

# SEM analiza tekstilne sirovine dobivene predobradom biljke Giant Miscanthus

---

Dominić, Ines

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Textile Technology / Sveučilište u Zagrebu, Tekstilno-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:201:248109>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-25**



Repository / Repozitorij:

[Faculty of Textile Technology University of Zagreb - Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
TEKSTILNO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

ZAVRŠNI RAD

SEM analiza tekstilne sirovine dobivene predobradom biljke *Miscanthus x giganteus*

Ines Dominić

Zagreb, rujan 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
TEKSTILNO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Zavod za tekstilnu kemiju i ekologiju

ZAVRŠNI RAD

SEM analiza tekstilne sirovine dobivene predobradom biljke *Miscanthus x giganteus*

**Mentor:**

prof. dr. sc. Sandra Bischof

**Student:**

Ines Dominić

Zagreb, rujan 2021.

UNIVERSITY OF ZAGREB  
FACULTY OF TEXTILE TECHNOLOGY  
Department of Textile Chemistry and Ecology

UNDERGRADUATE THESIS

SEM analysis of textile raw materials obtained by pretreatment of the plant *Miscanthus x giganteus*

**Mentor:**

prof. dr. sc. Sandra Bischof

**Student:**

Ines Dominić

Zagreb, September 2021.

## **DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

Sveučilište u Zagrebu, Tekstilno-tehnološki fakultet,

Prilaz baruna Filipovića 28a, 10 000 Zagreb

Zavod za tekstilnu kemiju i ekologiju

Broj stranica: 32

Broj slika: 22

Broj literaturnih izvora: 48

Povjerenstvo za ocjenu i obranu završnog rada:

1. Prof. dr. sc. Edita Vujasinović, predsjednica
2. Prof. dr. sc. Sandra Bischof, članica- mentorica
3. Prof. dr. sc. Tanja Pušić, članica
4. Dr. sc. Zorana Kovačević, zamjenica članice

Datum predaje rada:

Datum obrane rada:

## ZAHVALA

Srdačno se zahvaljujem poštovanoj mentorici prof dr. sc. Sandri Bischof na prilici za suradnju, znanje i nesebičnu pomoć koju mi je pružila. Posebno zahvaljujem za sve stručne savjete koje mi je pružila pri pisanju ovoga rada.

Zahvaljujem se neposrednoj voditeljici dr. sc. Zorani Kovačević za pomoć pri izradi eksperimentalnog dijela te nezamjenjivim savjetima i znanju koje mi je pružila.

Također zahvaljujem svim prijateljima i kolegama koji su s razumijevanjem i podrškom pratili cijeli ovaj put. Hvala Marijana što si uskočila za sve što je trebalo.

Naposljetku hvala i cijeloj mojoj obitelji, roditeljima, bakama i djedu na uvijek prisutnoj podršci, te posebno hvala sestri Moniki što mi nikad nije dopustila da posustanem.

Ovo istraživanje financirao je Europski fond za regionalni razvoj putem K.K.01.1.1.04.0091 projekta ‘‘Dizajn naprednih biokompozita iz energetski održivih izvora – BIOKOMPOZITI’’, te stoga želim posebno zahvaliti na prilici na radu na navedenom projektu.

## SAŽETAK

*Miscanthus x giganteus* je visokoučinkovita energetska kultura koja nalazi svoju primjenu u raznim poljima, prvenstveno za biogorivo, ali se sukladno rezultatima istraživanja prikazanog u ovom radu, može primijeniti i za tehničke tekstilije npr. filtere ili kao ojačalo u proizvodnji kompozitnih materijala. Zbog visoke produktivnosti i neinvazivnosti, te otpornosti na različite klime, *Miscanthus* postaje važna sirovina za petrokemijsku, građevinsku, papirnu i tekstilnu industriju. S obzirom da energetske biljke, dobivaju sve veći značaj, kako u agronomiji tako i tekstilnoj industriji iz razloga održivog razvoja i ekonomičnosti postupaka proizvodnje je upravo ova kultura odabrana za temu završnog rada.

Cilj rada bio je izdvojiti celulozna vlakna iz stabljike biljke *Miscanthus x giganteus* na ekonomičan i ekološki povoljan način. U radu je prikazana mogućnost primjene različitih postupaka obrade, koji su podijeljeni u preliminarne i završne. Preliminarnim istraživanjima je utvrđeno da optimalni postupak uključuje oksidativnu obradu primjenom vodikovog peroksida i primjenom mikrovalne tehnologije. U završnom postupku je odabrana metoda unaprijeđena određivanjem optimalnih omjera kupelji i vremena obrade primjenom mikrovalnog zračenja. Za morfološku karakterizaciju izdvojenih vlakana su primijenjeni svjetlosni mikroskop Dino-Lite i skenirajući elektronski mikroskop (SEM) kojima je utvrđena dužina i izgled vlakana. Dobiveni rezultati su potvrdili potencijal *Miscanthusa* kao ekološke i održive sirovine iz koje je moguće izdvojiti celulozna vlakna koja bi svoju primjenu mogla naći u raznim područjima industrije i tehnologije.

Ključne riječi: *Miscanthus x giganteus*, biomasa, celulozna vlakna, obrada mikrovalnim zračenjem, SEM karakterizacija

## SUMMARY

*Miscanthus x giganteus* is a highly efficient energy crop that finds its application in various fields, primarily for biofuels. According to this research, it can be applied for technical textiles such as filters or as a reinforcement in the production of composite materials as well. Due to its high productivity, non-invasiveness, and resistance to different climates, *Miscanthus* becomes an important raw material for the petrochemical, construction, paper, and textile industries. Energy crops are becoming increasingly important, both in agronomy and the textile industry due to its sustainability and cost-effectiveness of production processes. For that reason is *Miscanthus x giganteus*, as one of the representatives of energy crops, chosen for the topic of this thesis.

The aim of this work was to extract fibers from the *Miscanthus giganteus* stem in an economic and ecologically accepted way. The thesis presents the possibility of different processing treatments application, which are divided into preliminary and final. Preliminary research determined oxidative treatment with hydrogen peroxide and microwave technology as the best. In final procedure, chosen method was optimized by finding the optimal bath ratios and microwave treatment duration. For the morphological characterization of the isolated fibers, Dino-Lite and the FE-SEM (Field Emission Scanning Electron Microscope) were used to determine fiber length and appearance. The obtained results confirmed the potential of *Miscanthus x giganteus* as an ecological and sustainable source of cellulose fibers that can be applicable in various fields of industry and technology.

**Key words:** *Miscanthus x giganteus*, biomass, cellulose fibers, microwave treatments, SEM analysis



## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	2
2.1. Općenito o <i>Miscanthus x giganteus</i> .....	2
2.1.1. Razmnožavanje <i>Miscanthus x giganteus</i> .....	3
2.1.2. Žetva i sušenje <i>Miscanthus x giganteus</i> .....	4
2.1.3. Anatomija biljke <i>Miscanthus x giganteus</i> .....	5
2.1.4. Uporaba <i>Miscanthusa</i> od davnina do današnjih dana .....	5
2.1.5. Biomasa <i>Miscanthusa</i> .....	5
2.2. Obrade stabljike <i>Miscanthus x giganteusa</i> u svrhu dobivanja celuloze.....	6
2.2.1. Sulfatni postupak .....	7
2.2.2. Metoda natrijeva peroksida .....	7
2.2.3. Metoda vodikovog peroksida .....	8
2.2.4. Organska otapala.....	8
2.2.5. Sulfitni postupak u lužnatom .....	9
2.3. Obrade stabljike <i>Miscanthus x giganteusa</i> u svrhu dobivanja lignina .....	9
2.3.1. Izdvajanje lignina vrućom vodom .....	10
2.3.2. Ekstrakcija lignina etanolom .....	10
2.4. Izdvajanje vlakana .....	11
2.5. Primjena mikrovalne tehnologije.....	12
2.6. Primjena ultrazvuka.....	13
2.7. Karakterizacija uzoraka primjenom mikroskopa .....	14
2.7.1. Dino-Lite mikroskop.....	14
2.7.2. Skenirajući elektronski mikroskop .....	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	16
3.1. Materijali.....	16
3.2. Sredstva i kemikalije .....	16
3.3. Postupci obrade .....	17
3.3.1. Preliminarna istraživanja .....	17
3.3.2. Završno istraživanje.....	19
3.4. Metode ispitivanja .....	20
3.4.1. Mikroskopska analiza uzoraka mikroskopom Dino-Lite AM7013MT .....	20
3.4.2. Skenirajući elektronski mikroskop (FE-SEM).....	20
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	22
4.1. Izdvajanje vlakana .....	22

<b>4.2. Morfološka karakterizacije površine primjenom mikroskopa .....</b>	<b>23</b>
<b>4.2.1. Analiza primjenom svjetlosnog mikroskopa <i>DinoLite</i> .....</b>	<b>23</b>
<b>4.2.2. Analiza primjenom <i>SEM-a</i> .....</b>	<b>24</b>
<b>5. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>28</b>
<b>6. REFERENCE .....</b>	<b>29</b>

## 1. UVOD

*Miscanthus x giganteus* (Kineski šaš) je visokoproduktivna i visokoenergetska, sterilna kultura, koja se razmnožava vegetativno [1]. Ime *Miscanthus* potječe od grčke riječi *michos* što znači peteljka, a što se odnosi na cvat, te riječi *anthos* koja znači cvijet. Pripada porodici trava (*Poaceae*). Sam rod *Miscanthus* obuhvaća 14–20 vrsta [2]. Iako potječe iz Azije danas se može naći i u velikom dijelu Europe. S obzirom na vegetativni način razmnožavanja, prednost *Miscanthusa* je što nije invazivna vrsta. Dodatno, njegov uzgoj ne zahtjeva upotrebu kemikalija i pesticida, te stoga ima sve veću primjenu u Europi, gdje se komercijalno uzgaja od 1982. godine, od čega u velikoj mjeri u seoskim domaćinstvima, budući da pomaže kod pročišćavanja otpadnih voda [1].

Energetske kulture su one, koje mogu osigurati sirovinu za proizvodnju energije koja će se koristiti u prometu (prva i druga generacija biogoriva), te za proizvodnju električne i toplinske energije [3]. S obzirom na činjenicu da se pri proizvodnji biogoriva prve generacije koriste sirovine potrebne ujedno i za prehranu stanovništva, došlo je do potrebe za razvojem biogoriva druge generacije čije su sirovine za proizvodnju šumska i poljoprivredna biomasa, organski otpad, te energetske lignocelulozne kulture, čiji predstavnik je *Miscanthus x giganteus* [2]. Energetske kulture su one koje su uzgojene isključivo u svrhu proizvodnje biomase; ciljajući na proizvodnju što veće količine biomase po jedinici površine, a s ciljem njene pretvorbe u energiju [4]. *Miscanthus* se ubraja u energetska skupinu C<sub>4</sub> biljaka što znači da može apsorbirati iznad prosječnu količinu CO<sub>2</sub> (30 t/ha). Također, biljke koje spadaju u navedenu skupinu efikasno koriste resurse dostupne za rast, zadržavaju ugljik u tlu, nisu invazivne te imaju optimalni rast u područjima više prosječne temperature (30–45 °C), te više koriste sunčevo zračenje za stvaranje ugljika od biljaka koje spadaju u skupinu C<sub>3</sub> (6,7% za razliku od C<sub>3</sub> koje koriste 3,3%) [2].

Cilj ovog završnog rada je bio utvrditi optimalni postupak izdvajanja celuloznih vlakana iz biljke *Miscanthus x Giganteus* vodeći se pritom načelima održivosti i ekologije. Pri tome je bilo potrebno je izdvojiti tehnička od elementarnih vlakana te utvrditi svojstva elementarnih vlakana. Vlakna je zatim bilo potrebno morfološki analizirati i opisati koristeći svjetlosni i skenirajući elektronski mikroskop (SEM). U ovisnosti o dobivenim svojstvima vlakana preporučiti će se njihova daljnja primjena – za izradu tehničkih tekstilija (npr. filtera) ili vlaknima ojačanih kompozita.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Općenito o *Miscanthus x giganteus*

Trava *Miscanthus* pripada porodici *Poaceae*, potporodici *Panicoideae*, te tribusu *Andropogoneae*, koji uz *Miscanthus* uključuje i druge važne trave poput roda *Zea* (kukuruz) i *Sorghum* (sirak) [1].

