

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Brno, 2022

Bc. Natálie Horáková



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE MIKROKRYSTALICKÉ CELULÓZY Z ODPADNÍCH SUROVIN POTRAVINÁŘSKÉHO PRŮMYSLU

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF MICROCRYSTALLINE CELLULOSE FROM FOOD WASTE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Natálie Horáková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1700/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Natálie Horáková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Příprava a charakterizace mikrokrytalické celulózy z odpadních surovin potravinářského průmyslu

Zadání diplomové práce:

1. Literární rešerše na zadané téma
2. Charakterizace vstupního materiálu
3. Frakcionace vstupního materiálu a charakterizace frakcí
4. Hydrolytická příprava mikrokrytalické celulózy a charakterizace její čistoty a morfologie
5. Závěr práce

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu.
Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Natálie Horáková
studentka

doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Cílem diplomové práce bylo izolovat mikrokrytalickou celulózu z hroznových výlisků. Analýza hroznových výlisků prokázala tyto hlavní složky: lignin (32,9 %), celulóza (34,2 %), hemicelulóza (31,5 %) a lipidy (7,0 %). Pro izolaci a čištění mikrokrytalické celulózy byly testovány různé metody. Jako nejvhodnější metoda byla zvolena kyselá hydrolyza s 50 % a 64 % kyselinou sírovou s následnou reakcí s ethylendiaminem. Morfologie izolované celulózy byla studována transmisí elektronovou mikroskopií. Průměr hydrolyzovaných celulóзовých vláken byl stanoven v rozmezí 15–130 nm. Izolovaná celulóza byla použita jako zpevňující plnivo pro agar. Agar/celulóзовé filmy byly připraveny litím do roztoku. Agar/celulóзовé filmy vykazovaly vyšší hodnoty Youngových modulů a pevnosti v tahu, ale nižší prodloužení při přetržení ve srovnání s čistými agarovými filmy. Výsledky prokázaly, že hroznové výlisky lze použít jako zdroj pro izolaci mikrokrytalické celulózy se zpevňující schopností pro agar.

ABSTRACT

The aim of the diploma thesis was to isolate microcrystalline cellulose from grape pomace. The analysis of grape pomace showed the following main components: lignin (32.9%), cellulose (34.2%), hemicellulose (31.5%) and lipids (7.0%). Various methods have been tested for the isolation and purification of microcrystalline cellulose. As the most suitable method was selected acid hydrolysis with 50 % and 64 % sulfuric acid followed by treatment with ethylenediamine. The morphology of the isolated cellulose was studied by transmission electron microscopy. The diameter of the hydrolyzed cellulose fibers was determined in the range of 15–130 nm. The isolated cellulose was used as reinforcing filler for agar. The agar/cellulose films were prepared by solution casting. The agar/cellulose films exhibited higher values of Young's moduli and tensile strength but lower elongation at break compared to neat agar films. The results proved that grape pomace can be used as source for the isolation of microcrystalline cellulose with reinforcing ability for agar.

KLÍČOVÁ SLOVA

hroznové výlisky, MCC, kyselá hydrolyza, valorizace, agarový film, obalový materiál

KEYWORDS

grape pomace, MCC, acid hydrolysis, valorization, agar film, packaging material

HORÁKOVÁ, Natálie. *Příprava a charakterizace mikrokrystallické celulózy z odpadních surovin potravinářského průmyslu* [online]. Brno, 2022 [cit. 2022-05-11]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/138222>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Adriána Kovalčík.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych především poděkovat vedoucí mojí diplomové práce paní doc. Ing. Adriáně Kovalčík, Ph.D. Dále mé díky patří Ing. Michaela Jakešové za pomoc a cenné rady při zpracovávání celé práce. V neposlední řadě chci poděkovat panu Ing. Martinu Szotkowskému, Ph.D., Ing. Pavlu Vostřejšovi, paní Ing. Radce Bálkové, Ph.D., za pomoc při zpracování vzorků. Také paní Patrycji Bober z Akademie věd České republiky v Praze a kolegům z Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně za proměření vzorků pomocí SEM a TEM.

OBSAH

1	ÚVOD	8
1.1	Cíl práce	8
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
2.1	Lignocelulózové materiály	9
2.1.1	Celulóza	9
2.1.2	Hemicelulóza	10
2.1.3	Lignin	10
2.2	Modifikace celulózy	11
2.2.1	Avicel	11
2.2.2	Mikrokrystalická celulóza	12
2.2.3	Příprava MCC/NC	13
2.3	Bakteriální celulóza (BC)	16
2.4	Nanocelulóza (NC)	16
2.4.1	Nanocelulóza ve vodivých materiálech	17
2.5	Chemická modifikace	17
2.5.1	Modifikace ethylendiaminem	20
2.6	Výroba bioplastů s obsahem MCC / NC	20
2.6.1	Agaraové bioplasty	20
2.6.2	Škrob	20
2.6.3	Bioplasty z rybího kolagenu	21
2.7	Odpadové hospodářství z potravinového průmyslu	21
2.7.1	Proč využívat odpadového hospodářství	21
2.8	Možnosti využití surovin	21
2.8.1	Hroznové výlisky	21
2.8.2	Bambusové vlákno	21
2.8.3	Conocarpus lancifolius	22
2.8.4	Kokosové vlákno a ananasové listy	22
2.8.5	Kávová sedlina	22
2.8.6	Banánové slupky	23
2.8.7	Výlisky z jablečných slupek	23
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	24
3.1	Použité přístroje, chemikálie a materiál	24
3.1.1	Přístroje	24
3.1.2	Chemikálie	25
3.1.3	Lignocelulózový materiál	25

3.2	Metody pro charakterizaci lignocelulózového materiálu.....	26
3.2.1	Stanovení ligninu	26
3.2.2	Stanovení celulózy	27
3.2.3	Stanovení hemicelulózy	27
3.2.4	Stanovení obsahu lipidů	27
3.3	Ověření postupů hydrolýzy	28
3.4	Ověření postupu přípravy celulóзовých nanovláken.....	28
3.5	Předúprava lignocelulózového materiálu.....	28
3.6	Izolace celulózy z hroznových výlisků	29
3.6.1	Postup 1	29
3.6.2	Postup 2	29
3.7	Modifikace celulózy	31
3.8	Příprava agarových filmů s obsahem mikrokrytalické celulózy	31
3.9	Morfologie agarových filmů pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM)	31
3.10	Charakterizace velikosti vláken celulózy pomocí transmisního elektronového mikroskopu (TEM).....	31
3.11	Stanovení mechanických vlastností agarových filmů.....	32
3.12	Stanovení čistoty celulózy	33
3.12.1	iS5 FT-IR.....	33
3.12.2	iS50 FT-IR ATR.....	33
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	34
4.1	Charakterizace lignocelulózového materiálu	34
4.2	Izolace celulózy	35
4.2.1	Ověření postupu hydrolýzy	35
4.2.2	Zhodnocení výtěžnosti mikrokrytalické celulózy.....	36
4.3	Hodnocení velikosti vláken (TEM)	37
4.4	Morfologie agarových filmů (SEM).....	39
4.5	Mechanické vlastností agarových filmů s obsahem MCC.....	41
4.6	Stanovení čistoty celulózy a agarových filmů.....	44
4.6.1	FT-IR.....	44
4.6.2	FT-IR ATR.....	46
5	ZÁVĚR.....	48
6	LITERATURA	49

1 ÚVOD

V poslední době výrazně stoupá spotřeba polymerních materiálů vyrobených z petrochemických zdrojů. Důvodem je především jejich nízká cena i hmotnost, dostupnost, snadná manipulace a vysoká odolnost. Tyto materiály nabízí širokou škálu využití. Nicméně s rostoucím zájmem o životní prostředí začíná být snaha o nalezení ekologičtějších zdrojů pro výrobu takových materiálů. Jako slibný kandidát se v posledních letech jeví celulóza. Nejen, že je to obnovitelný, snadno dostupný a odbouratelný polysacharidový zdroj pro výrobu biopolymerů, ale lze pomocí jejího zpracování ulevit i dalším zátěžím životního prostředí. V rámci potravinářského a zemědělského průmyslu totiž vzniká během zpracování surovin vysoké procento odpadního lignocelulóзовého materiálu, který není dále nijak účelově zpracováván. Tyto odpady se buď spalují a nebo jsou ponechány na skládkách, které znečišťují podzemní vody a tím zatěžují životní prostředí.

Celulóza má lineární charakter složený z β -D-glukopyranózových jednotek spojených β (1–4) - glykosidovými vazbami. Řetězce se skládají z 36 jednotlivých molekul, které navzájem pojí vodíkové můstky a Van der Waalsovy síly. Elementární fibrily, jakožto struktura celulózy, se dělí na krystalické a amorfni. Právě amorfni částice snadno podléhají kyselé hydrolýze, díky čemuž pak vzniká krystalický produkt zvaný mikrokrytalická celulóza (MCC).

MCC je netoxická, biodegradabilní, biokompatibilní látka s dobrými mechanickými vlastnostmi, která nachází široké uplatnění v mnoha odvětvích.

V rámci této práce se budu zaměřovat na konkrétní druh lignocelulóзовého odpadu a to na hroznové výlisky. Ročně se vypěstují miliony tun vinné révy, z čehož je přibližně 75 % využito k výrobě vína. 30 % hroznů použitých pro výrobu vína je odpad, který se skládá ze semínek, slupek a stopek, které nenalézají další využití. V rámci cirkulární ekonomiky je důležité zpracovávat i sekundární zdroje, tedy odpady tohoto hospodářství.

Tato diplomová práce pojednává o způsobech přípravy a izolace mikrokrytalické celulózy z hroznových výlísků jakožto potravinářského odpadu při výrobě vína a také o možnostech dalšího využití této celulózy.

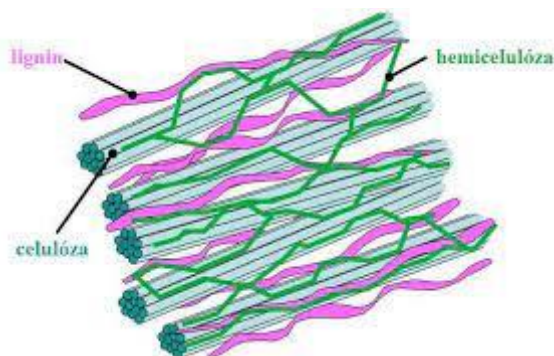
1.1 Cíl práce

Cílem práce bylo charakterizovat použitý lignocelulóзовý materiál úspěšně vyizolovat mikro či nano celulózu dle uvedených postupů. Následně z této celulózy připravit agarové filmy s různým zastoupením celulózy a sledovat vliv přídavku plnidla na mechanické vlastnosti filmů. Dále provést modifikaci celulózy pomocí ethylendiaminu pro zlepšení jejich povrchových vlastností a také ověření postupu přípravy celulóзовých nanočástic. Opět z těchto vzorků připravit agarové filmy a porovnat jejich vlastnosti

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Lignocelulózové materiály

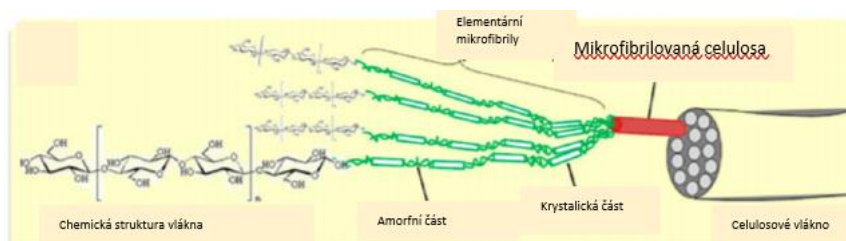
Biopolymery z obnovitelných zdrojů nachází vysoké uplatnění hned v několika odvětvích, jako je lékařství, potravinářství, zemědělství či různé biomedicínské a environmentální studie. Přírodní polymery, jako jsou polysacharidy, hrají největší roli v biomedicínských technologiích. Vyznačují se hned několika vhodnými vlastnostmi. Mimo to, že mají široký rozsah molekulových hmotností v rozmezí $10^2 - 10^6$ Da a vysoký počet funkčních skupin (NH_2 , $-\text{CO}-$, $-\text{OH}$) pro vhodnou chemickou modifikaci, ovlivňují také pozitivně farmakokinetiku i farmakodynamiku enzymů. Mezi nejčastěji využívané patří celulóza, škrob, chitosan a chitin (Nazir a Iqbal 2020). Na Obrázku 1 je zobrazeno ilustrační schéma lignocelulózového materiálu.



Obrázek 1: Strukturní uspořádání lignocelulózového materiálu

2.1.1 Celulóza

Nejhojněji se vyskytující strukturní polysacharid v buněčných stěnách rostlin je celulóza. Roční produkce celulózy činí zhruba 10^{11} - 10^{12} tun. Strukturně má lineární charakter složený z β -D-glukopyranózových jednotek spojených β (1–4) -glykosidovými vazbami. Celulózové řetězce se skládají z přibližně 36 jednotlivých molekul, které jsou drženy pohromadě Van der Waalsovými silami a vodíkovými můstky (Golmohammadi et al. 2017). Tyto struktury se nazývají elementární fibrily a dělí se na vysoce uspořádané krystaly celulózy a neuspořádané – amorfní oblasti. Amorfní oblasti snadno podléhají kyselé hydrolýze a vznikají méně ostré a krystaličtější fragmenty, tzv. mikrokry.cel.(MCC) (Trache et al. 2016). Celulóza je nerozpustná ve vodě i zředěných alkalických a kyselých roztocích. Její větší odolnost vůči kyselé hydrolýze a enzymové aktivitě bývá připisována přítomnosti vodíkových vazeb, a tedy její krystalické podobě. Velké množství vodíkových vazeb totiž vede k tvorbě stabilního mikrofibrilu. Krystalická forma může mít několik podob v závislosti na zdroji celulózy a na způsobu zpracování. Nejhojněji se vyskytuje polymorf celulózy I, který se dále dělí na celulózu I α , která převládá u řas a bakterií a celulózu I β , která je hlavní formou v rostlinách. Jelikož lze tepelným zpracováním celulózu I α nevratně přeměnit na I β , považuje se I β za stabilnější krystalickou formu krystalické celulózy (Frassoldati a Ranzi 2019). Na Obrázek 2 je znázorněná detailní struktura celulózového vlákna až po jeho chemickou strukturu.



