology of nanocrystalline cellulose,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 84, no. 1, pp. 316–322, 2011.
- [177] A. Karppinen, T. Ssarinen, J. Salmeda, A. Laukkanen, M. Nuopponen and J. Seppala, “Flocculation of microfibrillated cellulose in shear flow,” *Cellulose*, vol. 19, pp. 1807–1819, 2012.
- [178] A. Karppinen, “Rheology and Flocculation of Polymermodified Microfibrillated Cellulose Suspensions,” Aalto University School of Chemical Technology Department of Biotechnology and Chemical Technology Polymer Technology, Doctoral Dissertations, Espoo, Finland, 2014.
- [179] E. Saarikoski, T. Saarinen, J. Salmela and J. Seppala, “Flocculated flow of microfibrillated cellulose water suspensions: an imaging approach for characterisation of rheological behaviour,” *Cellulose*, vol. 19, pp. 647–659, 2012.
- [180] S. Shafiei-Sabet, W.Y. Hamad and S.G. Hatzikiriakos, “Rheology of nanocrystalline cellulose aqueous suspensions,” *Langmuir*, vol. 28, no. 49, pp. 17124–17133, 2012.
- [181] Y. Habibi, L.A. Lucia and O.J. Rojas, “Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications,” *Chem. Rev.*, vol. 110, pp. 3479–3500, 2010.
- [182] H.C. Chan, C.H. Chia, S. Zakaria, I. Ahmad and A. Dufresne, “Production and characterization of cellulose and nano-crystalline cellulose from kenaf core wood,” *BioResources*, vol. 8, no. 1, pp. 786–794, 2013.
- [183] L. Szcześniak, A. Rachocki and J. Tritt-Goc, “Glass transition temperature and thermal decomposition of cellulose powder,” *Cellulose*, vol. 15, no. 3, pp. 445–451, 2008.
- [184] D. Ciolacu, F. Ciolacu and V.I. Popa, “Amorphous cellulose—structure and characterization,” *Cellul. Chem. Technol.*, vol. 45, no. 1–2, pp. 13–21, 2011.
- [185] H. Yang, R. Yan, H. Chen, D.H. Lee and C. Zheng, “Characteristics of hemicellulose and lignin pyrolysis,” *Fuel*, vol. 86, pp. 1781–1788, 2007.
- [186] C.P. Azubuike and A.O. Okhamafe, “Physicochemical, spectroscopic and thermal properties of microcrystalline cellulose derived from corncobs,” *J. Recycling Org. Agric.*, vol. 1, no. 9, pp. 1–7, 2012.

# ÖZGEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Recai Arslan  
Doğum Tarihi ve Yeri : 29.08.1990 / Bartın  
Yabancı Dili : İngilizce  
E-posta : recaiarslan.74@gmail.com

## ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Orman Endüstri Mühendisliği	Düzce Üniversitesi	-
Lisans	Kimya	Düzce Üniversitesi	2014
Lise	Fen Bilimleri	Sarkuysan Lisesi	2009