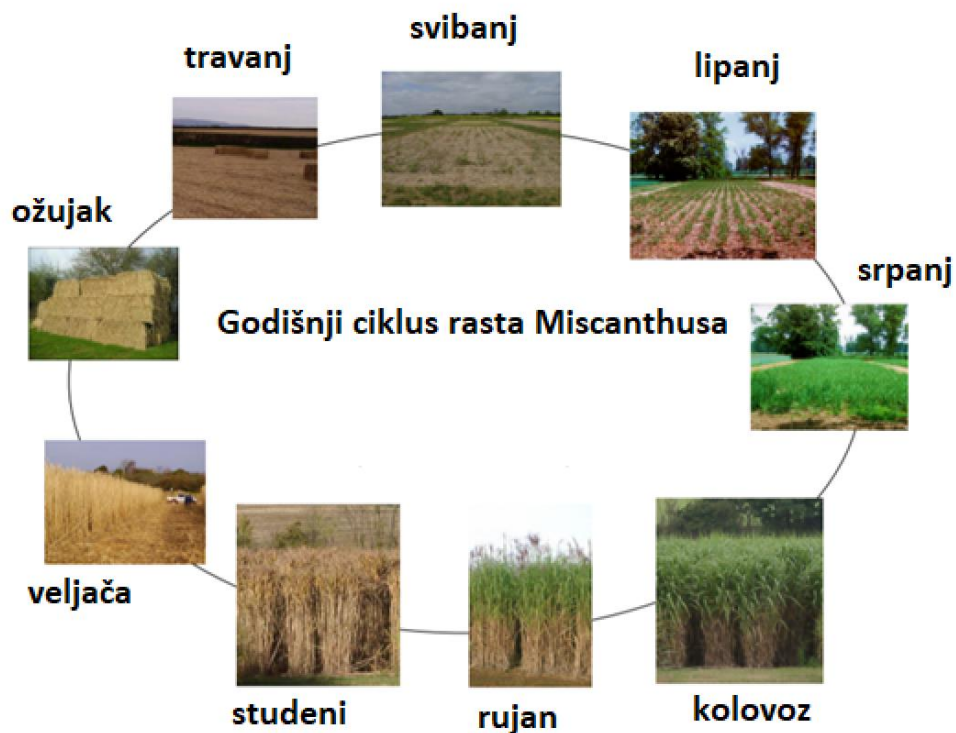


**Slika 1.** Trava *Miscanthus* [5]

Vrsta *Miscanthus x giganteus* je hibrid i potomak diploida *M. sinensis* i tetraploida *M. sacchariflorus*. Kao sterilni hibrid navedenih biljaka *Miscanthus x giganteus* smještena je u vlastitu taksonomsku klasifikaciju zbog specifičnosti rasta i karakteristika tijekom razvoja koje se razlikuju od ostalih biljaka u rodu *Miscanthus* [1]. *Miscanthus x giganteus* je trajnica koja fotosintetski fiksira C<sub>4</sub> ugljik. Pritom je jedinstvena budući da su C<sub>4</sub> vrste obično podložne šteti na biljci pri niskim temperaturama, dok kod *Miscanthus x giganteus* ta karakteristika izostaje, a fotosintetska aktivnost lišća ostaje visoka čak i pri nižim temperaturama (8°C) pa time ostaje visokoučinkovita i u hladnijim klimama.

Uzgoj *Miscanthus x giganteus* je moguć na tlu niže kvalitete, te na tlu nepogodnom za ratarske kulture, čime se ne okupiraju zemljišta predviđena za poljoprivredu, odnosno proizvodnju ljudske i stočne hrane i čime uzgoj ne ulazi u hranidbeni lanac [6]. Trajnica *Miscanthus x giganteus* dostiže maksimalnu produktivnost u trećoj godini rasta u kojoj se najčešće i sadi putem rizoma. U prvoj godini rasta ne dostiže se maksimalni prinos, dok biljka do svibnja dostiže visinu od gotovo 2 metra, a rast u širinu se događa u kasnom svibnju i ranom lipnju, što ujedno i omogućuje biljci da preraste korov, te se i gubi potreba za mehaničkim uklanjanjem korova (Slika 2.) [1, 7].

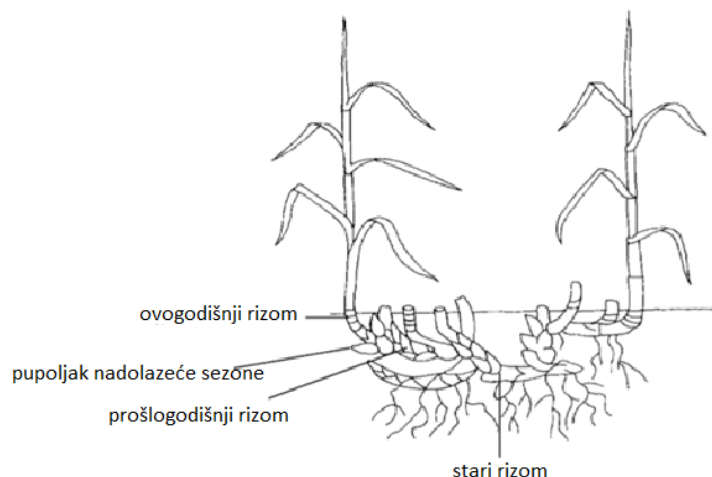
Zrelost dostiže obično oko treće godine, a zrele biljke rastu do visine od četiri metra sa strukturom korijena koja seže 1,8 metara u dubinu (Slika 1.). Maksimalna biomasa postiže se u kolovozu, dok je žetva predviđena za rujan i listopad [7]. Pri sadnji se koriste obično mladice uzgojene u laboratoriju, uz preporuku od 10000 komada po hektaru sadnog tla, pri čemu se za jednu sadnicu koristi površina od 1m<sup>2</sup> [5].



Slika 2. Godišnji razvojni ciklus *Miscanthus x giganteus* [1]

### 2.1.1. Razmnožavanje *Miscanthus x giganteus*

*Miscanthus x giganteus* se može razmnožavati pomoću sjemena, rizoma i reznica. Budući da je *Miscanthus x giganteus* međuvrtni hibrid koji je pritom tropolan i praktički sterilan, morfologija potomstva je vrlo promjenjiva, te se stoga razmnožavanje pomoću sjemena ne koristi u komercijalnoj proizvodnji [7]. S obzirom da je *Miscanthus x giganteus* sterilna biljka, optimalan način razmnožavanja je vegetativno razmnožavanje na učinkovit i ekonomičan način [1]. Najčešći način razmnožavanja *Miscanthus x giganteus* je pomoću rizoma koji se koriste za izravnu sadnju u polju (Slika 3.) [8].



**Slika 3.** Razvojni dijelovi rizoma u *Miscanthus x giganteus*. [9]

Razmnožavanje *Miscanthus x giganteus* moguće je i koristeći reznice stabljike, što se vrši u periodu između kraja srpnja i kraja kolovoza. Reže se dio stabljike koji mora sadržavati dobro razvijen pup iz kojega se razvija mlada biljka, te je od jedne matične stabljike moguće dobiti šest do sedam biljaka [7].

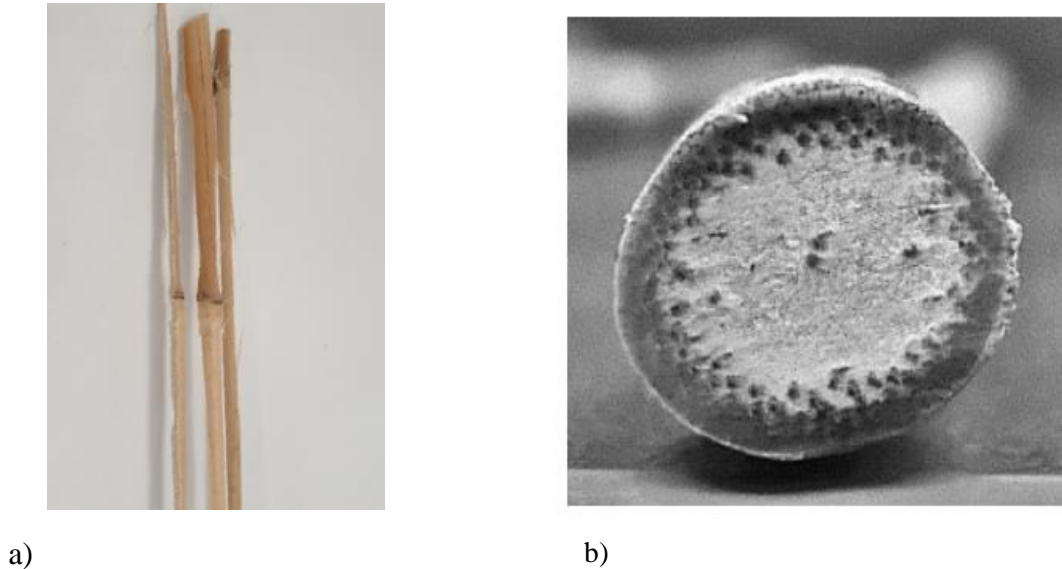
### 2.1.2. Žetva i sušenje *Miscanthus x giganteus*

U trećoj godini rasta, kada se dostiže maksimalan prinos, *Miscanthus* postiže visinu od 2,5–3,5 m. Iako se podaci za godišnji prinos biomase razlikuju ovisno o autoru i ovise o vanjskim faktorima, uvriježen je podatak 12–25 tona suhe tvari po hektaru [5, 7].

Nakon žetve potrebno je provesti sušenje, odnosno smanjiti sadržaj vlage na razinu u ravnoteži s relativnom vlažnošću zraka ovisno o temperaturi skladištenja. Ako je sadržaj vlage previsok, dolazi do mikrobiološke aktivnosti što rezultira gubicima suhe tvari i kontaminacijom usjeva gljivicama. Pri skladištenju važno je održavati količinu vlage ispod 15%, što se postiže regulacijom temperature, a sve u svrhu očuvanja stabilnosti biomase i sprječavanja pojave mikrobiološke aktivnosti [7]. Na ovaj način dobivamo prikladnu sirovinu potrebnu za izdvajanje vlakana koju smo koristili u ovom radu.

### 2.1.3. Anatomija biljke *Miscanthus x giganteus*

Stabljika biljke *Miscanthus x giganteus* je tanka, uspravna, te se ne grana. Ispunjena je čvrstom srčikom promjera 10 mm (Slika 4.) [6].



**Slika 4.** a) Suha stabljika *Miscanthusa*; b) Poprečni presjek stabljike *Miscanthusa* [10].

### 2.1.4. Uporaba *Miscanthusa* od davnina do današnjih dana

Ova biljka se u Europi počela uzgajati 1935.g. kada ju je prvi puta uvezaio Aksel Olsen iz Japana u Dansku. U početku se uzgajala kao ukrasna biljka i pritom se počela širiti Europom [1]. U današnje vrijeme najčešće se koristi kao izvor za proizvodnju bioetanola gdje joj je najveći konkurent biljka kukuruza. Primjer je američka proizvodnja gdje je za proizvodnju  $1,32 \times 10^8$  etanola godišnje potrebno uzgojiti 18,7 miliona hektara kukuruza, a samo 11,8 miliona hektara *Miscanthusa* [1].

### 2.1.5. Biomasa *Miscanthusa*

Biomasa je biorazgradivi dio proizvoda, ostatka i otpada iz područja poljoprivrede, šumarstva te srodnih industrija te industrijskog i komunalnog otpada [11]. *Miscanthus* se ubraja u lignoceluloznu biomasu [12]. Lignoceluloza koja čini glavni dio strukture biomase je vlaknasti materijal koji je ujedno i osnova stanične stijenke biljke, te se sastoji od tri glavne komponente: celuloze (40–60%), hemiceluloze (20–40%) i lignina (10–30%) pri čemu su

arabinoksilani prevladavajuća komponenta hemiceluloze, a udio svake pojedine komponente ovisi o vrsti sirovine [13].