Obrázek 2: Struktura celulóзовého vlákna (Golmohammadi et al. 2017).

2.1.2 Hemicelulóza

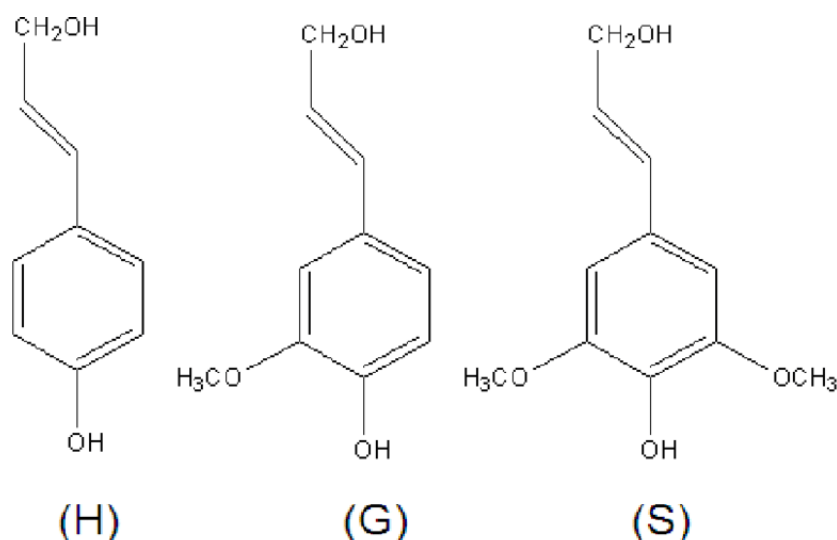
Hemicelulóza, jakožto další složka buněčné stěny rostlin, nemá v porovnání s ostatními složkami srovnatelnou komerční hodnotu. Přispívá ke kvalitě dřeva a vláken a zvyšuje pevnost papíru. Její zastoupení se liší v závislosti na typu dřeva. Obecně platí, že se vyskytuje spíše ve tvrdých dřevinách. Rozpustné složky jsou také součástí stravy a podporují trávení (Gregory a Bolwell 1999).

Hemicelulóza má nižší molekulovou hmotnost než celulóza. Jedná se o heteropolymer, který se skládá z různých cukerných monomerů včetně glukosy, galaktózy, xylózy, arabinózy, manózy a kyseliny 4- O- methyl-D-glukuronové. V závislosti na původu biomasy lze pozorovat dramatické změny v poměru zastoupení a složení jednotlivých monomerů. S lišícím se zastoupením se také liší vlastnosti jednotlivých biopolymerů. Odlišnosti můžeme pozorovat v rámci dopadu na pyrolýzu. Jelikož oproti celulóze je hemicelulóza nekystalická, amorfní a náhodná struktura s malou chemickou odolností. Studie prokazují, že až tři čtvrtiny hemicelulóz jsou rozpustné ve zředěné zásadě či ve vodě při teplotě vyšší než 180 °C (Li et al. 2013).

Tento polysacharid se obvykle získává vysrážením ethanolom po extrakci z buněčné stěny zředěnou zásadou. Dále jej lze extrahovat pomocí alkálií anebo s využitím enzymů k disociaci fragmentů hemicelulózy z matrice buněčné stěny (Gregory a Bolwell 1999).

2.1.3 Lignin

Lignin, jakožto jedna z nejrozšířenějších biopolymerů v buněčné stěně rostliny, se skládá z několika jednotek – guaiacyl, syringyl a p-hydroxyfenyl. Poměrné zastoupení těchto jednotek se liší v závislosti na druhu rostliny. Jako příklad lze uvést zastoupení jednotek v tvrdém dřevě, kde se vyskytují guaiacyl a syringyl. V měkkém dřevě lze nalézt převážně guaiacyl a bylinné rostliny obvykle obsahují všechny tři typy jednotek. Lignin se vyznačuje svými inhibičními účinky na enzymatickou hydrolýzu, kde se projevuje neproduktivní adsorpce celulózy na ligniny. (Yang et al. 2020). Obrázek 3 zobrazuje jednotky ligninu.



Obrázek 3: Hydroxyfenyl, guaiacyl a syringyl – jednotky ligninu

2.2 Modifikace celulózy

V posledních desetiletích rapidně stoupl zájem a využití polymerních materiálů v mnoha různých odvětvích. Tyto materiály nahradily tradiční materiály jako je sklo, keramika či kovy. Důvodem byla nízká cena, dostupnost, nízká hmotnost a vysoká odolnost polymerních materiálů. Začalo tak vznikat široké množství různých typů polymerních materiálů, jako třeba elastomery, umělá vlákna a kompozity. Nicméně s rostoucím zájmem o životní prostředí a zdraví lidí se začínají hledat alternativy pro tyto materiály, které nebudou závislé na petrochemických zdrojích a nebudou vyčerpávat neobnovitelné zdroje. (Trache et al. 2016).

Velký zájem vzbudila právě celulóza, která je snadno dostupná, obnovitelná, netoxická a biologicky odbouratelná. Lze ji získat různými způsoby z mnoha materiálů. K nejvýznamnějším patří dřevo a bavlna. V dnešní době se ale používají i různé odpady z potravinářského či textilního průmyslu. Získání celulózy se dělí na dva hlavní způsoby, tzv. top-down přístup, kde se využívají již zmíněné zdroje celulózy a tzv. přístup bottom-up, kde se jedná o biosyntézu celulózy z glukózy pomocí bakterií (Trache et al. 2016).

2.2.1 Avicel

Avicel je první komerčně vyráběnou MCC firmou FMC Corporation již od roku 1962 (Trache et al. 2016). Nejstarší typ MCC se používá hojně ve farmaceutickém průmyslu. Využívá se jako plnivo, pojivo či jako suché mazadlo. Vyznačuje se schopností vázat a zadržovat vodu a také ji rozvádět ve vlhkém prostředí (Thoorens et al. 2014)

Mikrokrystalická celulóza

2.2.1.1 Zdroje pro získávání MCC

Mikrokrystalická celulóza (MCC) je látka extrahovaná z rostlinných vláken, a to většinou pomocí kyselé hydrolýzy. Tato metoda se využívá především pro odstranění amorfní části. Jako vhodní kandidáti se v rámci cirkulární ekonomiky a využívání sekundárních zdrojů za účelem snížení nákladů jeví jednoleté byliny, tráva, vodní rostliny, zemědělské plodiny a jejich odpadní produkty. Všechny tyto zdroje obsahují zpravidla méně ligninu, a tak bývá jejich zpracování a úprava méně náročná. Vstupní surovinou pro získání MCC může být vlastně jakákoliv surovina obsahující vysoký podíl celulózy. Záleží pak na zastoupení jednotlivých složek polysacharidů, které budou ovlivňovat vlastnosti MCC. Literatura uvádí několik možných zdrojů pro získání MCC. Může se jednat například o skořápky z podzemnice olejné či kukuřičného klasu, bambus, buničinu z cukrové řepy, juty, slupky z rýže či fazolí nebo třeba novinový papír, filtrační papír a různé odpady z bavlny (Trache et al. 2016).

2.2.1.2 Vlastnosti MCC

MCC jakožto náhradní zdroj neobnovitelných a vzácných fosilních materiálů, má mnoho výhod. Kromě toho, že se jedná o přírodní zdroj, který je ke všemu i snadno dostupný a obnovitelný, vyznačuje se tento materiál i nízkou hustotou (Rasheed et al. 2021). Mezi další vlastnosti, které zvyšují atraktivnost MCC pro různé využití patří dobré mechanické vlastnosti, netoxičita, biokompatibilita, biodegradace a možnost izolace z širokého spektra zdrojů. Jedná se o látku snadno kombinovatelnou s dalšími chemickými látkami a je vhodná i jako výztuž pro biopolymerové filmy (Pan et al. 2020). (Piątek et al. 2021).

Dnes nachází MCC díky svým vlastnostem uplatnění hned v několika průmyslových odvětvích. Např. v potravinářském průmyslu, kde se používá v koloidní formě pro stabilizaci suspenzí, zadržování vody, regulaci viskozity a jako emulgátor v mražených krémech a pastách. Suspenze se také využívá v kosmetologii. Ve formě prášku je využívána jako pojivo a plnivo ve farmacii a jako výztužné činidlo při vývoji polymerních kompozitů (Trache et al. 2016). Nežádoucí vlastnosti stojící v cestě dalšímu použití k produkci různých obalových materiálů představují- nízká pevnost v tahu, křehkost, nižší tepelná stabilita (Rasheed et al. 2021) a nekompatibilita s některými polymerními matricemi. Tato nekompatibilita se pak projeví agregací v kompozitech. Ošetření ultrazvukem, který díky akustické kavitaci narušuje inter a intramolekulární vazby a tím zlepšuje disperzi polymerní matrice, má za následek fragmentaci agregátů a klastrů, což vede k lepší disperzi MCC v matrici (Pan et al. 2020).

Tyto nevýhody zatím omezují komerční použití MCC. K vyřešení problému může napomoci modifikace polymerních směsí, které mohou vylepšit ony zmíněné negativní vlastnosti celulózy (Rasheed et al. 2021).

MCC je chemicky inertní materiál, který se v medicíně a farmacii často používá jako imunosorbent pro proteiny nebo nosičový materiál pro léky (Jeon et al. 2018). Dalším příkladem je kombinace kolagenu a MCC. Rybí kolagen je v posledních letech významný kandidát na tvorbu biofilmu ve tkáňovém inženýrství. V kombinaci s MCC lze dosáhnout velkého vylepšení vlastností a tím zvýšení využitelnosti této komodity. Směs rybího kolagenu a MCC jakožto přírodní biopolymer mající podobné vlastnosti jako makromolekuly, které jsou metabolizovány a tělem rozpoznány, lze využít jako náhradu kůže při popáleninách či při léčbě různých chronických ran. Kolagen vykazuje mnoho kladných předpokladů pro použití v tkáňovém inženýrství. Podporuje agregaci krevních destiček, má nízkou imunitní odpověď a podporuje proliferaci buněk. Želatina z vodních živočichů je navíc snadno biologicky odbouratelný materiál s vysokou transparentností a skvělými bariérovými vlastnostmi vůči plynům, olejům a organickým parám. Přídavek MCC vylepšuje jeho negativní aspekty, jako je špatný antibakteriální účinek, špatné mechanické vlastnosti, smáčitelnost a rychlá degradace (Pan et al. 2020).

2.2.2 Příprava MCC/NC

Při izolaci MCC je hned několik faktorů, které ovlivňují výsledný produkt a jeho vlastnosti. Na vlivu se podílí původ materiálu, druh a stáří rostliny, poměr jednotlivých složek či způsob zpracování. Ze zastoupených složek v rostlinách je nejdůležitějším parametrem obsah ligninu. Jedná se o nejkomplicovanější chemickou sloučeninu, která musí být z lignocelulózových materiálů odstraněna. Vyizolovaná celuloza dosahuje různých velikostí opět v závislosti na zdroji a izolačním procesu. Průměr vláken se pohybuje od 30 nm do 20 μ m a délka dosahuje až stovky mikronů (Trache et al. 2016).

Pro získání MCC/NC z určitého vstupního materiálu je nejprve potřeba vzorek odmastit pomocí máčení v zásaditém roztoku, nejčastěji hydroxidu, nebo pomocí organických rozpouštědel. Tento krok také slouží k nabobtnání celulózy. Poté se přistoupí k bělení a tím k narušení struktury ligninu a hemicelulózy. K tomuto procesu lze využít například peroxid či chloritan sodný. Po dalším přečištění se přechází ke kyselé hydrolyze, která rozloží amorfni celulózu vláken a lze tak izolovat MCC/NC (Azum et al. 2021). Jak bylo již zmíněno výše, na kvalitě MCC/NC se z velké části podílí druh rostliny i poměr jednotlivých složek. V Tabulka 1 je uvedeno složení nejčastěji zastoupených látek v různých odpadech potravinářského průmyslu, konkrétně v různých druzích ovocných výlisků.

Tabulka 1: Lignocelulózové zastoupení v různých druzích ovoce (Okoro et al. 2021)

Druh výlisků	Hrozny	Hruška	Mrkev	Rajče	Jablko	Třešeň	Olivy
Celulóza [%]	18,2	34,5	51,6	38,0	17,7	18,4	17,0
Hemicelulóza [%]	8,0	18,6	12,3	31,4	10,9	10,7	6,8
Lignin [%]	56,7	35,5	32,1	6,87	15,4	69,4	39,0

2.2.2.1 Alkalická hydrolyza

Jedná se o nejčastěji využívanou metodu převážně k delignifikaci lignocelulózových materiálů. Celá metoda probíhá za zvýšené teploty a zvýšeného tlaku. Dochází k narušení struktury ligninu a oddělení strukturních vazeb mezi ligninem a karbohydráty. Při smíchání materiálu celulózy s alkálií dochází k nabobtnání. Přidáním peroxidu vodíku dochází k polymeraci celulózy a tím ke snížení viskozity. Následují konečné úpravy jako jsou filtrace, neutralizace, promývání a sušení (Trache et al. 2016).