*Miscanthus x giganteus* je najčešće uzgajana vrsta koja se koristi za proizvodnju lignocelulozne biomase, budući da u usporedbi s drugim sličnim usjevima sadrži značajno manje vode i pepela [14]. Za usporedbu se može navesti da je energetska vrijednost 20 tona biomase *Miscanthusa* jednaka energetske vrijednosti 12 tona kamenog ugljena; odnosno 30 tona biomase *Miscanthusa* je jednako energetske vrijednosti 12000 litara loživog ulja [14, 15]. U Republici Hrvatskoj nakon višegodišnje žetve i uzgoja u različitim podnebljima, dobiveni su podaci da se sadržaj vode, pepela, dušika i sumpora znatno razlikuju ovisno o žetvi, dok ostale komponente ne pokazuju veliku razliku ovisno o vremenu žetve i lokaciji uzgoja. Iz navedenih podataka jasan je potencijal trave *Miscanthus x giganteus* kao visokokvalitetne sirovine u neposrednoj proizvodnji električne i toplinske energije [2]. U Tablici 1. prikazana su ta energetska svojstva na usjevu uzgojenom na području Republike Hrvatske.

**Tablica 1.** Neka energetska svojstva kulture *Miscanthus x giganteus* uzgojene na području Republike Hrvatske. [4]

Parametar/lokacija	Medvednica	D. Bistra	(Garcia et al., 2012)
Pepeo (%)	4,72	4,82	9,60
Fiksirani ugljik (%)	9,80	12,46	11,40
Hlapive tvari (%)	79,92	76,72	79,00
Gornja ogrjevna vrijednost MJ kg <sup>-1</sup> )	18,00	18,00	18,07
C (%)	48,72	48,55	47,09
N (%)	0,65	0,31	0,10
H (%)	4,30	4,24	6,30
O (%)	45,52	46,44	46,42
S (%)	0,08	0,08	0,10

## 2.2. Obrade stabljike *Miscanthus x giganteusa* u svrhu dobivanja celuloze

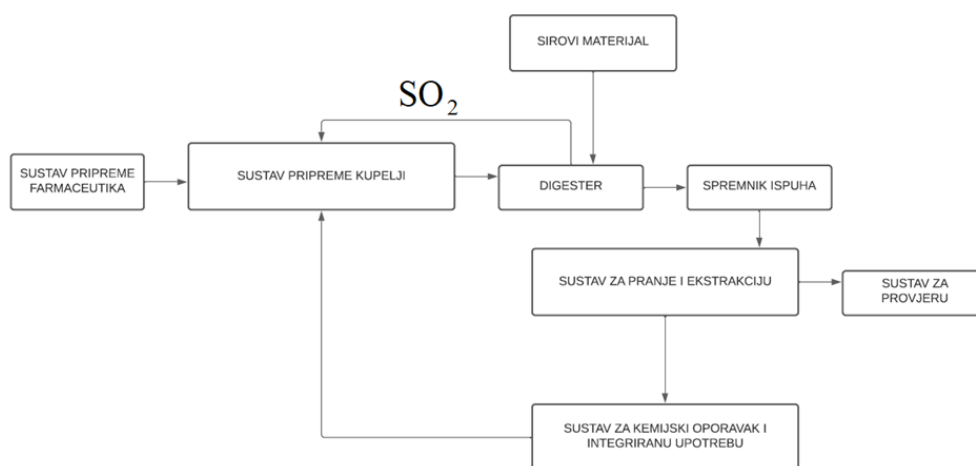
Obrada stabljike *Miscanthus x giganteusa* u vlaknastu pulpu se najčešće provodi sulfatnim postupkom (Kraft postupak), primjenom natrijeva peroksida, organskih otapala ili sulfitnim postupkom u lužnatom [16].



### 2.2.1. Sulfatni postupak

Sulfatnim se postupkom proizvodi drvena pulpa koju čine gotovo čista celulozna vlakna, na način da se drvena stabljika obrađuje otopinom sulfitnih i bisulfitnih iona (Slika 5.). Te kemikalije stvaraju veze među komponentama celuloze i lignina iz lignoceluloze. Pri ovome postupku koriste se razne sulfitne/bisulfitne soli uključujući natrijeve ( $\text{Na}^+$ ), kalcijeve ( $\text{Ca}^{2+}$ ), kalijeve ( $\text{K}^+$ ), magnezijeve ( $\text{Mg}^{2+}$ ) i amonijeve ione ( $\text{NH}_4^+$ ). Lignin se pretvara u topljive lignosulfonate koji se mogu razdvojiti od celuloznih vlakana [17].

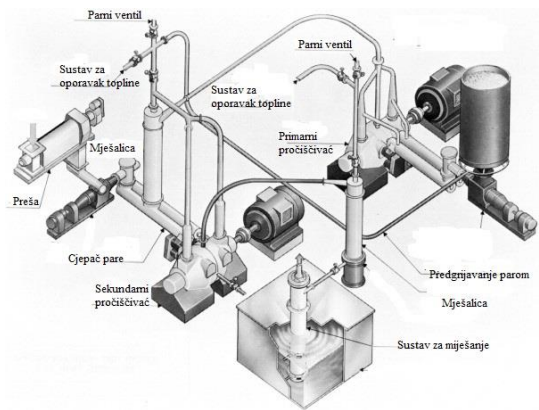
Rezultat je sulfatna celuloza dobivena u obliku čvrstih i dugih vlakana, a u kojem se celulozna masa nakon iskuhavanja (5 sati na 100–180°C) s natrijevim hidroksidom te natrijevim sulfidom odvaja od preostalog luga, a zatim pere, čisti, te po potrebi izbjeljuje. Na kraju se lug regenerira isparivanjem i dodavanjem natrijeva sulfata kako bi se nadoknadio potrošeni natrij, te spaljivanjem i kaustificiranjem [18].



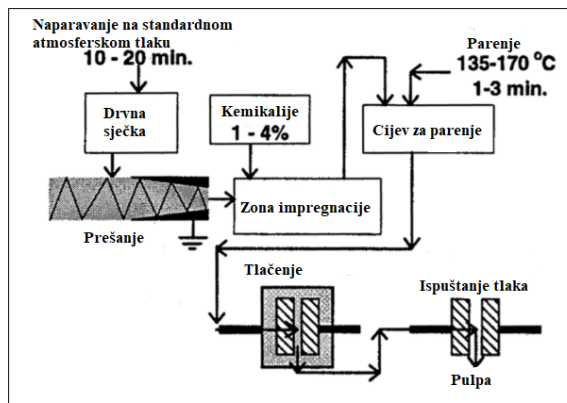
Slika 5. Dijagram sulfatnog postupka. [19]

### 2.2.2. Metoda natrijeva peroksida

Ova metoda koristi se za izdvajanje i bijeljenje pulpe pri proizvodnji papira. Postupak se može provoditi u 2 koraka kao što je prikazano na Slici 6. pri čemu se dobiva termomehanička pulpa (TMP) ili u 3 koraka pri čemu se dobiva – kemijska termomehanička pulpa (CTMP) [20].



a)



b)

**Slika 6.** Sheme postupaka za izdvajanje pulpe u procesima a) TMP i b) CTMP

### 2.2.3. Metoda vodikovog peroksida

Vodikov je peroksid ekonomični i biološki povoljan oksidans koji se sve više koristi u pripremi celuloznih nanovlakana (CNF). Primjenjuje se kao aditiv pri proizvodnji CNF-a u kombinaciji sa željezovim sulfatom ( $\text{FeSO}_4$ ) [21]. Proces koji je razvio autor Wang pruža jednostavnu metodu izdvajanja CNF-a iz stabljika bambusa mljevenih na veličinu čestica 40–60 mesha korištenjem samo jedne kupelji koja koristi smjesu  $\text{HNO}_3$  (65%-tne) i  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%-tnog). Kao rezultat su dobivena CNF  $13.1 \pm 2.0$  nm širine, te 74% kristaličnosti [22, 23].

Važno je napomenuti da peroksid može pojačati oksidativno djelovanje  $\text{HNO}_3$  budući da ima mogućnost oksidacije  $\text{HNO}_2$  u  $\text{HNO}_3$  [22]. Autor Liew također navodi vodikov peroksid kao pomoćno sredstvo pri delignifikaciji u procesu izdvajanja vlakana kod stabljike bambusa [24].

### 2.2.4. Organska otapala

Ova metoda koristi procese bazirane na otapalima poput kiselina ili alkohola kao kemikalije za iskuhavanje. Treba naglasiti da se koriste i anorganske tvari. U Finskoj je 2010. g tvrtka Chempolis komercijalizirala i dodatno razvija postupak izdvajanja pulpe i patentirala pod nazivom **formico®**. Postupak se odvija u tri glavna koraka: delignifikacija, izbjeljivanje i oporavak kiselina [25].

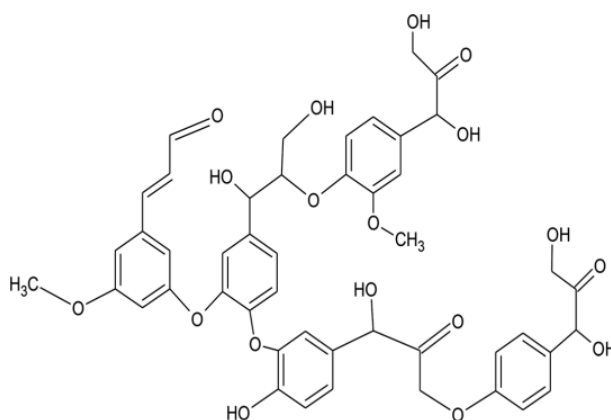
U kiselim uvjetima delignifikacije izbjegava se otapanje silikona, te je moguće kontrolirati hidrolizu ksilana, dok se ostali nutrijenti otapaju. Kako bi se smanjila cijena oporavka, kemikalije za iskuhavanje se biraju na način da koriste tvari nastale tijekom procesiranja lignoceluloze. Korišteni su alkalni uvjeti pri bijeljenju kako bi se reducirala količina otpadnih voda, te uz izbjeljenu pulpu izlazne vode sadrže i čvrsto organsko biogorivo koje se može koristiti kao izvor energije u daljnjim procesima [26].

### 2.2.5. Sulfitni postupak u lužnatom

Kako je opisano u radu autora Jahana [27] sulfitnim postupkom se pulpa (izvorno istražena na kukuruzu) iz biljke narezane na stabljike duljine 2–4 cm u početku izdvaja s lužinom određene koncentracije (16%) pri nekom vremenu izdvajanja pulpe (optimalno vrijeme 30 min) i pri optimalnoj temperaturi (145 °C), a potom se iskuhava u otopini natrijeva sulfida/natrijeva hidroksida (optimalan omjer 50:50), te se kao rezultat dobiva dodatna pulpa pri proizvodnji nebijeljenog papira [27].

### 2.3. Obrade stabljike *Miscanthus x giganteusa* u svrhu dobivanja lignina

Lignin je polifelnolni polimer (Slika 7.), i glavni sastojak drveta kojem je uloga povezivanje celuloznih vlakana u čvrstu izvanstaničnu strukturu. Lignifikacija je proces sinteze lignina u biljnoj stanici koja ga zatim pohranjuje na unutarnju stranu celulozne stijenke, te kada žive biljne stanice ugibaju, ostane samo vanjska, vrlo čvrsta celulozno-ligninska struktura. Lignin se može izdvojiti procesom ekstrakcije pomoću vruće vode ili vodene pare, kiselina ili organskih otapala [28].



**Slika 7.** Kemijska struktura lignina [29].

### **2.3.1. Izdvajanje lignina vrućom vodom**

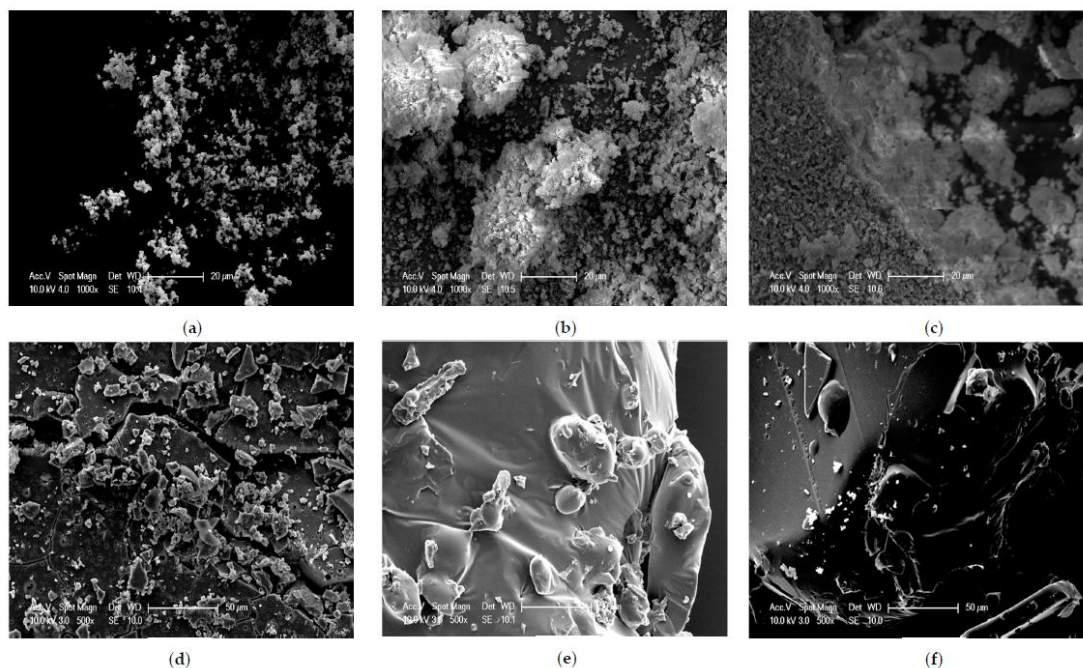
Rezultat postupka ekstrakcije lignina vrućom vodom iz *Miscanthusa x giganteusa* pokazao je da dolazi do manje selektivnog uklanjanja ksilana nego u slučaju ekstrakcija tvrdog drveta, odnosno manje je ksilana, a više lignina uklonjeno iz *Miscanthusa* nego iz tvrde drvene građe [30]. Korištenje vruće vode je rezultiralo biomasom koja je više podložna enzimima celulaze i hemicelulaze, što rezultira većim prinosom glukoze i ksiloze koje se oslobađaju enzimatskom hidrolizom [13], [30].

Lignin izoliran tijekom procesa može biti oporavljen i zatim može biti upotrijebljen za proizvodnju adheziva bez formaldehida koji pokazuje slična svojstva čvrstoće, a može se razviti kao relativno jeftiniji i ekološki povoljniji aditiv u raznim industrijama poput medicinske, tekstilne, prehrambene i kozmetičke. Oporavljeni lignin ima veći sadržaj energije i manju količinu pepela od onog izoliranog iz native i vodom ekstrahirane biljke *Miscanthusa*; odnosno može biti upotrijebljen kao aditiv u gorivim peletima gdje može poslužiti kao vezivo za pelete koje imaju veću gorivu moć [13].

### **2.3.2. Ekstrakcija lignina etanolom**

Lignin iz *Miscanthusa x giganteusa* se ekstrahira primjenom organskih otapala (u postupcima izrade industrijskog papira, tehnika koja koristi organsko otapalo za solubiliziranje lignina i hemiceluloze) pod uvjetima refluksa u trajanju od 4h sa različitim koncentracijama etanola (56%, 75%, 85%, 95%) i 0,2M klorovodičnom kiselinom kao katalizatorom.

Postupak ekstrakcije lignina mješavinom etanola i vruće vode iz *Miscanthusa x giganteusa* je relativno siguran i brz proces koji rezultira ligninom visoke čistoće, visoke topljivosti i dobrim prinosom [31]. U novijim istraživanjima proučavan je utjecaj nižih koncentracija etanola (10%, 25%, 50% i 75%) na količinu oporavljenog lignina, te je utvrđeno da se količina oporavljenog lignina smanjuje sa 75,8% na 71,4% i 25,1% kako se koncentracija etanola povećava s 10% na 25% te na 50%. Daljnje povećanje koncentracije etanola na 75% dovodi do prestanka oporavka, dok je utvrđena čistoća oporavljenog lignina 90%. Lignin dobiven pri koncentraciji etanola od 50% ima visoku čistoću (51,6%) u usporedbi s drugim koncentracijama etanola [32].



**Slika 8.** SEM slike istaloženog lignina pri koncentracijama etanola: (a) 50%, (b)25%, (c) 10% te supernatanta pri koncentracijama etanola pri (d) 50%, (e)25%, (f) 10% [32].

Na slici 8. prikazane su SEM slike makromolekula lignina te njihova razlika u veličini ovisno o različitim koncentracijama etanola koje su upotrijebljene (a; b; c), te osušenog supernatanta, odnosno tekućine iznad taloga izdvojene tijekom taloženja ili sedimentiranja (d; e; f). Na slici supernatanta pri upotrijebljenoj koncentraciji etanola od 50% (d) vidljiva je kristalična struktura, dok pri manjim koncentracijama ona nije vidljiva [32].

## 2.4. Izdvajanje vlakana

Budući da je osnovna svrha ovog rada izdvojiti celulozna vlakna iz biljke *Miscanthus*, najprije je bilo potrebno proučiti postojeću literaturu. Neki procesi su već opisani u literaturi, a neki su izvedeni na biljkama slične fiziologije, te smo u radu pokušali na različite načine izdvojiti vlakna te navesti opažanja pri pokušaju traženja optimalnog procesa [20, 24, 33].

U svom radu Daneiekewicz i sur. [16] za izdvajanje vlakana iz stabljika biljke *Miscanthus* koristili su Kraft metodu, a kao baza je korišten NaOH. Iako se pokazalo da je ovaj postupak progresivan za izdvajanje finih vlakana ove biljke, pokazao se kao dobar za izdvajanje pulpe.

Yang i sur. [33] su izolirali kompleksna nanovlakna postupkom koji je uključivao kemijsku oksidaciju amonijevim persulfatom i bijeljenje s NaOH nakon čega je ultrazvučnom obradom dobiven kompleks celuloznih vlakana. Iako su ovom metodom uspješno izdvojena

vlakna, zbog svoje veličine nisu pogodna za naše istraživanje te nemaju mogućnost daljnje prerade.

Kovačević i sur. [34] su u svome radu koristili 5%-tnu NaOH za izdvajanje vlakana iz stabljike brnistre (*Spartium junceum L.*). Stabljike su naknadno mikrovalno obrađene pri čemu su se izdvojila elementarna vlakna debljine 18,0  $\mu\text{m}$ .

Liew i sur. [24] su izolirali celulozna vlakna iz stabljike bambusa, koja je slična *Miscanthusu*. Korištena je otopina 35%-tnog  $\text{H}_2\text{O}_2$  i 99,8%-tne octene kiseline uz zagrijavanje. Nakon hlađenja otopine i neutralizacije dobivena su delignificirana celulozna vlakna. Budući da dobivena vlakna ne sadrže liginin, ovaj postupak se koristio kao početni postupak u našem istraživanju. Međutim, umjesto octene kiseline je korištena limunska budući da je po svojstvima slična octenoj kiselini, ali je ekološki povoljnija.

Capellito i sur. [20] su koristili metode TMP i CTMP za izoliranje vlakana iz stabljike *Miscanthusa*, nakon čega su uzorci izbijeljeni vodikovim peroksidom, pri čemu je u TMP metodi korišten samo 1%-tni  $\text{H}_2\text{O}_2$ , dok je u CTMP postupku korišten i 5%-tni NaOH. Rezultati su pokazali puno manji prinos pulpe u CTMP postupku budući da dolazi do kemijskog napada na liginin. Na temelju toga se može pretpostaviti da će NaOH biti pogodna za razaranje celulozne stijenke, ali ne i za izdvajanje vlakana.

Pregledom literature pronađeni su radovi koji navode izdvajanje vlakana iz pulpe, a duljina vlakana izdvojenih iz pulpe bila je u rasponu od 0.45 ( $\pm 0.28$ ) mm (dobiveno obradom u alkalnoj kupelji KOH), [35] do 1.068 mm (dobiveno obradom u kiseloj kupelji  $\text{HNO}_3$ ) [36]. Navedena dužina dobivena je iz stabljike koja je macerirana s 10 ml 67%-tne  $\text{HNO}_3$ , te zatim obrađena u vodenoj kupelji pri temperaturi 100°C u trajanju od 10 minuta nakon čega su navedeni uzorci oprani destiliranom vodom, te su ručno izdvojena pojedina vlakna iz snopića. [36], te na način da su macerirani uzorci obrađeni u 0.3 M otopini KOH u razdoblju od 48h. Bitno je naglasiti da duljina vlakana također uvelike ovisi o duljini stabljike, te samoj biljci i uvjetima uzgoja, te da se povećava od korijena prema vrhu stabljike kod svih nedrvenastih biljaka, pa tako i *Miscanthusa* [36].

## 2.5. Primjena mikrovalne tehnologije

Mikrovalovi su skupina elektromagnetskih valova koji titraju u frekvencijskom rasponu 300MHz – 300GHz, te vrlo niske energije mikrovalnih fotona od 0,125 kJ/mol. Budući da je tipična energija kemijskih veza 335–85kJ/mol, svakako su uzeti u obzir kao jedna od primarnih sredstava za ovaj rad [37].

Fizička svojstva vlakana se znatno mijenjaju nakon izloženosti mikrovalovima, dok kemijska ostaju ista pod uvjetom da vlakna nisu izložena mikrovalovima prevelike snage i predugačko vrijeme. Uz optimalno vrijeme i snagu kojima je vlakno izloženo mikrovalovima, dolazi do smanjenja apsorbirane vode dolaskom topline koju proizvode mikrovalovi te je iz tog razloga moguće olakšati proces izolacije vlakana [38].

Mikrovalovi su neionizirajući i ne mogu direktno djelovati na molekularnu strukturu materijala, odnosno u ovom slučaju uzorka stabljike, te iako su u navedenom radu korišteni kao sredstvo za sušenje, ovdje su uzeti u obzir kao sredstvo ubrzanja samog procesa, a ne kao sredstvo koje može narušiti celuloznu strukturu vlakana [37].

## **2.6. Primjena ultrazvuka**

Ultrazvuk su zvučni valovi visoke frekvencije koji se šire medijem u frekvencijskom području 20kHz do 1GHz. U tehnologiji energija ultrazvučnog vala ovisi o intenzitetu i frekvenciji. Na taj način je moguće ultrazvučnim valovima djelovati invazivno na materijal tako da se tu energiju koncentrira u nekoj točki ili prostoru dovođenjem izvora energije u područje djelovanja te pojačavanjem intenziteta [39]. Ultrazvučni valovi spadaju u skupinu mehaničkih valova frekvencije titranja. Mehanički i kemijski utjecaj ultrazvuka (UZV) na drvenaste biljke je takav da ubrzava ekstrakciju organskih tvari iz biljnih materijala zbog narušavanja strukture stanične stijenke [40]. Ultrazvučna metoda je ekonomična i ekološki povoljna metoda izdvajanja celuloznih vlakana u kombinaciji s alkalnom otopinom, bez da narušava molekularnu strukturu celuloze [41].