2.2.2.2 Kyselé hydrolyza

Prozatím neexistuje mnoho informací o vztahu mezi kinetickou degradací lignocelulózy a její samotnou strukturou. Hlavní neznámou jsou dva faktory, a to dopad krystalinity na strukturu a místa adsorpce enzymů. Hydrolyza, jakožto hlavní a nejpoužívanější způsob chemické úpravy celulózy na lignocelulózu, bývá pomalá. Hlavním důvodem pomalého rozkladu je již zmiňovaná krystalická struktura, která brání degradaci. Rychlost hydrolyzy je závislá na několika faktorech, které se sebou silně souvisejí, jako je povrch a krystalinita substrátu, reakční podmínky a aktivita celulózy (Piątek et al. 2021).

Po prvotním odstranění ligninu a hemicelulózy a izolaci celulózy vláken se přistoupí k samotné kyselé hydrolyze, která slouží k extrakci MCC či NC z celulózy materiálů. Používají se různé koncentrace různých kyselin, nejčastěji však kyseliny sírové či chlorovodíkové. Díky tomu, že se celulóza skládá z uspořádaných a amorfni částí, mohou být ony amorfni části snadno hydrolyzovány a uspořádané části zůstanu nedotčeny. Využití kyseliny sírové má tu výhodu, že mimo izolace MCC či NC může také zlepšit stabilitu dané směsi a to díky esterifikaci hydroxylové skupiny sulfátovými ionty. Tato směs se následně zahřívá a nakonec se provádí konečné úpravy jako je neutralizace, promývání a sušení (Phanthong et al. 2018).

2.2.2.3 Parní exploze

Parní exploze je mechanická metoda používaná k rozvlákňování. Výhod má hned několik. Mimo to, že je levnější a využívá méně chemických látek, má také větší potenciál pro energetickou účinnost a má také menší dopad na životní prostředí. Obecně lze postup popsat v několika krocích. Nejprve se lignocelulóza zpracuje v páře a dále se extrahuje pro nižší polymerační stupeň. Poté se impregnuje silnou kyselinou, aby se získala MCC. V průběhu let byl tento postup vylepšen a ochuzen o druhý krok, tedy krok kyselé hydrolýzy. Jedná se tedy pouze o zavedení celulóзовého materiálu do tlakového reaktoru a vystavení působení parní exploze za kontrolovaných podmínek (Trache et al. 2016).

2.2.2.4 Extruze

Neboli technologie vytlačování je vysokoteplotní metoda kyselé hydrolýzy, která se vyznačuje několika výhodami. Především nedochází v produkci odpadních vod a metoda je vysoce flexibilní. Nicméně bylo zatím popsáno jen několik málo výzkumů, zabývajících se tímto postupem.

Obecný postup spočívá v protlačování celulóзовé suroviny extruderem, který sestával ze šneku a válce. Proces se odehrává v prostředí bazického vodného roztoku tak, aby se lignocelulóзовý komplex rozložil na lignin, hemicelulózu a celulózu. Po extrakci ligninu a hemicelulózy je zbylá celulóza podrobena kyselé hydrolýze za vzniku MCC (Trache et al. 2016).

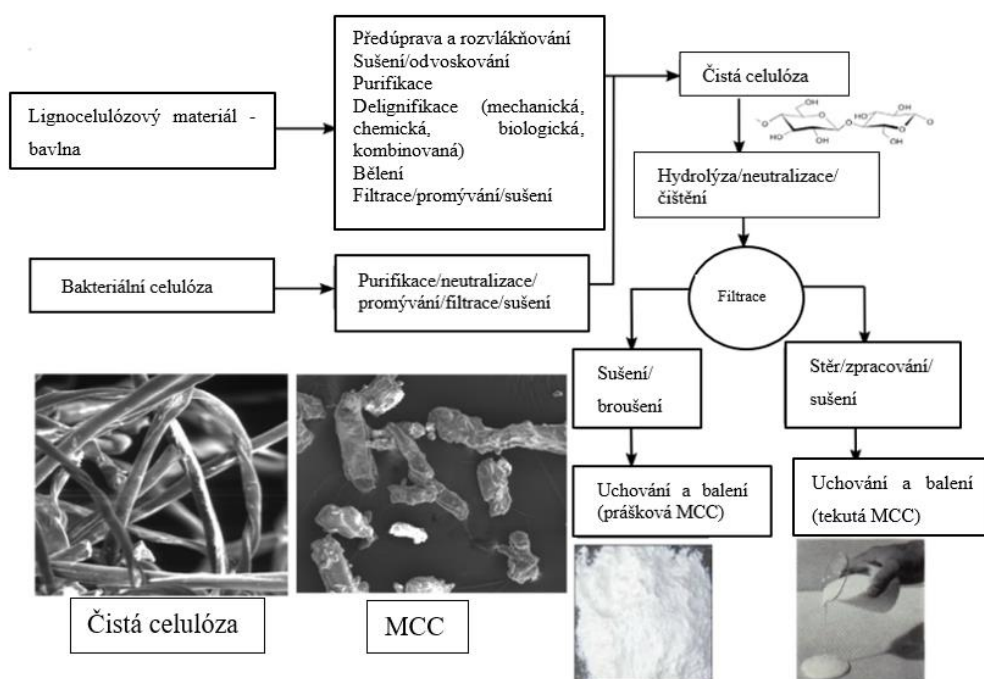
2.2.2.5 Radiačně-enzymatický proces

Velmi málo rozšířený a zkoumaný proces, který je ale účinný a ekologický. Bohužel se ale jedná o metodu poměrně nákladnou, a tedy neekonomickou. Navíc se vytvářejí produkty s nižší krystalinitou, než u ostatních metod. Metoda spočívá v ozařování celulóзовé buničiny elektronovým paprskem. Vzorek je nabobtnán v chemickém roztoku a podroben působení enzymů. Promytím a filtrací lze získat MCC, která se dále suší (Trache et al. 2016).

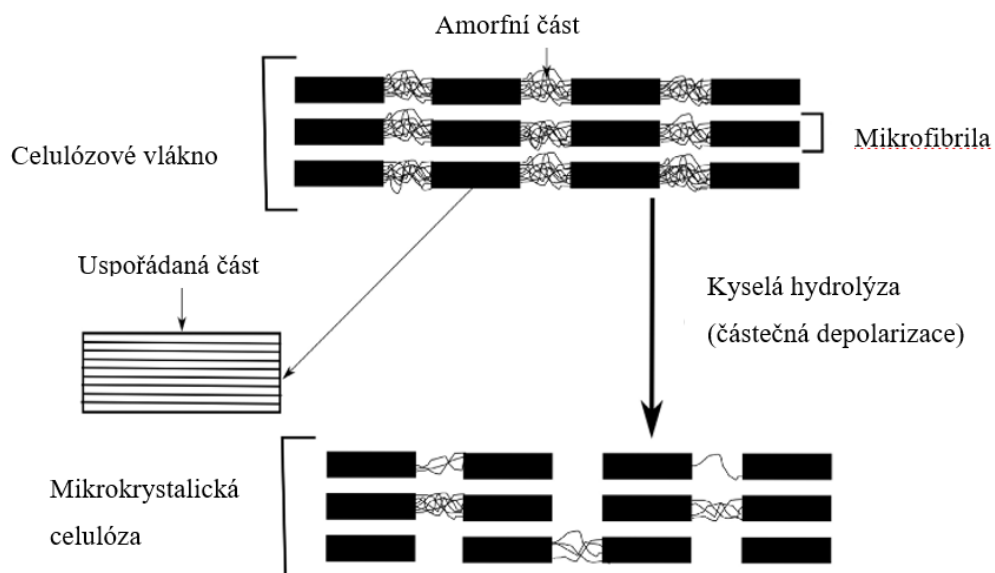
Na Obrázek 4 je vyobrazeno schéma zpracování lignocelulóзовých materiálů až na MCC a Obrázek 5 znázorňuje schéma procesu kyselé hydrolýzy.

2.2.2.6 Další metody přípravy MCC

Vedle jednoduchých metod byly také prozkoumány i další postupy pro výrobu MCC jako například výroba z nebělené sulfátové buničiny pomocí jednostupňové hydrolýzy a bělení s použitím dostatečného množství aktivního kyslíku v kyselém prostředí. Tato metoda je použitelná pro různé druhy buničiny a mohla by také eliminovat potřebu provádět více kroků k dosažení požadovaného výsledku (Trache et al. 2016).



Obrázek 4: : Zpracování lignocelulózových materiálů (Trache et al. 2016)



Obrázek 5: Schéma kyselé hydrolýzy (Trache et al. 2016)

2.3 Bakteriální celulóza (BC)

Bakteriální celulóza je dalším ze slibných zdrojů celulózy, která se uplatňuje hlavně v biomedicínských aplikacích. Přípravuje se v čisté formě z bakteriálních kmenů jako jsou *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Rhizobium* nebo *Sarcina* (Krishnamachari et al. 2011).

BC se skládá ze sítě ultrajemných nanovláken o velikosti 3 - 8 nm, která jsou jednoosově orientovaná. Toto uspořádání do 3D struktury s sebou přináší vyšší krystalinitu (60 - 80 %) a dobré mechanické i fyzikálně-chemické vlastnosti (Park et al. 2009).

BC se získává pomocí mikrobiální fermentace ve statických či dynamických kulturách. Pro potravinářské účely patří mezi nejvíce využívané kmeny pro produkci BC *Acetobacter xylinum*. Ve srovnání s celulózou rostlinného původu má lepší schopnost zadržovat vodu, a vyšší pevnost v tahu. Po modifikaci bakteriální celulózy je možné ji použít jako antimikrobiální obal v potravinářském průmyslu a tím tak omezit přidávání konzervačních látek do výrobků (Rydz et al. 2018).

Další atraktivní využití BC nabízí textilní průmysl, který se snaží nahradit bavlníkové rostliny a s nimi spjaté používání pesticidů škodících životnímu prostředí. BC si žádá optimalizaci hned několika faktorů, jako je, růstové médium či tvorba vedlejších produktů tak, aby se získal průmyslově použitelný materiál. (Fontana et al. 2017).

2.4 Nanocelulóza (NC)

Nanocelulóza se vyznačuje opravdu multifunkčním charakterem, který nachází potenciál v několika odvětvích. Uplatňuje se například v kosmetice, potravinářství, farmacii, strojírenství, biomedicíně a biomateriálech. Mezi hlavní přednosti nanocelulózy se řadí vlastní obnovitelnost, flexibilita, biologická rozložitelnost, nízká hustota, vysoká pórovitost, průhlednost, komerční dostupnost a v neposlední řadě výjimečné tepelné a mechanické vlastnosti (Golmohammadi et al. 2017). Velikost vláken NC se pohybuje v rozmezí 2-20 nm v průměru a 100-500 nm na délku (Phanthong et al. 2018). Bohaté hydroxylové skupiny, které NC obsahuje se využívají k povrchové úpravě materiálů. NC se vyznačuje i vysokou tuhostí a pevností. Tyto vlastnosti jsou vhodné k využití NC jako plniva do kompozit a tím mohou zlepšit jejich tepelné i mechanické vlastnosti. Tyto kompozity lze poté využít při výrobě léčiv, implantátů i v biomedicíně k opravě tkání. Dále se s NC můžeme setkat v papírenském, obalovém i elektronickém průmyslu (Kumar Rai a Singh 2021).

V dnešní době stoupá poptávka po zařízeních pro udržitelnou energii, které by byly obnovitelné a šetrné k životnímu prostředí. NC vyniká hned několika mechanickými, fyzikálními i optickými vlastnostmi, které jsou pro výrobu těchto vysoce výkonných zařízení nezbytné. Lze ji získávat z rostlin či bakterií a to obdobnými způsoby, jako je tomu u MCC (Du et al. 2017).

Konkrétní příklady surovin vhodných pro extrakci NC jsou bagasa z cukrové třtiny, bavlněný lint či rýžové slupky (Kumar Rai a Singh 2021). Lze použít i ananasové listy, stopky z jablek, kokosová vláknina, kůra moruše či fazolové slupky (Phanthong et al. 2018).

2.4.1 Nanocelulóza ve vodivých materiálech

Celulóza sama o sobě nevede elektrický proud, ale může sloužit jako ekologický a levný substrát v elektricky vodivých kompozitech. Tato strategická kombinace vodivých polymerů s NC může do budoucna přinášet lehké a levné výrobky, nové tvarové možnosti a ekologičtější přístup k planetě v rámci inteligentních obalů a elektroniky. Nabízí se možnosti výroby solárních článků, elektrody, snímačů napětí, superkondenzátory či inteligentní obaly (Zhang et al. 2019).

Vodivé materiály umožňují tok elektrického proudu. Existuje mnoho typů těchto materiálů od vodivých polymerů až po uhlíkové nanotrubičky či saze. Jsou nezbytnou součástí výroby energetických zařízení a při kombinaci vodivých materiálů s NC lze vyrobit vodivou nanocelulózu, která bude kombinovat dobré vlastnosti obou materiálů. kromě nákladů a náročnosti přípravy je při výrobě nutné zhodnotit vodivost, stabilitu chemickou i fyzikální, toxicitu a biodegradabilitu. K výrobě těchto materiálů se nejčastěji využívají dva typy přípravy. Buď se potahuje vrstva vodivých materiálů na povrch NC, a nebo se smíchá vodivý materiál s NC za vzniku kompozitu (Du et al. 2017).

Při potahování NC(jakožto substrátu) vodivými materiály lze jako povlaky použít částice, roztoky, páry (Du et al. 2017).

Při výrobě kompozitu, se využívají především metody polymerace *in situ* a míchání. *In situ* polymerace spočívá v zavádění vodivého polymeru do matrice NC. Rozptýlené nanocelulóзовé částice jsou impregnovány monomerem a poté se pomocí iniciátoru vyrobí zapouzdřený NC nanokompozit (Du et al. 2017).