Ultrazvučna metoda se može primijeniti i kao jedan je od načina pripreme nanoceluloze. Kada molekule vode apsorbiraju UZV energiju, stvaraju se mikroskopski mjehurići plina koji zatim rastu te implodiraju na površini celuloze što rezultira defibrilacijom početnog materijala koji je mikroceluloza, pulpa, sirovi materijal ili nanoceluloza [42]. Također neki autori navode kako se podešavanjem parametara poput snage UZV-a i duljine trajanja procesa može utjecati na vlakna određene duljine, odnosno da su kraća vlakna sklonija defibrilaciji od dugačkih [43].

## **2.7. Karakterizacija uzoraka primjenom mikroskopa**

### **2.7.1. Dino-Lite mikroskop**

Dino-Lite AM7013MT je model svjetlosnog digitalnog USB mikroskopa s mogućnosti povećanja podesivog ~10–70x i 200x te rezolucijom od 5 megapiksela (2592×1944). Koristili smo model Dino-Lite AM7013MT opremljen senzorom visoke rezolucije koji omogućuje dobru kvalitetu pregleda čak i pri većim uvećanjima [44]. Ovaj model kao izvor svjetlosti koristi bijelo LED svjetlo s 8 LED žaruljica, te posjeduje IR filter >650 nm. Namijenjen je standardnoj radnoj udaljenosti te kao leću koristiti staklo s anti-reflektirajućom prevlakom, dok mu maksimalan broj sličica u sekundi iznosi 30 fps [44].

### **2.7.2. Skenirajući elektronski mikroskop**

Elektronski mikroskop, za razliku od standardnih svjetlosnih mikroskopa koji koriste vidljivu svjetlost i optičke leće koristi zraku elektrona koja se fokusira prolaskom kroz elektromagnetsko polje te joj se pritom smanjuje promjer, a valna duljina navedenog elektrona je zbog toga znatno kraća od one fotona vidljive svjetlosti. Posljedica toga je puno veća granica razlučivosti elektronskog mikroskopa od one svjetlosnog mikroskopa. Elektronski mikroskop ima oko 10 000 puta veću razlučivost od svjetlosnog i povećanje iskoristivo 500 000 puta, dok je kod svjetlosnog to povećanje do 1000 puta. Time je u promatranom uzorku elektronskim mikroskopom moguće vidjeti mnogo više detalja [45].

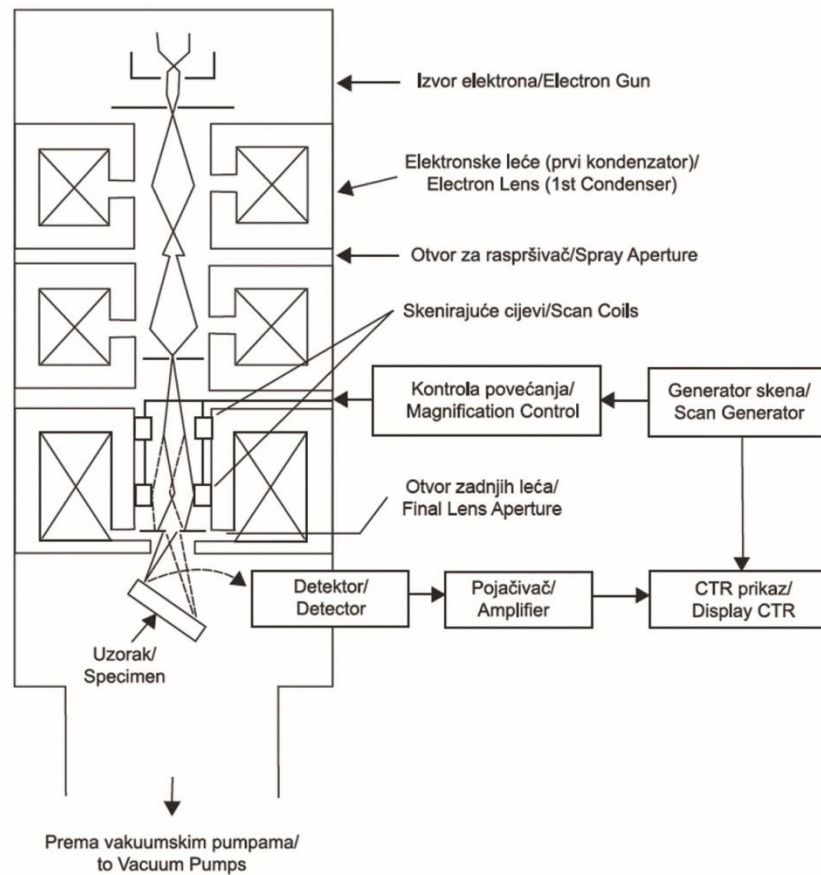
Elektronski mikroskopi mogu biti izrađeni u dva osnovna oblika: transmisijski elektronski mikroskop (TEM) i skenirajući elektronski mikroskop (SEM). U oba slučaja izvor energije je zraka elektrona, no razlikuju se po mehanizmu stvaranja slike. Dok TEM stvara i oblikuje sliku pomoću elektrona koji prolaze kroz uzorak, SEM stvara sliku detektirajući elektrone koji se odbijaju od površine uzorka te na taj način stvarajući sliku [44, 46] (Slika 9.).

Najvažnije komponente SEM-a su:

1. kolona (izvor elektrona, elektromagnetske zavojnice, aperture za oblikovanje elektronske zrake)
2. sustav za vakuum (cijevi, ventili, pumpa)
3. komora (povezana s nosačem uzorka i detektorima)
4. elektronički dijelovi sa sustavom za upravljanje prikazom nastale slike
5. dodatna oprema (detektori) [46]



U radu je korišten FE SEM (Field Emmission Scanning Electrone Microscope) nabavljen u okviru europskog projekta FP7-REG-POT- 2008-1: *Unlocking the Croatian Textile Research Potentials* (T-Pot) [46].



**Slika 9.** Sastavni dijelovi Skenirajućeg elektronskog mikroskopa (SEM-a).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Materijali

Polazna sirovina u svim postupcima bila je stabljika *Miscanthus x giganteus* trave dobivena od suradnika s Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Stabljike su uzgojena na pokušalištu u Šašincvu, ubrane, osušene, te odvojene od lišća. Narezane su na komade 4–15cm duljine i 0,5 cm širine čime su pripremljene za daljnju obradu.



a)



b)

**Slika 10.** Stabljike prije obrade gdje je: a) Stabljike *Miscanthusa*; b) Stabljike *Miscanthusa* očišćene od lišća

#### 3.2. Sredstva i kemikalije

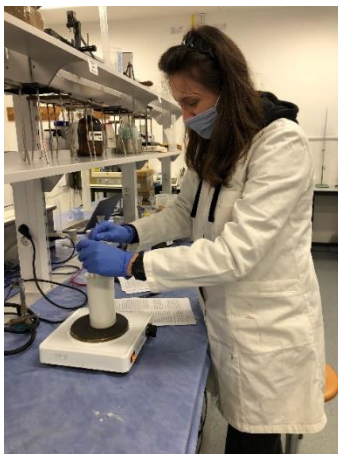
S obzirom na literaturni pregled odlučili smo se za izdvajanje vlakana metodom sličnoj onoj za dobivanje vlakana bambusa opisanoj u radu Liew i sur. budući da je pokazala najmanju invazivnost [24]. U tom radu vlakna celuloze su izolirana iz osušenih stabljika bambusa, koji ima morfoloških sličnosti s *Miscanthusom*. Delignifikacija je provedena otopinom 35%-tnog  $H_2O_2$  i 99,8%-tne octene kiseline u prisutnosti  $TiO_2$  kao katalizatora. Međutim, u našem radu je umjesto octene kiseline korištena limunska kiselina, kao ekološki prihvatljiva alternativa.

Upotrijebljene kemikalije su  $NaOH$ ,  $H_2O_2$  i zasićena otopina limunske kiseline (LK), a kao izvore energije iskušali smo mikrovalove (MW) i ultrazvučne valove (UZV). U Tablici 3. navedene su metode koje su korištene za izdvajanje vlakana. Korišteno je 6 različitih kupelji, koje su se razlikovale u sastavu, izvoru energije, vremenu obrade i ukupnom volumenu.

### 3.3. Postupci obrade

Eksperimentalni dio je započeo preliminarnim istraživanjem prema recepturama za izdvajanje vlakana iz stabljike bambusa [24] pronađenih u literaturi.

Danielewicz [16] i Yang [33] su u procesima delignifikacije koristili NaOH kao bazu, Liew i sur. [24] slabu kiselinu uz NaOH, dok je autor Capelleto [20] koristio vodikov peroksid kao sredstvo poboljšanja delignifikacije. Iako se pokazala kao previše agresivna za dobivanje vlakana kod autora Danielewicza [16] i Yanga [33], kod autorice Kovačević je NaOH, kao sredstvo za izdvajanje vlakana iz stabljike brnistre, pokazala odlična svojstva te smo iz tog razloga odabrali NaOH kao jaku bazu, limunsku kiselinu kao slabu kiselinu, te vodikov peroksid kao pomoćno sredstvo u kupelji. Obrade su provođene primjenom različitih koncentracija, te koristeći UZV ili mikrovalove kao izvor energije za ubrzanje samog procesa [37].



a)



b)







c)

**Slika 11.** a) Priprema kupelji za obradu; b) Priprema stabljike *Miscanthusa* za daljnju obradu i c) Stabljika *Miscanthusa*

#### 3.3.1. Preliminarna istraživanja

Budući da pregledom literature nisu pronađeni podaci o izdvajanju vlakana iz biljke *Miscanthusa* pokušali smo pronaći optimalni proces iz opisanih postupaka primijenjenih na biljkama slične fiziologije, pritom se vodeći ekološkim standardima. Tehnika za koju smo se odlučili za završna ispitivanja uključuje ekološki povoljne kemikalije, te izvore energije u obliku mikrovalova i ultrazvučnih valova za ubrzanje samog procesa.

**Tablica 2.** Preliminarna istraživanja prilikom izvlačenja vlakana iz stabljike *Miscanthusa*

oznaka	sredstvo	MW/UZV	vrijeme [min]	slika
1P (preliminarno)	5% NaOH	MW snaga 900 W	20	
2P	5% NaOH	Obrada na sobnoj temperaturi	180	
3P	30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10%) H <sub>2</sub> O (40%) LK (50%)	UZV f1=80 Hz f2=37 Hz	60 90	
4P	30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10%) H <sub>2</sub> O (40%) LK (50%)	MW snaga 900 W	25	
Oznake: LK-Limunska kiselina, MW-mikrovalna obrada, UZV-ultrazvučna obrada				

Za kupelj 1 je odabrana 5% NaOH s uvjetima pri kojima smo postigli odlične rezultate u procesu izolacije vlakana biljke brnistre [34]. Na biljci *Miscanthus* u uvjetima primjene na sobnoj temperaturi (oznaka 2P), a niti primjenom mikrovalne energije (1P) nismo uspjeli postići dobivanje vlaknaste strukture. Za kupelji 3 i 4 je odabrana metoda oksidativnog postupka

primjenom vodikovog peroksida uz korištenje ultrazvučne (3P) ili mikrovalne (4P) obrade pri čemu je primjena mikrovalne energije dala puno bolje rezultate, što je vidljivo sa slike 4P prikazane u Tablici 2.

### 3.3.2. Završno istraživanje

Nakon preliminarnih istraživanja uvidjelo se da je metoda 4P dala najbolje rezultate iako u formi kratkih vlakanaca. U daljnjem radu će se provesti optimizacija koncentracije peroksida s ciljem da se visoka koncentracija (30%) pokuša smanjiti na što nižu (8%), uz zadržavanje zadovoljavajućih rezultata.