Obvykle se s NC vlákny mísí kovové nanočástice a vodivé uhlíkové materiály (Du et al. 2017).

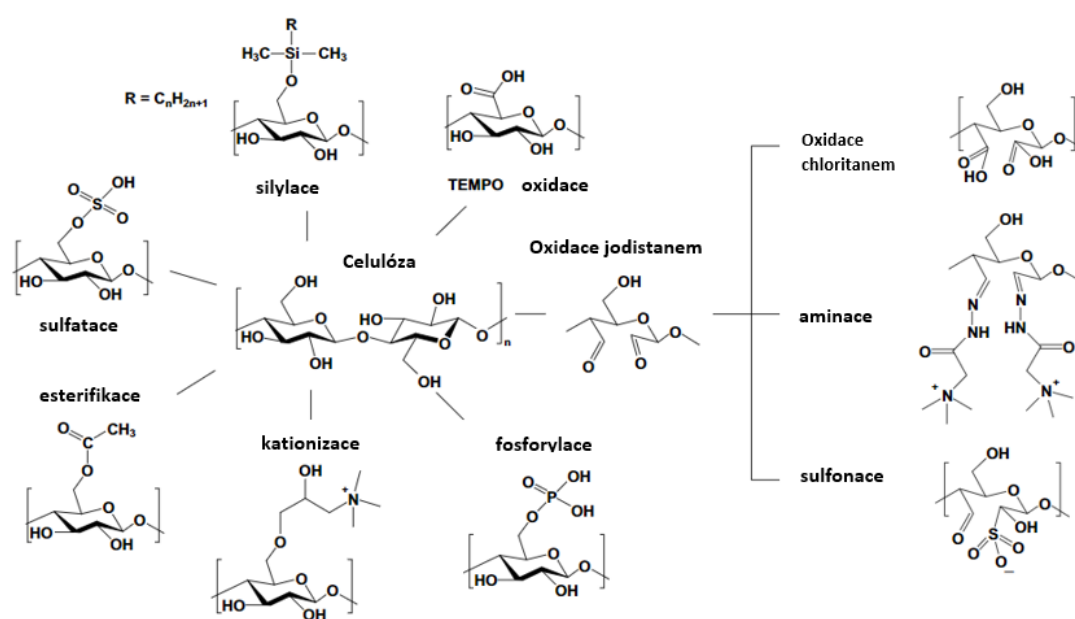
2.5 Chemická modifikace

Jak již bylo uvedeno v kapitole vlastností MCC, je zřejmé, že potenciál a využitelnost celulózy jsou opravdu široké. Nicméně se na cestě objevuje několik překážek, které brání udržitelnému využívání. Primárně se jedná o nerozpustnost celulózy v běžných rozpouštědlech (včetně vody) a také o absenci tepelného přechodu. Tyto dva aspekty lze přikládat vodíkovým vazbám. Tyto intra i intermolekulární vodíkové vazby lze narušit určitými rozpouštědly, které jsou často ale toxické, špatně recyklovatelné a nebo tepelně nestabilní, a proto nevhodné k používání. Existují však způsoby chemické funkcionalizace, které mohou pomoci tyto vlastnosti odbourat (Onwukamike et al. 2019).

Metoda je založena na modifikaci celulózy ve smyslu změn jejích funkčních skupin, výsledné reaktivity i kompatibility s jinými materiály. Tuto metodu umožňuje přítomnost dostatečného množství hydroxylových skupin, které mohou být dále modifikovány různými funkčními skupinami. První krok pro chemickou modifikaci je aktivace hydroxylové skupiny, aby bylo možné ji následně nahradit jinou funkční skupinou. Často se jako aktivační činidlo používá p-toluensulfonylchlorid, který využívá nukleofilní substituční reakce pro modifikaci celulózy (Nazir a Iqbal 2020). Modifikace povrchu celulózy může vylepšit například hustotu povrchového náboje pro elektrostatickou interakci s dalšími molekulami, její antibakteriální aktivitu či strukturní vlastnosti a samotnou velikost vláken (Tavakolian et al. 2020).

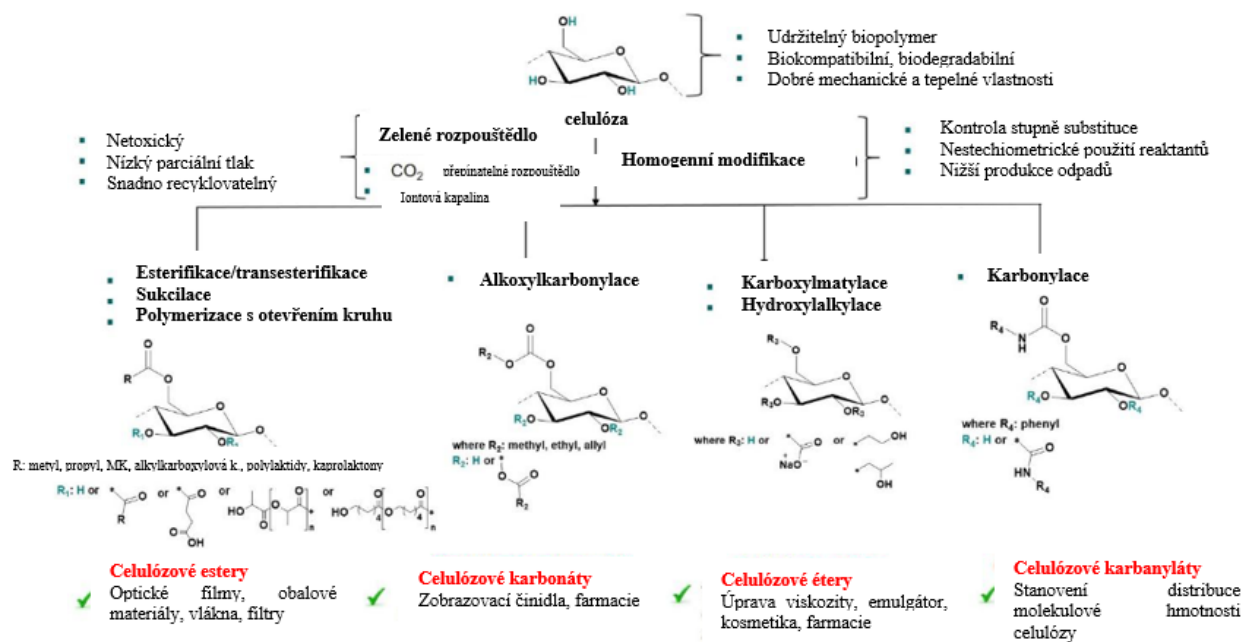
Byly prováděny homogenní i heterogenní modifikace. Heterogenní metody jsou například esterifikace (estery celulózy, acetáty), etherifikace (ethery celulózy, karboxymetyl celulóza, metylcelulóza), silylace (silycelulóza), fosforylace (fosfáty celulózy) či nitrace (nitrocelulóza). Takto zmodifikované materiály mají široké využití například v textilním průmyslu, při výrobě cigaretových filtrů, v optice displeje, kosmetice, biomedicíně či farmaceutickém průmyslu. V rámci heterogenních úprav není potřeba úplné solubilizace celulózy, což usnadňuje aplikaci procesu. Většinou se využívají nadměrné

množství reaktantů i kyselin a tím se rapidně zvyšuje produkce odpadu. V rámci takzvané zelené chemie je využíváno homogenních postupů, kde lze omezit množství vzniklého odpadu a dosáhnout lepší kontroly stupně substituce. Podmínkou u těchto postupů je ale využití již zmíněné modifikace. Nejčastější metody modifikace jsou esterifikace a transesterifikace, při kterých vznikají produkty jako je acetát celulózy, acetát propionát či acetát butyrát celulózy (Onwukamike et al. 2019). Na Obrázku 6 jsou znázorněny možnosti modifikace celulózy pomocí různých funkčních skupin za účelem změny již zmíněných vlastností.



Obrázek 6: Chemické modifikace celulózy (Tavakolian et al. 2020)

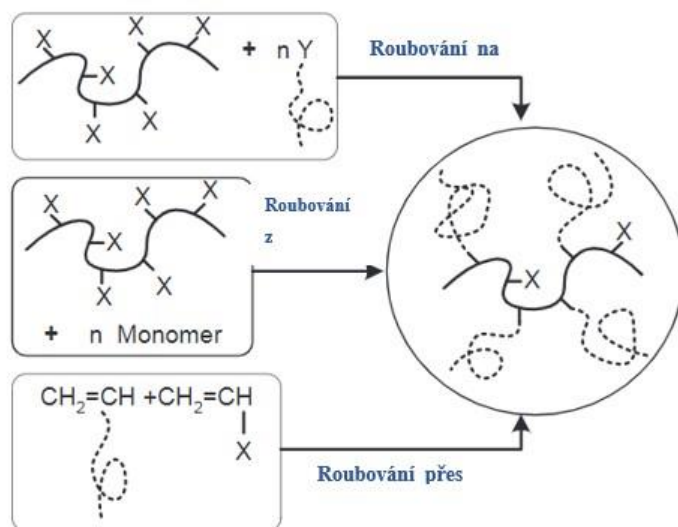
Na Obrázku 7 je znázorněno schéma, které jednoduše shrnuje celý princip zelené chemie a homogenní modifikace celulózy. Jsou zde uvedeny výhody celulózy jako biopolymeru a také možnosti využití jednotlivých produktů homogenní modifikace.



Obrázek 7: Schéma zelené chemie (Onwukamike et al. 2019)

Další možností, jak dosáhnout modifikace celulózy je tzv. roubování, kdy polymerací vznikají roubované kopolymery. Tyto kopolymery lze využít na výrobu inteligentních obalů, antimikrobiálních materiálů, adsorbentů či materiálů odolných vůči adsorpci proteinů. Pro syntézu roubovaných kopolymerů se obecně využívají tři typy postupů. Takzvané „roubování na“, kde dochází k reakci mezi funkčními skupinami na dvou různých polymerech, „roubování z“, kde se využívá makroiniciátor- polymer s funkčními skupinami, který iniciuje polymeraci vinylových monomerů a poslední „roubování přes“ zahrnující kopolymeraci makromonomerů (Kang et al. 2015).

Na dalším Obrázku 8 jsou stručně znázorněny tyto 3 postupy pro lepší vizualizaci makromonomerů (Kang et al. 2015).



Obrázek 8: Přístupy modifikace celulózy pomocí roubování (Kang et al. 2015)

2.5.1 Modifikace ethylendiaminem

Prostřednictvím chemických reakcí s použitím různých dusíkatých prekurzorů, jako je aminoethanthiol, ethylendiamin, 2-aminomethylpyridin, nebo 1,4-diaminobutan lze dosáhnout inkorporaci alkalických center na povrch celulózy. takhle modifikovaná celulóza se zabudovaným dusíkem ve vodném prostředí interaguje s kontaminanty (kovy a barviva) v heterogenním systému, kde se využívá rozhraní pevná látka/kapalina. Celulóza modifikovaná ethylendiaminem byla účinná při odstraňování kyselého červeného GP, kongo červeného 4BS a reaktivních světle žlutých aniontových barviv K-4G. Jiné modifikované celulózy s dusíkatými prekurzory byly zase prokázány jako účinné při adsorpci ciprofloxacinu či amoxicilinu z vodného média (Bezerra et al. 2017).

2.6 Výroba bioplastů s obsahem MCC / NC

Vzhledem k neustálému nárůstu populace stoupá s přibývajícími roky i spotřeba obalových hmot na potraviny. V dnešní době přesahuje celosvětová roční produkce těchto obalů 67 milionů tun (Maulida et al. 2016). V rámci snahy o snížení nepříznivého dopadu konvenčních polymerů na životní prostředí se začaly zvažovat a používat možnosti biodegradabilních polymerů. Pro výrobu biologicky rozložitelných bioplastů, které jsou určeny pro balení potravin se jako hlavní komponenta využívají různé druhy polysacharidů jako je škrob, agar, chitosan, karagenan či kolagen. Výhodou těchto filmů je jejich snadná příprava. Filmy vyrobené pouze za použití některého z těchto polysacharidů ale vykazují špatné bariérové a mechanické vlastnosti. Během studií bylo zjištěno, že přidáním celulózy vyizolované z přírodních zdrojů v podobě mikro či nano částic, lze tyto vlastnosti vylepšit a tím tak zvýšit potenciál využitelnosti těchto biodegradabilních plastů v praxi (Shankar a Rhim 2016).

2.6.1 Agaraové bioplasty

Agar je polysacharid získávaný z buněčných stěn červených řas a obsahuje dvě složky, agarózu a agaropektin. Tento polysacharid vykazuje vysoký potenciál k využití jakožto obalový materiál díky jeho snadné přípravě a zdravotní nezávadnosti pro lidský organismus. Nejen, že se jedná o jedlý polysacharid, který lze použít v potravinářství, také se vyznačuje dobrými zahušťovacími a gelovacími schopnostmi. Obecně jej můžeme rozdělit do tří tříd dle vlastností. Nejvíce zastoupený je agar pro potravinářské použití, a to až z 90 %. Pouhých 10 % pak tvoří zastoupení bakteriologického agaru a agarózy (Ye et al. 2022). Agar je výborný kandidát pro výrobu nanokompozitních filmů, protože vykazuje zlepšení jejich odolnosti, průhlednosti a biodegradabilitu. S přidáním správného plastifikátoru ve správném množství tvoří jednolitý a snadno sloupatelné filmy. Vlastnosti filmů mohou být dále vylepšeny přidáním již zmíněné celulózy (Shankar a Rhim 2016).