**Tablica 3.** Istraživanja optimizacije parametara temperature i vremena obrade prilikom dobivanja vlakana iz stabljike *Miscanthusa*

Oznaka	Sredstvo	Mikrovalna (MW)	vrijeme [min]
1	8% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10%) H <sub>2</sub> O (40%) LK (50%)	Snaga 900 W	25
2	15% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10%) H <sub>2</sub> O (40%) LK (50%)	Snaga 900 W	25
3	30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10%) H <sub>2</sub> O (40%) LK (50%)	Snaga 900 W	25
4	1. faza 8% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10%) H <sub>2</sub> O (40%) LK (50%)	Snaga 900 W	5
	2. faza 5% NaOH	Snaga 900 W	5
5	1. faza 15% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (10%) H <sub>2</sub> O (40%) LK (50%)	Snaga 900 W	10
	2. faza 5% NaOH	Snaga 900 W	10

Od svih navedenih kao najbolja tehnika u vidu samih izdvojenih vlakana pokazala se ona pod 3 gdje smo uspjeli izdvojiti kratka vlakna, uz ekološki pristup i bez većih oštećenja navedenih vlakana. Ostale tehnike pokazale su se kao neefektivne (1), predugotrajne (2) ili previše invazivne (4; 5). Obrade 4 i 5 su rađene u dvije faze gdje se u prvoj uzorak obradio u navedenim kupeljima s različitim koncentracijama vodikova peroksida, te je nakon ispiranja i neutralizacije obrađen još toliko vremena u otopini 5%-tne NaOH i pod utjecajem mikrovalova.

### 3.4. Metode ispitivanja

Nakon izdvajanja vlakna iz stabljike *Mischantusa*, ispitivane su njihove površinske morfološke karakteristike primjenom mikroskopa Dino-Lite AM7013MT te skenirajućeg elektronskog mikroskopa (SEM-a) Tescan Mira LMU FE-SEM.

#### 3.4.1. Mikroskopska analiza uzoraka mikroskopom Dino-Lite AM7013MT

Poprečni presjek biljke *Miscanthus* snimljen je Dino-Lite mikroskopom (Slika 12.), u svrhu utvrđivanja razmještaja vlaknastih struktura. Mikroskopske slike su snimljene s uvećanjem 50x.



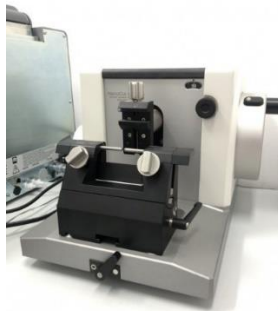
**Slika 12:** Dino-Lite mikroskop AM7013MT [44]

#### 3.4.2. Skenirajući elektronski mikroskop (FE-SEM)

Kao glavno sredstvo analize koristili smo skenirajući elektronski mikroskop (SEM) proizvođača Tescan modela Mira LMU FE-SEM (Slika 13).



a)



b)



c)

**Slika 13:** a) Uređaj za pripremu uzoraka za SEM nparivanjem s vodljivim metalom; b) Mikrotom i c) SEM mikroskop

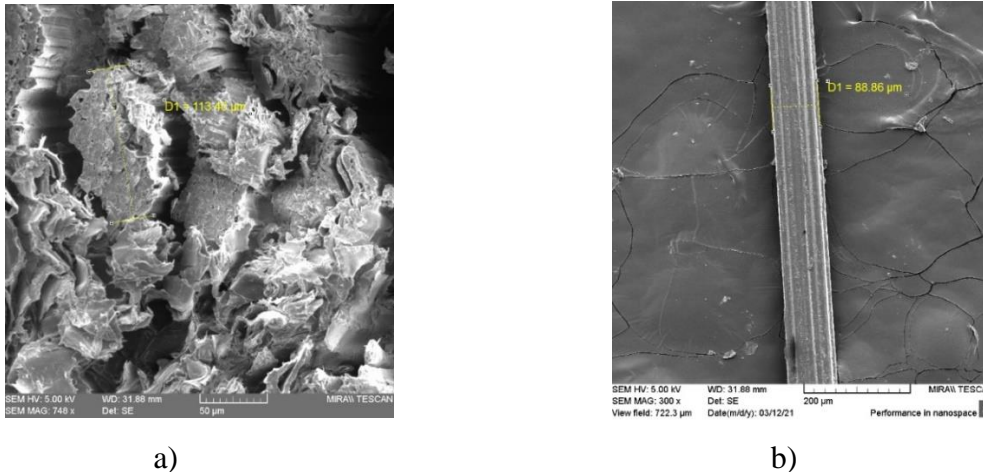
Poprečni presjek stabljike ispitan pomoću SEM-a koristeći istu tehniku pripreme poprečnog uzorka rezanjem tankog poprečnog presjeka kao kod svjetlosnog mikroskopa. Uzorak za analizu na SEM-u pripremljen je na mikrotomu što je omogućilo pripremu presjeka primjerene debljine za daljnju analizu. Držak uzorka na mikrotomu se sastoji od dvije polovice nosača dovoljno čvrsto spojenih da drže uzorak stabljike a da ga pritom ne oštete, spojenih jezičkom i prorezom, dok se višak uzorka iznad površine držača odreže žiletom.

Uzorci su napareni u specijalnom nparivaču dizajniranom za pripremu uzoraka za standardni SEM. Za pripremu uzoraka se koristio nparivač Quorum, a uzorci su napareni kromom (Cr) u trajanju od 2 minute kako bi im se povećala električna vodljivost.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Izdvajanje vlakana

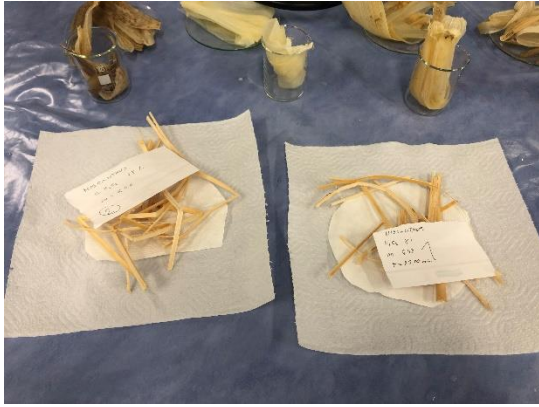
Mehaničkim izdvajanjem uz pomoć skalpela i pincete iz sirove (neobrađene) biljke dobili smo vlakno debljine  $\sim 90 \mu\text{m}$  (Slika 14.). Nastavili smo s kemijskim obradama opisanima u prethodnom poglavlju kako bi dobili finije vlakno.



**Slika 14.** a) poprečni presjek područja u kojem se nalaze vlakna i b) mehaničkim putem izvučeno vlakno iz neobrađene stabljike

Uzorci nakon obrade u Kupelji 1 i 2 primjenom 8%, odnosno 15% vodikovog peroksida nisu pokazali zadovoljavajuće rezultate. Navedenim obradama se nisu mogla u potpunosti izdvojiti vlakna iz stabljike *Miscanthusa*. Na slici 15. prikazani su uzorci nakon Kupelji 1 i 2 te je vidljivo kako nije došlo do omekšavanja stabljike i otvaranja strukture što je utjecalo na otežano izoliranje vlakana. Nekolicina izdvojenih vlakana nakon obrade u Kupelji 1 i 2 se kasnije u radu analizirala pomoću SEM mikroskopa kako bi se uvidjela razlika u njihovoj morfologiji u usporedbi s vlaknima koja su još dodatno obrađena natrijevom lužinom. Najbolje rezultate je pokazala obrada u kupelji 3, primjenom 30% vodikovog peroksida. Rezultati nakon obrade u kupelji 3 pokazuju relativno dobru iskoristivost dobivene pulpe, gdje je od početne mase uzorka (6,10 g) dobiveno 0,5 g, odnosno 8,2 % mase vlakanaca od ukupne nakon provedenog sušenja do apsolutno suhog uzorka (Slika 16.).





a)

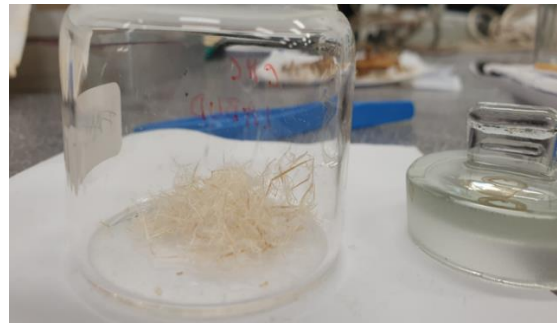


b)

**Slika 15.** Uzorci *Miscanthus x giganteus* obrađeni u Kupelji 1 i 2 gdje su a) uzorci nakon sušenja i filtracije i b) uzorci prilikom izolacije vlakana



a)



b)

**Slika 16.** Uzorak *Miscanthus x giganteus* obrađen u Kupelji 3 gdje je a) uzorak nakon sušenja i filtracije i b) izolirana vlakna iz uzorka

## 4.2. Morfološka karakterizacije površine primjenom mikroskopa

### 4.2.1. Analiza primjenom svjetlosnog mikroskopa DinoLite

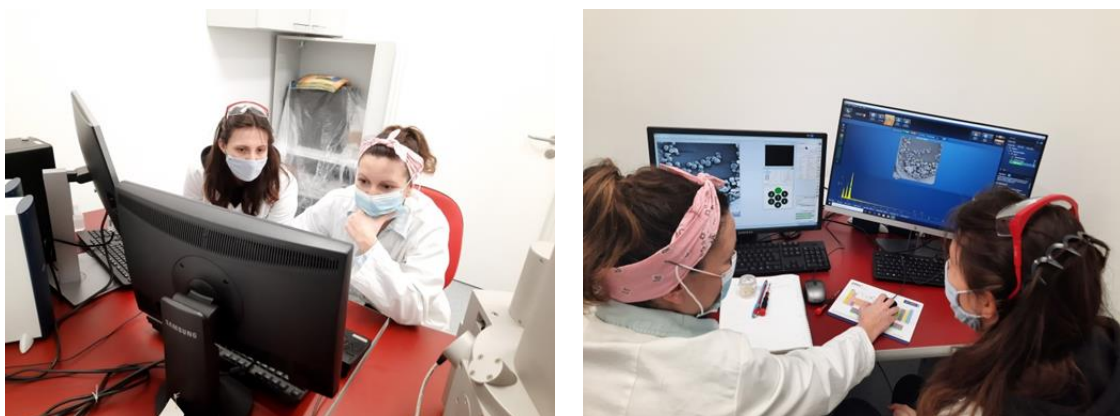
Kako bismo utvrdili razmještaj vlaknastih struktura na poprečnom presjeku stabljike *Miscanthusa* koristili smo Dino-Lite svjetlosni mikroskop s povećanjem 40-50x. Iz analize poprečnog presjeka vidljiv je snop vlakana (Slika 17.) koji je zatim bilo potrebno izolirati.