2.6.2 Škrob

Jednou z nejčastějších alternativ, která je také hojně dostupná a levná, je škrob. Samotný škrob je ale rozpustný ve vodě, křehký a nesnadno zpracovatelný. V rámci zlepšení bariérových a mechanických vlastností se do roztoku přidávají nanokompozity, tedy plniva, která mají rozměry menší než 100 nm. Ideálním zdrojem nanokompozitu je právě (nano)celulóza, která má ve srovnání s ostatními komerčními vlákny velmi dobré dynamické, tepelné a elektrické vlastnosti a navíc je pevná, pružná a tuhá. Je prokázáno, že nanocelulóza opravdu zlepšuje mechanické vlastnosti polymeru (Pelissari et al. 2017). V rámci potravinářského průmyslu je dnes snaha o náhradu plastových obalů na potraviny právě biopolymery. MCC či NC se jeví jako vhodný plnicí materiál, jelikož se jedná stejně jako u škrobu o polysacharid a obě látky mají tedy velmi podobnou strukturu a je tedy možné mezi nimi vytvářet vodíkové vazby. Morfologické vlastnosti výsledného filmu jsou následně ovlivněny koncentrací přidané celulózy. S morfologií je spojená barva a průhlednost filmu, afinitu mezi plnivem a maticí (dobrá afinita bude zlepšovat tepelné a mechanické vlastnosti) a v neposlední řadě má koncentrace plnidla vliv také na bariérové vlastnosti obalu (Othman et al. 2019).

2.6.3 Bioplasty z rybího kolagenu

Rybí kolagen se hojně využívá v lékařství hlavně pro jeho nízké riziko infekce patogeny. Jedná se ale opět o makromolekulu s relativně špatnými mechanickými vlastnostmi, které jeho použití limitují. Film vyrobený z rybího kolagenu obsahuje hydrofilní aminokyseliny se zanedbatelným množstvím síry, a proto má špatné bariérové vlastnosti vůči vodní páře. Podél hlavního a postranního řetězce ale obsahuje kolagen různé funkční skupiny (amino a karboxylové), které je možné spojit s jiným funkčním polymerem, v tomto případě MCC a jejími hydroxylovými skupinami. Pouhé spojení těchto dvou látek ale většinou nestačí ke zlepšení všech negativních vlastností a je nutné sloučeninu podrobit ještě určitým modifikacím. Nejčastěji se jedná o esterifikaci, etherifikaci či chemické zesíťování dvou substrátů (Pan et al. 2020).

2.7 Odpadové hospodářství z potravinového průmyslu

2.7.1 Proč využívat odpadového hospodářství

V potravinářském a agroprůmyslu vzniká velké množství odpadů, které se dále vůbec nezpracovávají a jsou v rámci likvidace spalovány či ukládány na skládkách. Oba tyto procesy vedou k ekologickému zatížení životního prostředí a podílí se na emisi skleníkových plynů, nekontrolované degradaci a znečišťování prostředí vytvářením pachů a kontaminací půdy svými výluhy. Odpadní výlisky vznikají jako vedlejší produkt při extrakci šťáv z ovoce, kdy celková hmotnost celosvětové produkce těchto výlisků tvoří 20-25 % hm. z hmotnosti celého ovoce. Tyto odpadní produkty se ale vyznačují vysokým obsahem polysacharidů, které při správném zpracování nabízí mnoho možností pro jejich další využití (Okoro et al. 2021).

Světová spotřeba plastů stále roste. Vzhledem ke znepokojivým a nepříznivým důsledkům při jejich likvidaci je snaha o náhradu tohoto materiálu. V poslední době se začínají využívat, namísto syntetických polymerů, biologicky odbouratelné materiály. Tyto alternativní zdroje snadno podléhají mikrobiálnímu působení, a tak se následně lépe likvidují. Mikrokrystalická celulóza patří k jedné z nadějí ekologičtější budoucnosti (Rasheed et al. 2021).

2.8 Možnosti využití surovin

2.8.1 Hroznové výlisky

Hrozný patří mezi nejrozšířenější plody na světě. Ročně se vyprodukuje miliony tun hroznů, z čehož je třičtvrtina produkce využita k výrobě vína. Při procesu výroby vína, především během fermentace a lisování vzniká kolem 30 % výlisků slupek, semen a stopek. Zde tedy vzniká zájem o praktické využití tohoto odpadního produktu, aby tyto odpady nepředstavovaly zbytečnou zátěž pro životní prostředí. Surové výlisky mohou být použity například pro výrobu biohnojiv, biopolymerů, kompozitů či krmiva pro zvířata. Vzhledem k tomu, že se hroznové výlisky skládají především z vlákniny, oligosacharidů, bílkovin, polyfelenů, minerálů a olejů, jsou ideálním zdrojem pro extrakci těchto látek (Lu a Hsieh 2012).

2.8.2 Bambusové vlákno

Jedna ze surovin, kterou lze využít pro extrakci celulózy je bambusové vlákno. Extrakci lze provést kyselou hydrolýzou. Nejprve se oddělí lignin, hemicelulóza a bambusová buničina bělením. Dále se hydrolyzuje 85 % kyselinou sírovou 30 min a získá se MCC. Tato vlákna jsou dále sušena ve vakuové sušárně při 80 °C po dobu 24 hod. ke zvýšení kvality MCC. Výsledný produkt má výtěžnost 80 % s indexem krystalinity 82,6 % (Rasheed et al. 2021).

2.8.3 *Conocarpus lancifolius*

Mezi snadno dostupné a levné zdroje celulózy patří i agroodpady. Využívání těchto odpadů přispívá k tvorbě udržitelnějšího a čistšího prostředí. *Conocarpus lancifolius* je strom, který je dnes pěstován pro účely terénní úpravy a ekologizace. Může být využíván i pro lékařské a textilní aplikace. Ze stromu může vznikat velké množství agroodpadu kvůli nesprávnému nakládání. Vláknata těchto stromů obsahují velké množství lignocelulózy, což ho předurčuje jako zdroj pro výrobu mikro i nanovláknové celulózy.

Rozemleté vlákno je ošetřeno okyseleným 2% chloritanem sodným při teplotě 80 °C po dobu 2 hodin. Tento proces vede k vybělení vzorku. Následně se pro nabobtnání celulózových a hemicelulózových vláken používá 5 % roztok hydroxidu sodného po dobu 5 hodin při 80 °C. Následuje neutralizace do pH 7. Kyselá hydrolyza probíhá při 80 °C po dobu 30 minut s 2,5M kyselinou chlorovodíkovou. Po neutralizaci je vzorek ještě sušen v sušárně (Fouad et al. 2020).

2.8.4 Kokosové vlákno a ananasové listy

V Malaysii se jedná o jedny z nejčastěji se vyskytujících odpadních produktů agroprůmyslu. Kokosové vlákno se vyznačuje dobrou tepelnou vodivostí, nízkou měrnou hmotností a snadným zpracováním.

Listy z ananasů, jakožto další druh odpadu z agrokultury a hospodářství se vyznačuje vysokou pevností, tuhostí a hygroskopicitou. Jedná se o položku snadno dostupnou a levnou, která obsahuje hodně celulózy. Zpracování obou surovin předchází odvoskování a odparařinování rozemletých vzorků za použití toluenu a ethanolu. Následovala filtrace a promytí vodou. Dále se vlákna bělí a delignifikují pomocí chloritanu sodného do požadované čistoty. Opět se vzorky filtrují a promývají vodou do neutrálního pH. Alkalickým zpracováním dojde k extrakci celulózy pomocí hydroxidu sodného. Výsledný očištěný produkt je nakonec sušen v sušárně (Athirah Abdullah et al. 2020).

2.8.5 Káвовá sedlina

Káva celosvětově patří k jednomu z nejdůležitějších produktů zemědělství. K roku 2019 byla její globální produkce dle International Coffee Organization cca 168,87 milionů pytlů kávových zrn. Jeden pytel přitom váží kolem 60 kg. Téměř polovina těchto zrn je určena k produkci kávy rozpustné, což činí zhruba 6 milionů tun kávových zrn ročně. Je tedy zřejmé, že takhle vysoká produkce půjde ruku v ruce s vysokou produkcí odpadu ze zpracování. Tento odpad může představovat nebezpečí především pro životní prostředí, pokud se nenalezne cesta, jak jej dále využít. Vzhledem k tomu, že odpad pochází z kávových zrn, lze předpokládat, že kávová sedlina bude mít velice podobné vlastnosti, jako samotná zrna a mohla by se tedy aplikovat v různých průmyslech. Kávovou sedlinu lze využít například jako substrát pro kultivaci mikroorganismů, jako surovinu pro výrobu bioethanolu, bionafty, biooleje nebo ve směsi s pilinami k výrobě agropaletu pro výrobu energie (Taleb et al. 2020). Díky vysoké výhřevnosti lze kávové zbytky využít i jako palivo v průmyslových kotlích. Také lze sedlinu využít jako substrát k výrobě polyhydroxyalkanoátů (PHA), které jsou rozložitelné a biokompatibilní a mohly by být využívány jako biopolymery k náhradě plastů (Obruca et al. 2015).

Tabulka 2: Chemické složení (Obruca et al. 2015)

Složení kávové sedliny	
Parametr	Obsah [%]
Celulóza	8,6-13,3
Hemicelulóza	30,0-40,0
Proteiny	6,7-13,6
Oleje	10,0-20,0
Lignin	25,0-33,0
Polyfenoly	2,5
Kofein	0,02

Tabulka 2 zobrazuje chemické složení kávové sedliny, kde lze pozorovat, že hlavní složku tvoří hemicelulóza. Konkrétně se jedná hlavně o galaktany a manany. Celulóza se vyskytuje pouze ze zhruba 10 % hm. Vysoký podíl ligninu zvyšuje výhřevnostní hodnotu. Jako polyfenoly se nejvíce vyskytují chlorogenové kyseliny, které jsou vysoce biologicky dostupné a bioaktivní. Největší nebezpečí představuje obsah organických materiálů, kde je třeba velkého množství kyslíku k jejich degradaci. Dále k nebezpečnosti přispívá toxicita kofeinu, polyfenolů a tríslovin, které se v sedlině přirozeně vyskytují (Obruca et al. 2015).

2.8.6 Banánové slupky

Další produkt odpadového hospodářství z potravinářského průmyslu, který je bohatý na celulózu a mohl by tak být využit k izolaci MCC jsou banánové slupky. Slupky se odmastí v 5 % hydroxidu draselném po dobu 14 hodin. Následuje delignifikace pomocí 1 % chloritanu sodného okyseleného kyselinou sírovou do pH 5. Po dvojím bělení následuje opětovné ošetření v hydroxidu draselném a nakonec proběhne kyselá hydrolýza v 1 % kyselině sírové při 80 °C po dobu 1 hodiny pro odstranění minerálů a rozklad amorfních částí celulózy. Pro získání co nejmenších částic je výsledný roztok podroben homogenizaci (Pelissari et al. 2017).

2.8.7 Výlisky z jablečných slupek

Pro odstranění cukrů, fenolických sloučenin a ve vodě rozpustných polysacharidů, se výlisky vaří ve vodní lázni a následně se zfiltrují. Vzorek se poté vloží do 1M kyseliny chlorovodíkové a zahřívá se na 85 °C po dobu 30 minut. Po vakuové filtraci je proces opakován, ale tentokrát za použití 0,5M kyseliny. Po zfiltrování se přidá 1M hydroxid sodný a směs se míchá při teplotě 85 °C po dobu 30 minut. Alkalické ošetření je 3x opakováno a následuje bělení pomocí chlornanu sodného, aby se odstranil lignin. Precipitát je promýván vodou do neutrálního pH. Pro získání MCC musí následovat ještě kyselá hydrolýza (Wang a Zhao 2021).

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité přístroje, chemikálie a materiál

3.1.1 Přístroje

Analytická váha – Ohaus, USA

Centrifuga – Hermle Z 36 HK, Německo

FT-IR spektrometr iS5 – ThermoFisher, USA

FT-IR spektrometr iS50 – ThermoFisher, USA

Homogenizátor – IKA T Ultra Turrax, Německo

Horkovzdušná sušárna – Binder, Česká republika

Hydraulický lis – Trystom H-62, Olomouc

Kompaktní váha do 60 g – Kern, Německo

Kompaktní váha do 300 g – Helago, Korea

Lyofilizátor – Biotrade, Česká republika

Magnetická míchačka – Witeg, Korea

Plynový chromatograf – Thermo Scientific TRACETM 1300 Gas Chromatograph, USA

Soxtherm – Gerhardt, Německo

Statický zkušební stroj (trhačka) – LaborTech, Opava

Ultrazvuková čistička – Elmasonic, Německo

UV-VIS Spektrofotometr – Spekol 1300, Německo

Vakuová odparka – IKA RV06-ML, Německo

3.1.2 Chemikálie

Aceton - Lach-ner, Česká republika

Agar Agar – Roth, Německo

Bromid draselný - Sigma - Aldrich, Česká republika

Celulóza komerční (velikost vláken – střední) - Sigma - Aldrich, Česká republika

Etanol 96 % - Penta s.r.o, Česká republika

Ethylendiamin – P-lab, Česká republika

Glycerol anhydrid - Lach-ner, Česká republika

Hydroxid draselný - Lachema, Česká republika

Hydroxid sodný - Lach-ner, Česká republika

Chloritan sodný - Sigma - Aldrich, Česká republika

Kyselina dusičná - Penta s.r.o, Česká republika

Kyselina chlorovodíková - Lach-ner, Česká republika

Kyselina octová - Lach-ner, Česká republika

Kyselina sírová - Penta s.r.o, Česká republika

Močovina - Sigma - Aldrich, Česká republika

N – Hexan - Penta s.r.o, Česká republika

Peroxid vodíku 30 % - Lach-ner, Česká republika

3.1.3 Lignocelulózový materiál

Hroznové výlisky Vavříček 9/2017, směs odrůd Veltlín zelený a Sauvignon (Břeží u Mikulova)

3.2 Metody pro charakterizaci lignocelulózového materiálu

Před samotným stanovením byly výlisky odmaštěny pomocí Soxthermu. V Tabulka 3 jsou uvedeny nastavené parametry.

Tabulka 3: Nastavené parametry pro Soxtherm

Nastavení programu Soxtherm	
T-klasifikace	300 °C
Extrakční teplota	180 °C
Horká extrakce	2h 30min
Extrakční čas	1h
Celkový čas	4h 1min
Rozpouštědlo	Hexan

3.2.1 Stanovení ligninu

V kyselině rozpustný lignin byl stanoven metodou TAPPI UM 250 a Klasson lignin metodou TAPPI T 222 om-88.

Klasson lignin, neboli lignin nerozpustný v kyselině se stanovil z předem odmaštěných hroznových výlisků. Stanovení probíhalo na dvou vzorcích současně. Navážka 0,5 g výlisků byla postupně přikapáváno 7,5 ml 72 % kyseliny sírové a pomocí skleněné tyčinky byla každých 5 minut po dobu 2 hodin řádně promíchána tak, aby se roztok homogenně rozptýlil do všech částí vzorků. Během tohoto procesu byly kádinky se vzorkem uloženy v ledové lázni. Poté byl vzorek přelit do 250 ml Erlenmeyerovy baňky a doplněn destilovanou vodou tak, aby výsledný roztok byl o koncentraci 3 % kyseliny sírové. Následně se vzorky 4 hodiny vařily a každých 10 minut promíchávaly. Zároveň se průběžně doplňovala horká destilovaná voda tak, aby byl zachován konstantní objem. Vzorek se následně nechal dekantovat a filtrát byl zfiltrován přes fritu S2 a filtrát byl uschován pro stanovení v kyselině rozpustného ligninu. Frita se nechala sušit v horkovzdušné sušárně na 105° C přes noc a následně zvážen (Schwanninger a Hinterstoisser 2002); (Aldaeus a Sjöholm 2011).

Obsah v kyselině nerozpustného ligninu (AIR) se vypočítal dle vzorce č. 1:

$$\text{AIR} = \frac{m}{M} \cdot 1000 \text{ mg/g}$$

m - hmotnost suchého podílu po vysušení v g

M - hmotnost navážky vzorku v g

Filtrát byl změřen na UV-VIS spektrofotometru při vlnové délce 205 nm oproti 3 % kyselině sírové. Obsah v kyselině rozpustného ligninu (ASL) se dále vypočítal dle vzorce: č. 2:

$$ASL = \frac{A \cdot D \cdot V}{a \cdot b \cdot M} \cdot 1000 \text{ mg/g}$$

A - abosorbance při 205 nm

D - ředící faktor

V - objem filtrátu v l

a - extinční koeficient (dle TAPPI 250 110 g/l)

b - délka kyvety v cm

M - hmotnost navážky vzorku v g

3.2.2 Stanovení celulózy

Ze vzorku pomletých a odmaštěných výlisků byl použit 1 g, který byl refluxován 1,5 hodiny ve 100 ml směsi etanolu a kyseliny dusičné v poměru 4:1. Produkt byl zfiltrován přes fritu S2 a promyt vodou. Frita byla sušena v sušárně 1 den při 60 °C. Suchý podíl byl opět refluxován 100 ml destilované vody po dobu 1 hodiny a poté bylo přidáno 70 ml 0,4N hydroxidu sodného a reflux pokračoval další hodinu. Po filtraci a promytí byl produkt bělen 100 ml 3 % chloritananu sodného. Tento vzorek byl opět refluxován po dobu 20 minut. Získaná celulóza byla opět zfiltrována, promyta a sušena při 60 °C, dva dny (Requejoa 2014); (Ghavidel et al. 2020).

3.2.3 Stanovení hemicelulózy

3 g odmaštěného prášku výlisků byly vloženy do Erlenmayerovy baňky a bylo přidáno 80 ml horké destilované vody, 1 g chloritanu sodného a 0,5 ml 96 % kyseliny octové. Tento roztok byl zahříván ve vodní lázni na 70 °C, 1 hod. Po hodině bylo opět přidáno stejné množství kyseliny octové i chloritanu sodného. Tento proces byl opakován 6x. Poté byl vzorek v lázni ponechán přes noc a následně byl zfiltrován přes fritu S1, promyt 10 ml acetonu a destilovanou vodou, dokud nebylo odstraněno žluté zbarvení. Frita byla vysušena na 60 °C, 1 den a poté zvážena (Ghavidel et al. 2020).

3.2.4 Stanovení obsahu lipidů

Obsah mastných kyselin byl stanoven pomocí plynové chromatografie přístrojem Thermo Scientific TRACETM 1300 Gas Chromatograph, USA. Jako vzorek byl použit tuk odmaštěný z hroznových výlisků pomocí Soxthermu (z kapitoly 3.2). 200 mg tohoto vzorku bylo rozpuštěno v 15 ml hexanu. 1,8 ml tohoto roztoku bylo odebráno do vialek, které byly podrobeny GC analýze. Nastavení parametrů GC sestavy jsou uvedeny v Tabulka 4.

Tabulka 4: Nastavení GC sestavy

Kapilární kolona	Zebtron ZB-FAME, o rozměrech 30 m x 0,25 mm x 0,20 µm
Dávkování	Autosampler Thermo Scientific AI 1310
Objem nástřiku vzorku	1 µm
Poměr nástřiku děliče toku	10
Průtok nosného plynu H_2	1 ml/min
Detektor	Plamenově ionizační
Teplota	250 °C
Průtok	Vzduch 350 ml/min, make-up N_2 30 ml/min, H_2 35 ml/min

3.3 Ověření postupů hydrolýzy

Bylo provedeno celkem 5 postupů dostupných z literatury pro hydrolýzu celulózy. Pro každý postup bylo použito 5 g komerční celulózy (ve formě vláken) na 100 ml dané kyseliny. Celulóza byla po hydrolýze centrifugována a promývána destilovanou vodou a následně dialyzována v dialyzační membráně s hraniční molekulovou hmotností 6 – 8 kDa.

Podmínky jednotlivých hydrolýz jsou uvedeny v Tabulka 5.

Tabulka 5: Souhrn postupů pro hydrolýzu (KS=kyselina sírová)

Číslo postupu	Koncentrace kyseliny [%]	Teplota [°C]	Čas [min]	Reference
1	1 KS	80	60	(Pelissari et al. 2017)
2	50 KS	50	40	(Johar et al. 2012)
3	64 KS	45	60	(Coelho et al. 2020)
4	85 KS	40	30	(Rasheed et al. 2021)
5	2,7 HCl	80	30	(Fouad et al. 2020)

3.4 Ověření postupu přípravy celulóзовých nanovláken

Dle postupu Shankar a Rhim 2016 byla připravena celulóza, u které se předpokládá zmenšení velikosti částic z mikro na nano. Bylo smícháno 100 ml 7 % hydroxidu sodného a 100 ml 12 % močoviny. Do tohoto roztoku bylo vloženo 5 g komerční celulózy. směs se míchala 30 min a následně byla vložena do mrazáku při –20° C na 16 h. Po rozmrazení se směs rozmíchala v 500 ml destilované vody. Jakmile byl produkt rozpuštěn, byl homogenizován čím? na 3 000 rpm, 10 min. Dále byl vzorek promýván destilovanou vodou do neutrálního pH a pak vložen do ultrazvuku na 15 min. Tento produkt (získaný po mražení směsi celulózy s hydroxidem a močovinou) bude v rámci práce označován jako C-HMMr.

3.5 Předúprava lignocelulóзовého materiálu

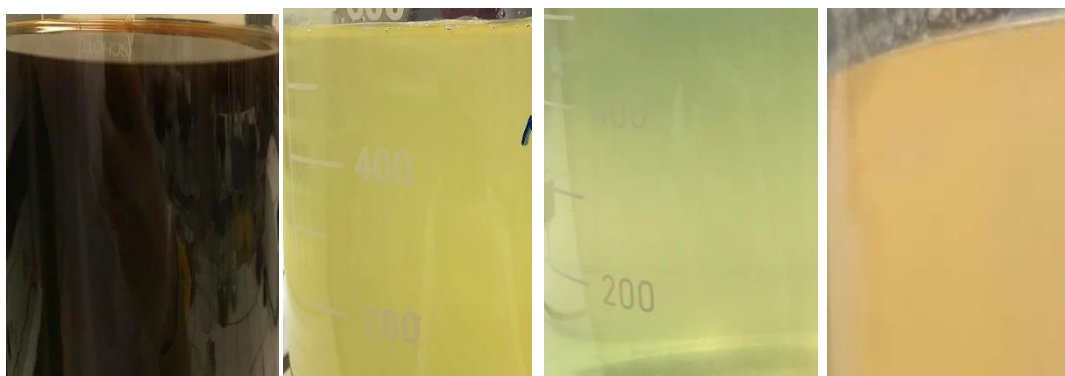
Hroznové výlisky byly sušeny při 40 °C, zbaveny semínek a následně rozemlety na jemný prášek pomocí sekáčkového mixéru. Pomleté výlisky byly naloženy do destilované vody a byly míchány při pokojové teplotě alespoň 12 hodin. Poté byl roztok podroben homogenizaci za použití homogenizátoru při 8 000 rpm, 10 minut a vloženy do ultrazvuku na 10 minut.

3.6 Izolace celulózy z hroznových výlisků

3.6.1 Postup 1

Postup pro izolaci celulózy z hroznových výlisků vychází z odborného článku Pelissari et al. 2017.

10 g vzorku předupraveného dle postupu uvedeného v kapitole 3.3, bylo smícháno s 250 ml 5 % hydroxidu draselného. Směs se míchala při pokojové teplotě 24 hodin. Poté byl roztok promýván destilovanou vodou do dosažení neutrálního pH. K tomuto kroku bylo využito centrifugace, a to vždy při 10 000 rpm, 10 minut, 20 °C. Následně byl odmaštěný pevný podíl bělen pomocí 250 ml 1 % chloritanu sodného, který byl zahříván na 70 °C po dobu 1 hodiny. Bělení bylo aplikováno celkem čtyřikrát, pro získání zcela bílého produktu. Po vybělení byl vzorek opět na 24 hodin naložen do 5 % hydroxidu draselného a následně byl podroben kyselé hydrolýze. Hydrolýza byla provedena v 250 ml 50 % kyseliny sírové, která byla zahřívána na 50 °C po dobu 40 minut (dle postupu Johar et al. 2012). Po hydrolýze byl vzorek promýván destilovanou vodou pomocí opakované centrifugace do pH 5. Poté byl roztok převeden do dialyzační membrány s hraniční molekulovou hmotností 6 – 8 kDa. Po dialýze byl vzorek opět zcentrifugován 10 000 rpm, 15 min při 10 °C. Vzorek byl uchován v lednici při 4 °C. V rámci této práce bude celulóza označována jako MCC1 (mikrokrystalická celulóza z postup 1). Na Obrázku 9 je znázorněna změna barvy v průběhu procesu izolace celulózy.



Obrázek 9: Slitek po 5 % KOH, 1.bělení, 2.bělení, 50 % KS

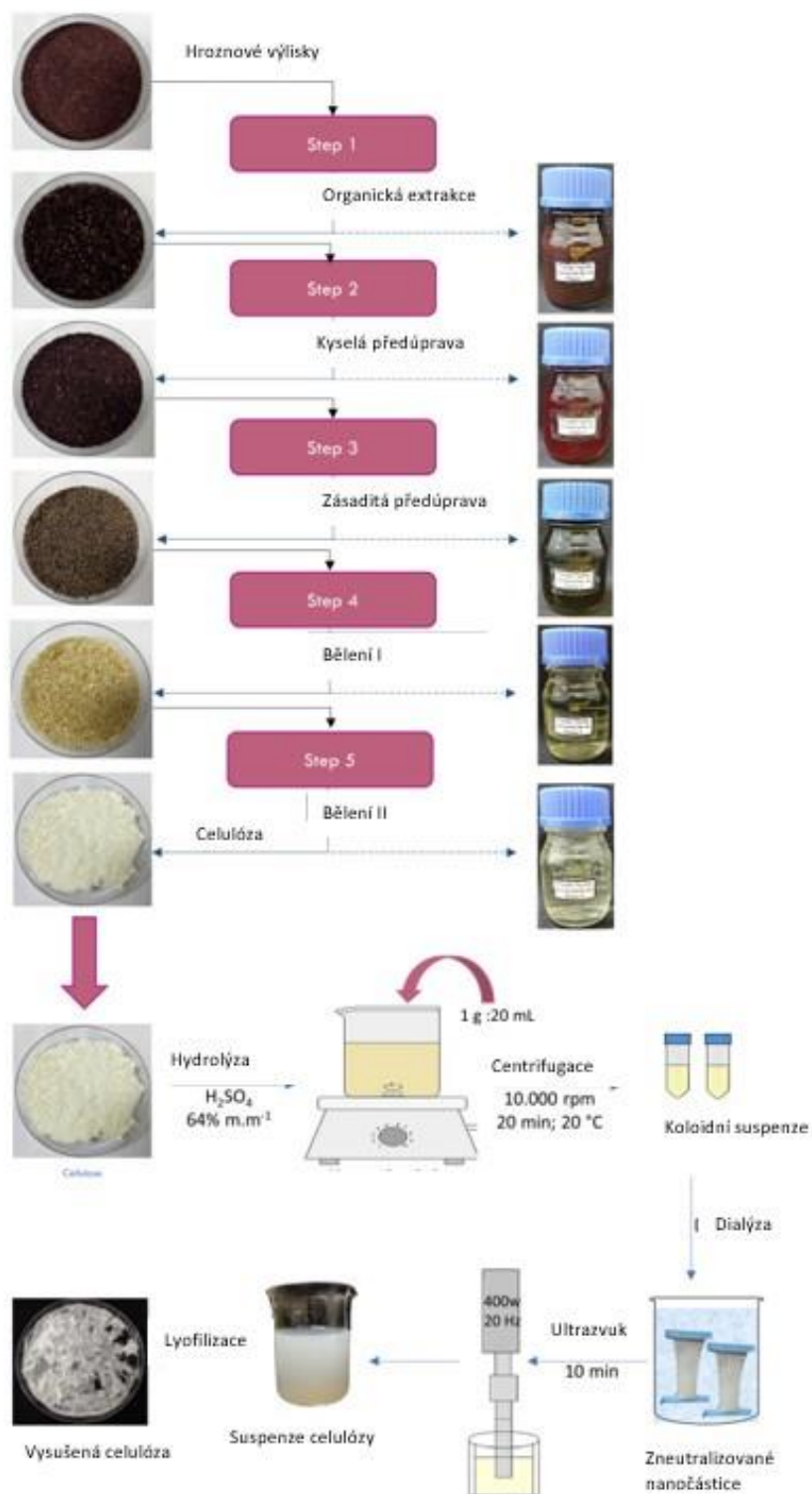
3.6.2 Postup 2

Postup izolace celulózy za použití 64 % kyseliny sírové byl převzat z publikace Coelho et al. 2020.