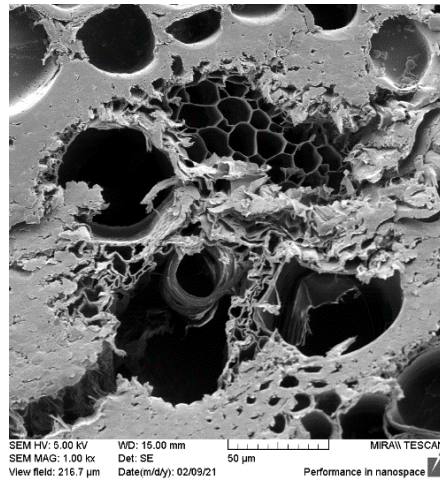
**Slika 17.** Morfološka analiza poprečnog presjeka stabljike *Miscanthus* gdje je vidljiv snop vlakana primjenom Dino-Lite svjetlosnog mikroskopa (40x)

#### **4.2.2. Analiza primjenom SEM-a**

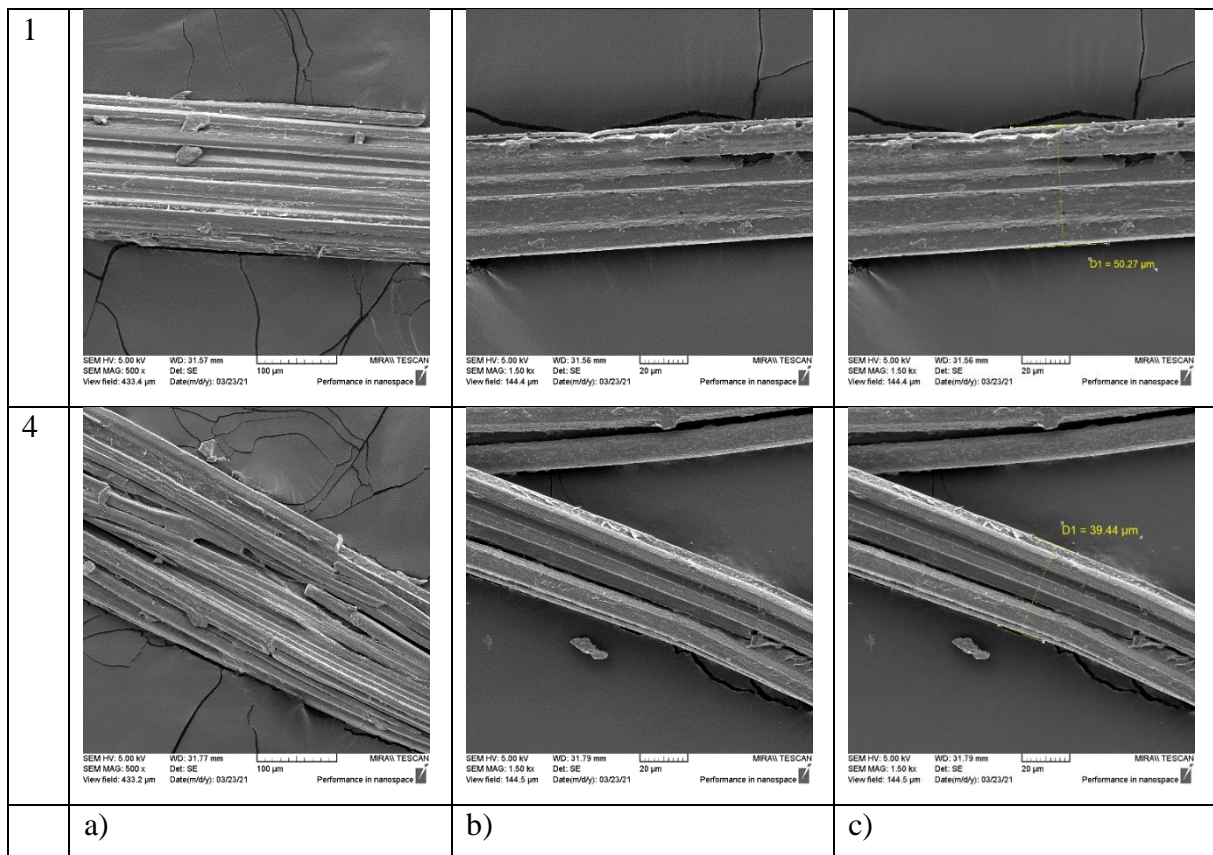
Najprije je primjenom SEM mikroskopa istražen poprečni presjek stabljike kako bismo utvrdili na kojim pozicijama se nalaze vlakna (Slika 17.). Tijekom preliminarnih istraživanja sa svrhom dobivanja vlaknastih tvorevina iz biljke *Miscanthus* jedino je obrada oznake 3P pokazala zadovoljavajući rezultat. Obrada 3P je zatim detaljnije proučena te se mijenjala koncentracija sredstva kao i dodavanje naknadnog sredstva kako bi se postigli optimalni rezultati. Konačno istraživanje rezultiralo je obradama od 1 do 4 koje su analizirane dalje u radu (Slika 20; 21; 22.)



**Slika 18.** Morfološka karakterizacija uzoraka *Miscanthusa* na Mira LMU FE-SEM, Tescan mikroskopu

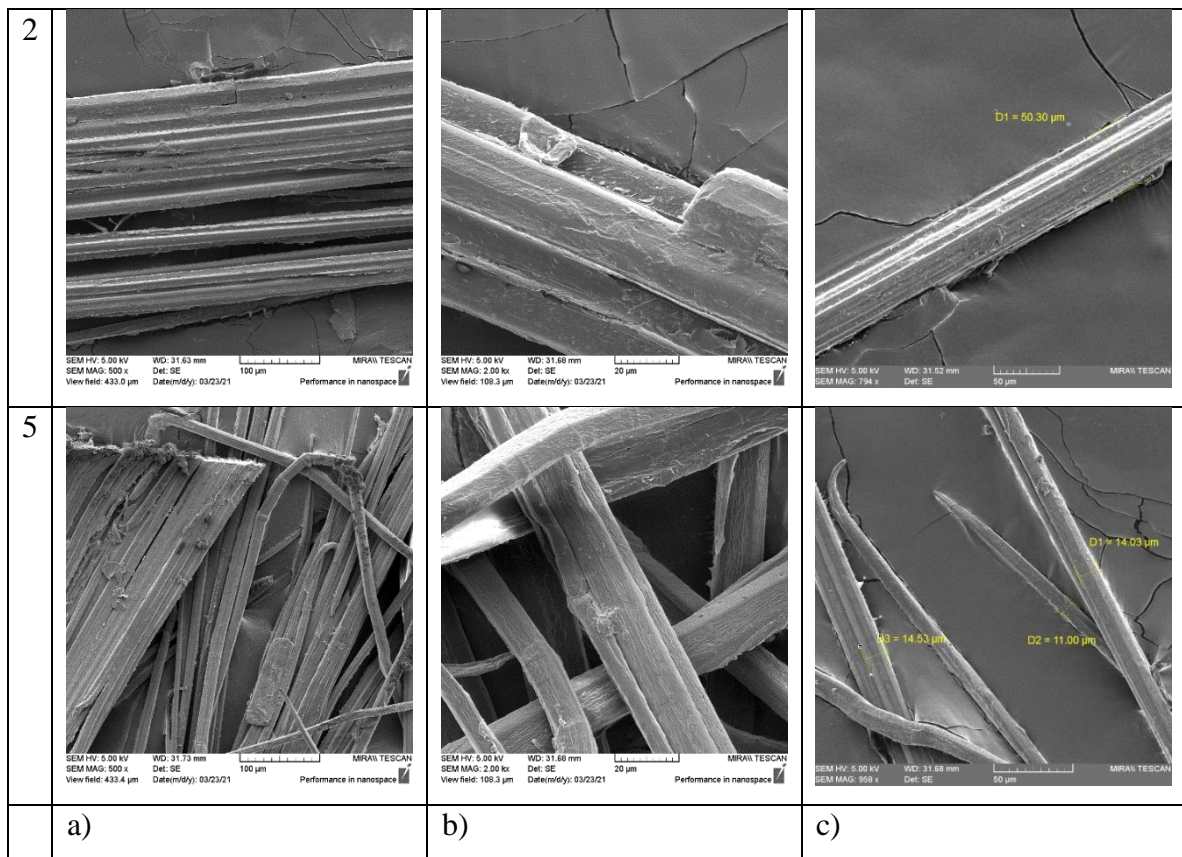


**Slika 19.** Morfološka analiza poprečnog presjeka stabljike *Miscanthus* gdje je vidljiv uvećan detalj područja gdje se nalaze vlakna primjenom SEM mikroskopa pri uvećanju 1500 x.



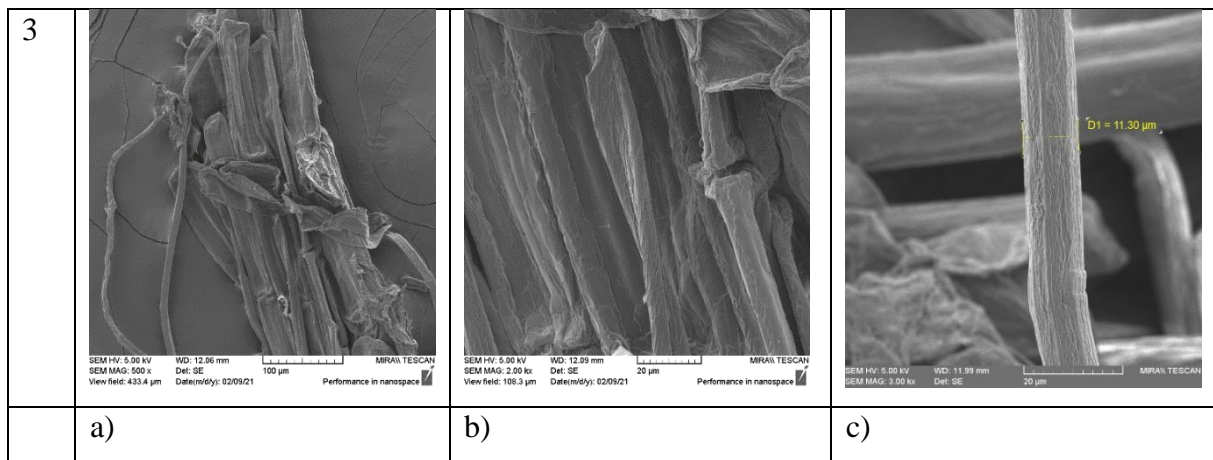
**Slika 20.** Izgled vlakna nakon obrade 1 s 8% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> te obrade 4 naknadno s 5% NaOH gdje je a) prikaz vlakna pri povećanju 500 x; b) uvećani detalj vlakana pri povećanju 1500 x i c) uvećani detalj vlakana pri povećanju 1500 x na kojem se vidi približna debljina vlakna iz celulozne pulpe.

Slika 20. pokazuje reprezentativni uzorak te razliku između obrade 1 i 4. Korištenjem 8% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dobivena su vlakanca približne debljine 50 μm koja su se naknadnom obradom s 5% NaOH dodatno razvlaknila te im se povećala finoća na približno 40 μm što je vidljivo na Slici 20 c).



**Slika 21.** Izgled vlakna nakon obrade 2 s 15% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> te obrade 5 naknadno s 5% NaOH gdje je a) prikaz vlakna pri povećanju 500 x; b) uvećani detalj vlakana pri povećanju 1500 x i c) uvećani detalj vlakana pri povećanju 1500 x na kojem se vidi približna debljina vlakna iz celulozne pulpe.

Slika 21. pokazuje reprezentativni uzorak te razliku između obrade 2 i 5. Korištenjem 15% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dobivena su vlakanca približne debljine 50 μm koja su se naknadnom obradom s 5% NaOH dodatno razvlaknila te im se povećala finoća na približno 15 μm što je vidljivo na Slici 21 c). Važno je primijetiti kako je dodavanjem NaOH vidljivo izdvajanje elementarnih vlakana iz tehničkog vlakna.



**Slika 22.** Izgled vlakna nakon obrade 3 (3P) s 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gdje je a) prikaz vlakna pri povećanju 500 x; b) uvećani detalj vlakana pri povećanju 1500 x i c) uvećani detalj vlakana pri povećanju 1500 x na kojem se vidi približna debljina vlakna iz celulozne pulpe.

Slika 22. pokazuje uzorak dobiven obradom 3. Na slici se osim vlakana vide i biološki ostaci zaostali nakon obrade 3 jer je uzorak samo mehanički očišćen, ali nije dodatno prošao kroz proces kemijskog pranja kako bi se uklonile sve zaostale nečistoće. Korištenjem 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dobivena su vlakanca približne debljine 11 µm što je vidljivo na Slici 22 c). Uz ovu obradu nije potrebno dodatno razvlaknjivanje uzorka korištenjem 5% NaOH.

## 5. ZAKLJUČAK

U budućnosti se očekuje sve veći uzgoj energetskih kultura, kao što je to *Miscanthus x giganteum*, budući da je on izuzetno prilagodljiv za uzgoj u raznim podnebljima. Prednost mu je što se može uzgajati na tlu niže kvalitete, sterilan je hibrid koji nije invazivna vrsta, ima vrlo visoke prinose po jedinici površine, otporan je na bolesti čime se gubi potreba za tretiranje pesticidima i ima vrlo visoku energetska vrijednost (17,05–9,21MJ/kg). U Republici Hrvatskoj se intenzivno istražuje od 2011. godine kada je Agronomski fakultet u Zagrebu započeo s istraživanjima na kulturi *Miscanthus x giganteus* [4].