10 g vzorku předupravených dle kapitoly 3.3 bylo nejprve zahříváno při 75 °C, 3 hodiny v 250 ml 50 % etanolu, pro odstranění vosků, fenolických látek, pigmentů a olejů. Poté byl vzorek zahříván při 90 °C po dobu 5 hodin v 250 ml 2 % kyseliny sírové pro hydrolýzu polysacharidů a polyfenolů rozpustných v kyselém prostředí. Dalším krokem bylo zahřívání v 250 ml 5 % hydroxidu sodného, opět na 75 °C, 5 hodin. Tento krok byl důležitý pro odstranění zbylých hemicelulóz, ligninu a ostatních polysacharidů. Následovalo bělení pomocí 250 ml 5 % peroxidu vodíku při 50 °C, 8 hodin. Mezi všemi kroky byl vzorek promýván destilovanou vodou do neutrálního pH. Následně byla provedena kyselé hydrolýza za použití 64% kyseliny sírové při 45 °C, 1 hodinu. Po promytí vodou a dosažení pH 4 byl opět vzorek dialyzován. Celulóza byla opět uchována v lednici při 4 °C do dalšího použití.

Vyizolovaná celulóza bude v rámci této práce označována jako MCC2 (mikrokrystalická celulóza z postupu 2)

Ilustrační postup izolace MCC je zobrazen na Obrázku 10.



Obrázek 10: Schéma izolace celulózy (Coelho et al. 2020)

3.7 Modifikace celulózy

Celulóza (MCC i C-HMMr) byla modifikována ethylendiaminem tak, že se v poměru 1:25 celulóza/ethylendiamin zahřívala na 70 °C, 3 h, za stálého míchání. Promýváním destilovanou vodou centrifugací (3 500 rpm, 5 min) bylo upraveno pH na neutrální (Bezerra et al. 2017).

V tabulce 6 jsou vysvětleny jednotlivé zkratky používané k označení vzorků připravené celulózy.

Tabulka 6: Vysvětlení používaných zkratk celulózy

Zkratka	Vysvětlivka
MCC1	Mikrokrytalická celulóza připravená dle Postupu 1
MCC2	Mikrokrytalická celulóza připravená dle Postupu 2
C-HMMr	Celulóza upravená hydroxidem, močovinou, mražená
MCCmod	Mikrokrytalická celulóza modifikovaná
C-HMMrmod	Celulóza upravená močovinou, hydroxidem, mražená zmodifikovaná

3.8 Příprava agarových filmů s obsahem mikrokrytalické celulózy

Agarové filmy byly připraveny dle postupu Shankar a Rhim 2016 ze tří druhů celulózy a to vždy ve čtyřech různých koncentracích. Zároveň byl připraven i referenční film bez obsahu celulózy (AB).

Nejprve se po dobu 1 hodiny intenzivně míchal roztok 150 ml vody a daného množství MCC/C- HMMr/MCCmod ve formě vodné suspenze, pro dosažení dokonalé disperze. Celulóza byla přidávána v množství odpovídající 1; 3; 5 a 10 % hmotnosti přidávaného agaru. Následně byly vzorky homogenizovány (9 000 rpm, 10 min) a bylo přidáno 0,9 g glycerolu. Po 20 minutách intenzivního míchání byl roztok zahřát na 95 °C, a byly přidány 3 g agaru. Směs se zahřívala 30 min a pak byla vylita na plastové Petriho misky o průměru 9 cm a to v tloušťce 0,5 cm. Filmy schly při laboratorní teplotě na vzduchu 24 - 48 hodin.

3.9 Morfologie agarových filmů pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM)

Pro zjištění detailní struktury agarových filmů byl použit skenovací elektronový mikroskop. Tato analýza byla prováděna na Akademii věd České republiky v Praze a také na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně.

3.10 Charakterizace velikosti vláken celulózy pomocí transmisního elektronového mikroskopu (TEM)

Pomocí transmisního elektronového mikroskopu byl zjištěn průměr jednotlivých vláken vyizolované celulózy (délka vláken nebyla určována). Tato analýza byla rovněž provedena na Akademii věd České republiky v Praze.

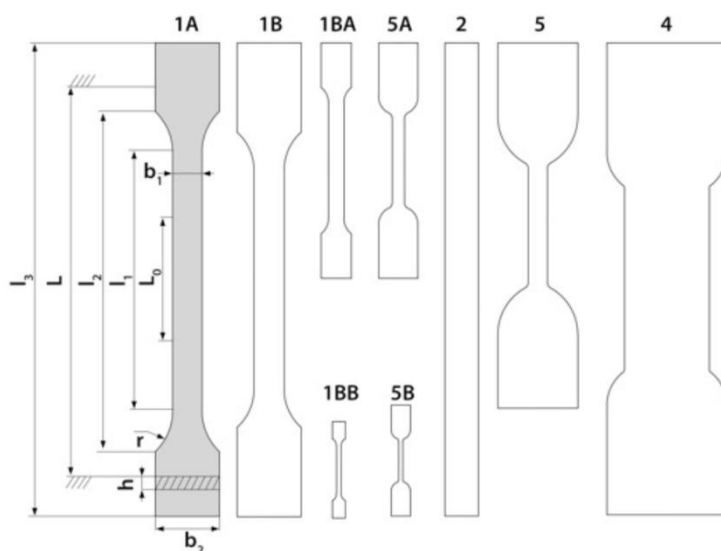
3.11 Stanovení mechanických vlastností agarových filmů

Pro stanovení Youngova modulu pružnosti (E), tažnosti (deformace do přetrhu) (ϵ_p) a meze pevnosti při přetržení (σ_p) byl použit statický zkušební stroj, neboli trhačka. Pomocí hydraulického lisu byly nejprve z každého připraveného filmu, vyražené lopatky o délce 5 cm a šířce v nejužší části 4,1 mm. Rozsah čelistí byl 30 mm. Vzhled lopatky je pro ukázkou uveden na Obrázku 11. Tyto lopatky byly následně podrobovány napětí dle předem definovaného normy EN ISO 527 – 1 : 1996 v programu Test&Motion software.

V rámci programu byly nastaveny podmínky uvedené v Tabulce 7.

Tabulka 7: Podmínky programu Test&Motion

Předzatížení	0,5 N
Rychlost trhání	2 mm/min
Vyhodnocování E	0,1 - 0,3 %



Obrázek 11: Rozměry lopatek na trhačku (Publi.cz)

3.12 Stanovení čistoty celulózy

3.12.1 iS5 FT-IR

Pro měření vibračně rotačního spektra, a tedy pro zjištění jednotlivých vazeb zastoupených ve vzorcích zlyofilizované celulózy a hroznových výlisků byl použit přístroj iS5 FT-IR. Před samotným stanovením byly vzorky sušeny při 80 °C alespoň 2 hodiny tak, aby bylo zajištěné odstranění veškeré vlhkosti, která by mohla interferovat s výsledky. Následně byl na varné desce vysušen KBr. Ve třetí misce byly všechny vzorky i KBr rozetřeny tloučkem na jemný homogenní prášek. Následně byla vytvořena směs, která sestávala z cca 280 mg KBr a 4-5 mg vzorku. Pomocí hydraulického lisu bylo 200 mg této směsi vytlačeno do tablet, které byly následně analyzovány přístrojem FT-IR. Tablety jsou zachyceny na Obrázku 12.



Obrázek 12: Vyrobené KBr tablety pro FT-IR analýzu

3.12.2 iS50 FT-IR ATR

Pro zjištění detailní struktury agarových filmů byl použit přístroj iS50 FT-IR ATR.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Charakterizace lignocelulózového materiálu

Dle postupů uvedených v kapitole 3.2 byl charakterizován lignocelulózový materiál a výsledky jednotlivých stanovení jsou uvedeny v Tabulce 8.

Z Tabulky 8 vyplývá, že v použitém lignocelulózovém materiálu je obsah ligninu, hemicelulózy a celulózy v podstatě rovnocenný.

Obsah celulózy i dalších komponent závisí na několika různých faktorech. Její množství v dané rostlině ovlivňuje její stáří, druh, způsob zpracování a nepochybně i klimatické a geografické podmínky pěstování. Další příčinou různorodých výsledků mohou být i odlišné metody stanovení jednotlivých komponent.

Tabulka 8: Výsledné procentuální zastoupení jednotlivých složek v hroznových výliscích (AIR - v kyselině nerozpustný lignin; ASL – v kyselině rozpustný lignin)

	AIR [%]	ASL [%]	Hemicelulóza [%]	Celulóza [%]	Lipidy [%]
Výsledky	32,4 ± 3,67	0,5 ± 0,002	31,5 ± 2,32	34,2 ± 2,09	7,0 ± 0,32

V Tabulce 9 jsou uvedené naměřené hodnoty z odborných prací. Okoro například ve své práci uvádí obsah celulózy v hroznových výliscích červeného vína 17 %, hemicelulózy 6,8 % a ligninu 56,7 %. Spinei uvádí obsah ligninu v hroznových výliscích 16 - 25 %, obsah celulózy dle odrůdy v rozmezí 8 – 25 % a zastoupení lipidů okolo 8 %. Poborné hodnoty naměřil i Coelho ve své práci. Celulóza je dle Spineiho více zastoupená v bílých odrůdách vín a vyšší zastoupení lipidů je zde zapříčiněno na olej bohatými semínky. Ty byly v této práci před vlastním stanovením odstraněny, tudíž zde vychází zastoupení lipidů nižší. Madadian charakterizoval výlisky z červených hroznů a stanovil obsah ligninu na 38 %, hemicelulózy 26 % a celulózy 19 %. Ilyas uvádí obsah celulózy okolo 30 %, rozsah zastoupeného ligninu 18 – 55 %. A obsah lipidů až 11 %. Mnou naměřené hodnoty se nijak zvlášť neodlišují od těch uvedených v Tabulce 8. Všechny práce uvádí poměrně široké rozpětí zastoupení jednotlivých složek, což opět dokazuje, že záleží na výše uvedených faktorech pěstování rostliny a jejím druhu.

Tabulka 9: Zastoupení jednotlivých složek dle dostupné literatury

Lignin [%]	Hemicelulóza [%]	Celulóza [%]	Lipidy [%]	Reference
57,7	6,8	17	neuvedeno	(Okoro et al. 2021)
16-25	10-40	8-25	8	(Spinei a Oroian 2021)
15	7	20	neuvedeno	(Coelho et al. 2018)
38	26	19	neuvedeno	(Madadian et al. 2022)
18-55	neuvedeno	28-31	4-11	(Ilyas et al. 2021)

Tabulka 10: Procentuální zastoupení MK ve vzorku z GC

Zastoupení MK [%]		
SFA	MUFA	PUFA
57,80	15,70	32,50

Obecně jsou dle Tabulky 10 nejvíce zastoupeny nasycené mastné kyseliny SFA (57,8 %), poté polynenasycené PUFA (32,5 %) a nejméně mononenasycené kyseliny MUFA (15,7 %). Ve zmíněných článcích bylo nejvyšší zastoupení PUFA, dále SFA a nejméně MUFA. Nejvíce byla vždy zastoupená kyselina linolová, dále alfa linolenová, kyselina pamtová, olejová a behenová (Kollathova et al. 2020, Yi et al. 2009, Ribeiro et al. 2015).

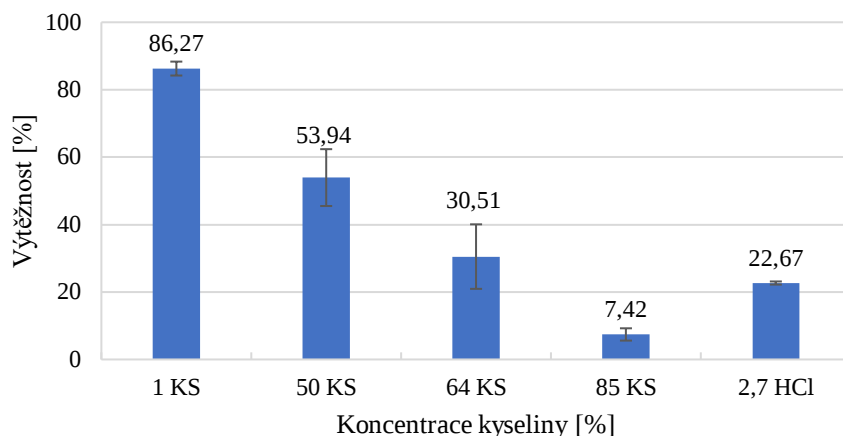
Nižší zastoupení PUFA lze přisuzovat především tomu, že v mém vzorku byla odstraněna semínka hroznů, která obecně obsahují nejvyšší zastoupení PUFA.