*Miscanthus* se koristi primarno za energetska svrhu, no može se koristiti i za ojačala u kompozitima, za proizvodnju papira i građevinskog materijala. [4] Budući da je *Miscanthus* još relativno nova biljka na prostoru Europe, tek je u zadnjih desetak godina postala interesantna europskim znanstvenicima kao dio strategije održivosti [47].

U dokumentu *Strategija niskougljičnog razvoja republike hrvatske do 2030. s pogledom na 2050. godinu* koju je donio Hrvatski sabor na prijedlog Vlade Republike Hrvatske u lipnju 2021. godine, *Miscanthus* je naveden u popisu mjera na osnovi kojih su se izveli scenariji potpore kružnog gospodarstva u Republici Hrvatskoj [48].

Uzevši u obzir sve prednosti koje nudi kao ekološka i ekonomska sirovina, *Miscanthus* je svakako zanimljiv i kao izvor vlakana, iako je u tome aspektu još nedovoljno istražen. Ovime radom je potvrđeno da tehnička i elementarna vlakna postoje u *Miscanthusu*. Primjenom predobrade sa vodikovim peroksidom i limunskom kiselinom i obrade pomoću mikrovalne energije moguće je izdvojiti kratka vlakanca zadovoljavajuće finoće. Snižavanjem koncentracije vodikovog peroksida u kupelji te naknadnom obradom s natrijevom lužinom niske koncentracije moguće je povećati finoću vlakana. U naknadnom radu će se primjenom Vibroskop i Vibrodyn uređaja za karakterizaciju čvrstoće i finoće pojedinačnih vlakana ispitati efekti primijenjenih predobrada kako bi se još bolje istražio potencijal *Miscanthus* vlakana za buduću primjenu u tehnologiji i industriji.

## 6. REFERENCE

- [1] Anderson E., Arundale R., Maughan M., Oladeinde A., Wycislo A., Voigt T.: Growth and agronomy of *Miscanthus x giganteus* for biomass production, *Biofuels* **2** (2011) 71–87
- [2] Greef J. M, Deuter M., Synthatonomy of *Miscanthus x Giganteus*, *Angew. Bot.* **67** (1993) 87–90.
- [3] Bilandžija N, Leto J, Fabijanić G, Sito S, Smiljanović I, Tehnike žetve poljoprivrednih energetske kulture, *Glasnik Zaštite Bilja* **40** (2017) 112-119
- [4] Bilandžija N.: Perspektiva i potencijal korištenja kulture *Miscanthus x giganteus* u Republici Hrvatskoj, *Inženjerstvo okoliša* **1** (2014) 81–86.
- [5] Vurnek V.: Biokompoziti ojačani *Miscanthus*om, diplomski rad, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Sveučilište u Zagrebu, 2015
- [6] O'Neill N. R., Farr D. F.: *Miscanthus* Blight, a new foliar disease of ornamental grasses and sugarcane incited by *Leptosphaeria* sp. and its anamorphic state *Stagonospora* sp., *Plant Disease*, **80** (1996) 980–987.
- [7] Novaković M.: Uzgoj *Miscanthus*-a za proizvodnju celuloze i obnovljive energije iz poljoprivrede, završni rad, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2011.
- [8] Eppel-Holtz A., Jodl S., Kuhn W.: *Miscanthus*: a new cultivars and results of research experiments for improving the establishment rate, *Proceedings of the International Conference on Sustainable Agriculture for Food, Energy and Industry* (ur. El-Bassam N., Behl R. K., Prochnow B.) Njemačka, 1997, 178–186.
- [9] Christian D. G., Yates N. E., Riche A.B.: Estimation of ramet production from *Miscanthus x giganteus* rhizome of different ages, *Industrial Crop and Products* **30** (2009) 176–178
- [10] Kaweczky B., Podgórski J., Głowacka A.: Natural plant stems modelling in a three-point bending test, *MATEC Web Conf.* **252** (2019) 07001
- [11] EC (2006). An EU Strategy for Biofuels. COM (2006)34 final
- [12] Geršić A.: Energetske karakteristike trave *Miscanthus x giganteus* ovisno o gnojidbenom tretmanu i roku žetve, diplomski rad, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2016
- [13] Wang K. T., Jing C., Wood C., Nagardeolekar A., Kohan N., Dongre P., Amidon T. E., Bujanović B. M.: Toward Complete Utilization of *Miscanthus* in a Hot-Water Extraction-Based Biorefinery, *Energies* **11** (2011) 39
- [14] Hodgson, E. M., Fahmi, R., Yates, N., Barraclough, T., Shield, I., Allison, G., Bridgwater, A. V., Donnison, I. S.: *Miscanthus* as a feedstock for fast-pyrolysis: Does agronomic treatment affect quality?, *Bioresource Technology* **101** (2010) 6185–6191

- [15] Lewandowski I., Kicherer A.: Combustion quality of biomass: practical relevance and experiments to modify the biomass quality of *Micanthus x giganteus*, *E. J. Agronom.* **6** (1997) 163–177
- [16] Danielewicz D., Dybka-Ściepień K., Surma-Ślusarska B.: Processing of *Miscanthus x giganteus* stalks into varioussoda and kraft pulps. Part I: Chemical composition, types of cells and pulping effects, *Cellulose* **25** (2018) 6731–6744
- [17] Biermann C. J.: *Essentials of Pulping and Papermaking*. San Diego, Academic Press, Inc. (1993)
- [18] <https://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=11174>, pristupljeno 10. rujna 2021.
- [19] Liu Z., Wang H., Hui L.: *Pulping and Papermaking of Non-Wood Fibers*, *Pulp and Paper Processing* (ur. Kazi S. N.), IntechOpen (2018)
- [20] Cappelletto P., Mongardini F., Barberi B., Sannibale M, Brizzi M, Pignatelli V.: Papermaking pulps from the fibrous fraction of *Miscanthus x Giganteus*, *Industrial Crops and Products* **11** (2000) 205–210
- [21] Wen, Y.; Yuan, Z.; Qu, J.; Wang, C.; Wang, A.: Evaluation of Ultraviolet Light and Hydrogen Peroxide Enhanced Ozone Oxidation Treatment for the Production of Cellulose Nanofibrils, *ACS Sustain. Chem. Eng.* **8** (2020), 2688–2697.
- [22] Anbar, M.; Taube, H.: Interaction of nitrous acid with hydrogen peroxide and with water, *J. Am. Chem. Soc.* **76** (1954), 6243–6247.
- [23] Wang J., Li X., Song J., Wu K., Xue Y., Wu Y., Wang S.: Direct Preparation of Cellulose Nanofibers from Bamboo by Nitric Acid and Hydrogen Peroxide Enables Fibrillation via a Cooperative Mechanism, *Nanomaterials* **10** (2020) 943
- [24] Liew F. K., Hamdan S., Rahman R., Rusop M., Chang J., Lai H., Hossen F., Rahman M.: Synthesis and Characterization of Cellulose from Green Bamboo by Chemical Treatment with Mechanical Process, *J. Chem.* **2015** (2015) 6p
- [25] [<https://chempolis.com/technologies-solutions/>] pristupljeno 09. rujna 2021.
- [26] Rousu P., Rousu P, Anttila .: Sustainable pulp production from agricultural waste, *Resources, Conservation and Recycling* **35** (2002) 85–103
- [27] Jahan MS, Gunter BG, Rahman AFMA. Substituting wood with non-wood fibers in papermaking: A win-win solution for bangladesh. *Bangladesh Development Research Working Paper.* **8** (2009) 1-15
- [28] lignin, hrvatska enciklopedija <https://www.enciklopedija.hr/Natuknica.aspx?ID=36462>, od 10.09.2021.



- [29] Mahmood. Z, Yameen M., Jahangeer M., Riaz M. , Ghaffar A. Javid I.: Lignin as Natural Antioxidant Capacity, Lignin-Trends and Applications (ur. Poletto M.), IntechOpen 2018.
- [30] Ye, P., Cheng L., Ma, H., Bujanovic, B., Goundalkar, M. J., Amidon, T. E: Biorefinery with Water, The Role of Green Chemistry in Biomass Processing and Conversion (ur. Xie, H., Gathergood, N.) JohnWiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ, USA, (2012) 135–180
- [31] Bauer S., Sorek H., Mitchell V. D., Ibáñez A. B., Wemmer D. E.: Characterization of Miscanthus giganteus Lignin Isolated by Ethanol Organosolv Process under Reflux Condition, Journal of Agricultural and Food Chemistry **60** (2012) 8203–8212
- [32] Hamzah M. H., Bowra S., Cox P.: Effects of Ethanol Concentration on Organosolv Lignin Precipitation and Aggregation from Miscanthus x giganteus, Processes **8** (2020) 845
- [33] Yang H., Zhanga Y., Katoa R., Rowana S.: Preparation of cellulose nanofibers from Miscanthus x. Giganteus by ammonium persulfate oxidation, Carbohydrate Polymers **212** (2019) 30–39
- [34] Kovačević Z., Bischof S., Fan M.: The influence of Spartium junceum L. fibres modified with montmorillonite nanoclay on the thermal properties of PLA biocomposites, Composites B **78** (2015) 122–130
- [35] Tsalagkas, D., Börcsök, Z., Pásztor, Z., Gogate, P., & Csóka, L.: Assessment of the papermaking potential of processed Miscanthus × giganteus stalks using alkaline pre-treatment and hydrodynamic cavitation for delignification, Ultrasonics Sonochemistry **72** (2021)105462
- [36] Ververis C., Georghiou K., Christodoulakis N., Santas P., Santas R.: Fiber dimensions, lignin and cellulose content of various plantmaterials and their suitability for paper production, Industrial Crops and Products **19** (2004) 245–254
- [37] Katović D., Bischof Vukušić S., Flinčec Grgac S.: Primjena mikrovalova u procesima oplemenjivanja, Tekstil **54** (2005) 319–325
- [38] Patra A., Bisoyi D. K., Manda P. K., Singh A. K.: Effect of microwave radiation on the macromolecular, morphological and crystallographic structures of sisal fiber, Appl. Phys. A **112** (2013) 1063–1071.
- [39] Brkić I.: Karakteristike ultrazvučnih sustava za primjene u medicini, završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet elektrotehnike i računarstva, Zagreb, 2018
- [40] Aliyu M., Hopher M.J.: Effects of ultrasound energy on degradation of cellulose material, Ultrasonics Sonochemistry **7** (2000) 265–268
- [41] Sun R., Sun X.F. and Xu X.P., Effect of ultrasound on the physicochemical properties of organosolv lignins from wheat straw, J. Appl. Polym. Sci. **84** (2002) 2512 –2522.

- [42] Mazela B., Perdoch W., Peplinska B., Zielinski M.: Influence of Chemical Pre-Treatments and Ultrasonication on the Dimensions and Appearance of Cellulose Fibers, *Materials* **13** (2020) 5274
- [43] Wang S., Cheng Q.: A novel process to isolate fibrils from cellulose fibers by high-intensity ultrasonication, Part 1: Process optimization, *J. Appl. Polym. Sci.* **113** (2009) 1270–1275.
- [44] <http://www.dino-lite.hr/wp-content/uploads/2015/06/AM7013MT.pdf> od 10.09.2021.
- [45] Turalija M., Bichof Vukušić S., Katović D.: Primjena skenirajućeg elektronskog mikroskopa za tekstil, *Tekstil* **58** (2009) 640–649
- [46] Malick L.E., R.B. Wilson, D. Stetson: Modified Thiocarbonylhydrazide Procedure for Scanning Electron Microscopy: Routine use for Normal, Pathological, or Experimental Tissues, *Biotechnic and Histochemistry* **50** (1975) 265–269
- [47] Fradja N. Ben, Rozakis S., Borzęcka M., Matykaa M.: Miscanthus in the European bio-economy: A network analysis **148** (2020) 1– 30
- [48] Strategija niskougljičnog razvoja Republike Hrvatske do 2030. s pogledom na 2050. godinu, NN 63/2021-1205