4.2 Izolace celulózy

4.2.1 Ověření postupu hydrolýzy

Bylo provedeno celkem 5 postupů dostupných z literatury pro hydrolýzu celulózy. Pro každý postup bylo použito 5 g komerční celulózy (ve formě vláken) na 100 ml dané kyseliny. Byl sledován vliv koncentrace kyseliny a podmínek hydrolýzy na výtěžnost celulózy.

Z Obrázku 13, kde je uveden výsledný procentuální výtěžek u každého způsobu hydrolýzy vyplývá, že s rostoucí koncentrací kyseliny klesá výtěžnost hydrolýzy. Lze předpokládat, že se silou kyseliny se zvyšuje i množství vláken, které hydrolýze podlehnou. Při vyšších koncentracích kyselin může pak dojít k rozpadu nejen amorfních, ale i krystalických řetězců, čímž se výtěžnost celulózy sníží. Hongzhang uvádí, že krystalická forma celulózy může být kompletně rozložena až na glukózu při koncentraci kyseliny sírové 72 %. Hydrolýzu dále ovlivňují faktory jako je teplota, čas a poměr vzorek/kyselina (Hongzhang, 2015). Ačkoli byla nejvyšší výtěžnost dosažena postupem Pelissariho s použitím 1 % kyseliny sírové, struktura vláken se po hydrolýze příliš nezměnila. Z tohoto důvodu byl tento postup vyřazen a hydrolýza hroznových výlisků byla provedena s použitím 50 % a 64 % kyseliny sírové, kde byla výtěžnost 53,94 % a 30,51 %. 2,7 % kyselina chlorovodíková měla výtěžnost 22,67 % a 85 % kyselina sírová pouhých 7,42 %. Z důvodu nízké výtěžnosti celulózy nebyly tyto dva postupy použity pro izolaci.



Obrázek 13: Zhodnocení výtěžnosti jednotlivých typů hydrolýz (KS - kyselina sírová)

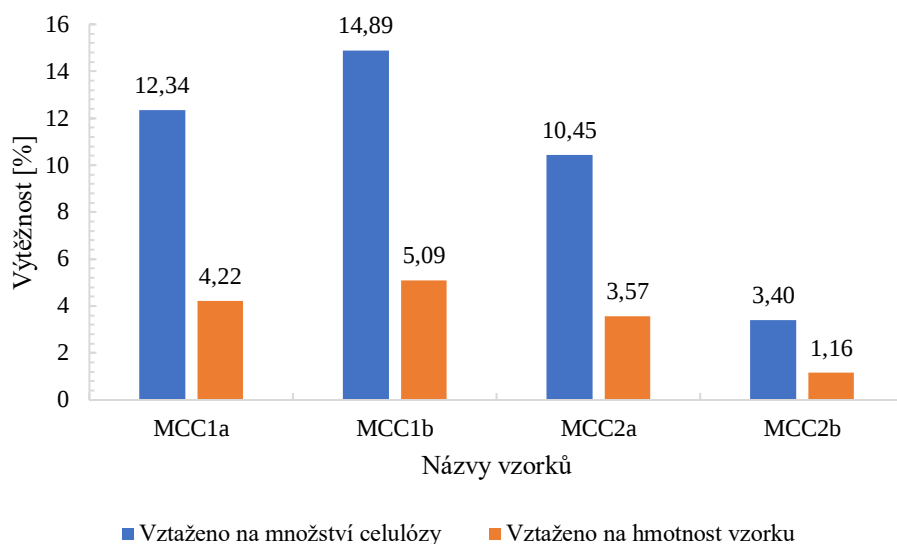
4.2.2 Zhodnocení výtěžnosti mikrokrystalické celulózy

Celulóza byla vždy izolována z 10 g předupravených výlisků. V Obrázku 15 jsou uvedeny výtěžnosti jednotlivých postupů vztažených jak k množství předem stanovené celulózy v hroznových výliscích (34,2 %), tak k výchozímu množství použitých výlisků k izolaci (10 g). Vzorky uvedené na Obrázku 14 jsou charakterizovány v Tabulce 11.

Na Obrázku 14 lze pozorovat, že obecně vyšší výtěžnost měl postup Johara a spol, kde byla použita slabší koncentrace kyseliny sírové (50 %). To odpovídá výsledkům z ověření postupů hydrolýz, kde lze pozorovat stejný trend. Dalším kritickým bodem, který výrazně ovlivňoval množství vyizolované celulózy je teplota. Jak uvádí Tabulka 11, u vzorků MCC1a a MCC2b byla překročena teplota o několik stupňů a u vzorku MCC2b dokonce i doba záhřevu v rámci bělicího procesu. Nepochybně tyto faktory ovlivnily výtěžnost a také proto, je u vzorku MCC2b zhruba čtvrtinový zisk MCC (vztaženo na množství celulózy) než u ostatních vzorků. Odborné články (Coelho et al. 2020, Coelho et al. 2018, Lu a Hsieh 2012) stanovili výtěžnost celulózy z lignocelulóзовého materiálu v rozmezí 10 – 20 %. Výtěžnost byla vztažena na množství vzorku. V případě Coelho et al. 2018 by přepočítaná výtěžnost na množství celulózy činila 51,8 %. V mé práci byla nejvyšší výtěžnost vztažena na hmotnost vzorku 5,09 % a 14,89 % na množství celulózy. Vzorky byly sice vždy zpracovávány paralelně dvakrát dle stejného postupu, ale kvůli změnám uvedených v Tabulce 11 byl každý postup hodnocen samostatně a nebyly tedy stanoveny směrodatné odchylky.

Tabulka11: Poznámky k jednotlivým postupům hydrolýzy

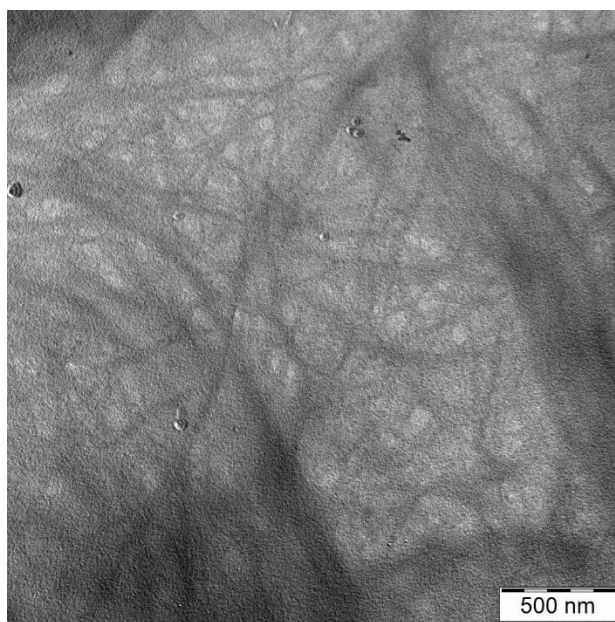
Vzorek	Použitý postup	Poznámka
MCC1a	1	V průběhu hydrolýzy došlo k překročení teploty o 5-10 °C
MCC1b	1	Všechny parametry byly dodrženy
MCC2a	2	Všechny parametry byly dodrženy
MCC2b	2	V průběhu bělení vzorku došlo k překročení doby záhřevu o 2 dny a v procesu hydrolýzy došlo k překročení teploty o 5 °C



Obrázek14: Zhodnocení výtěžností jednotlivých postupů izolace MCC

4.3 Hodnocení velikosti vláken (TEM)

Ze snímků TEM (Obrázek 15) byl stanoven průměr jednotlivých vláken ve vzorcích vyizolované celulózy MCC/C- HMMr/MCCmod. V Tabulce 12 jsou uvedeny naměřené velikosti průměrů jednotlivých částic všech typů připravených celulóz.



Obrázek15: Snímek z TEM vzorku MCC2a

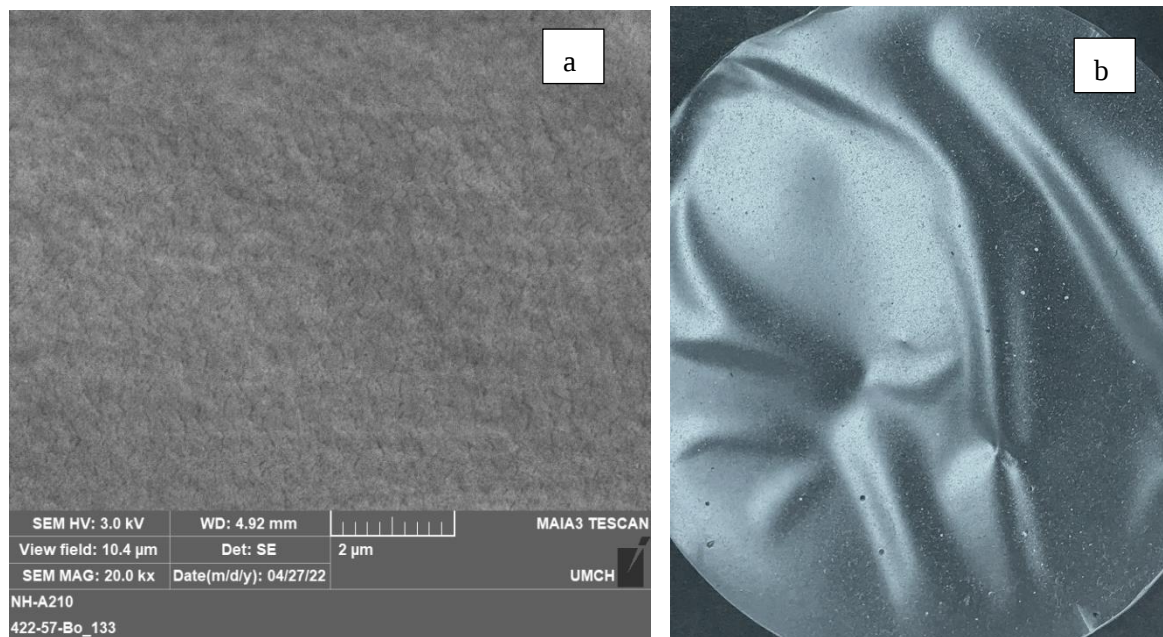
Tabulka 12: Velikost částic ze snímků TEM

Vzorek	Průměr vláken [nm]
MCC1a	15-50
MCC1b	10-45
MCC2a	30-130
MCC2b	20-60
MCCmod	10-50
C-HMMr	0,1-0,2 [μm]

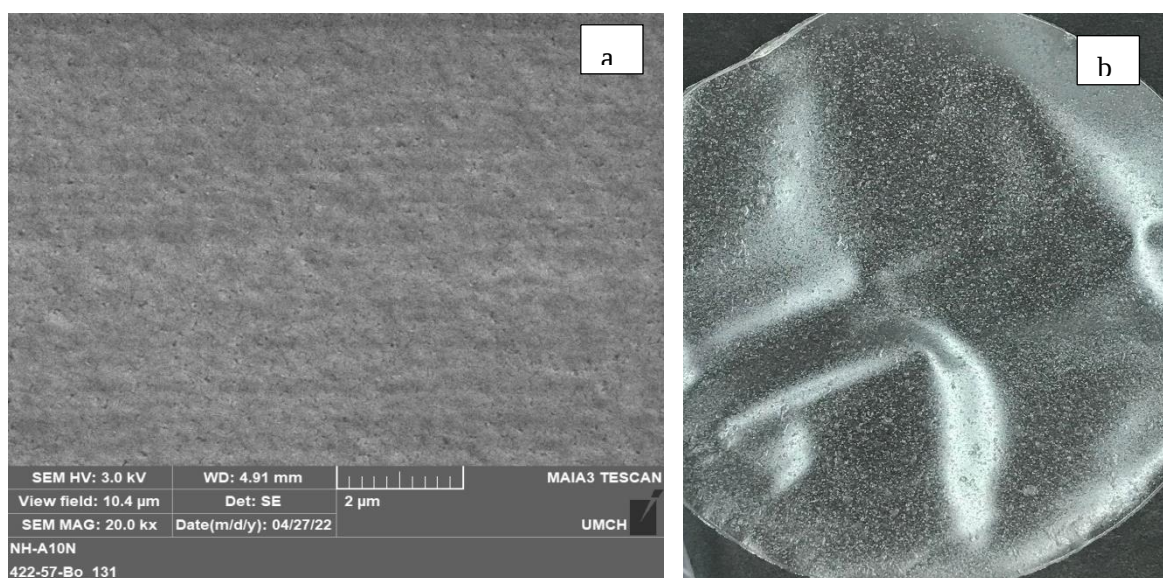
Velký rozdíl ve velikosti částic mezi vzorky MCC2a a MCC2b i přes stejný postup přípravy lze přisuzovat odlišné době a teplotě záhřevu během bělení vzorku a hydrolýzy. Jak již bylo zmíněno, vzorek MCC2b byl zahříván v procesu bělení o několik hodin déle, než bylo doporučeno v postupu a teplota při jeho zahřívání byla také překročena o několik stupňů. V tomto procesu byla sice dosažena menší velikost celulóзовých vláken, ale nicméně výtěžnost vzorku MCC2b byla výrazně nižší, než u vzorku MCC2a. Jak se dalo předpokládat, u vzorku C-HMMr, který nebyl podroben hydrolýze byla naměřena velikost částic větší, než u ostatních vzorků. Z výsledků lze také usuzovat, že modifikace ethylendiaminem nijak neovlivnila velikost částic celulózy.

4.4 Morfologie agarových filmů (SEM)

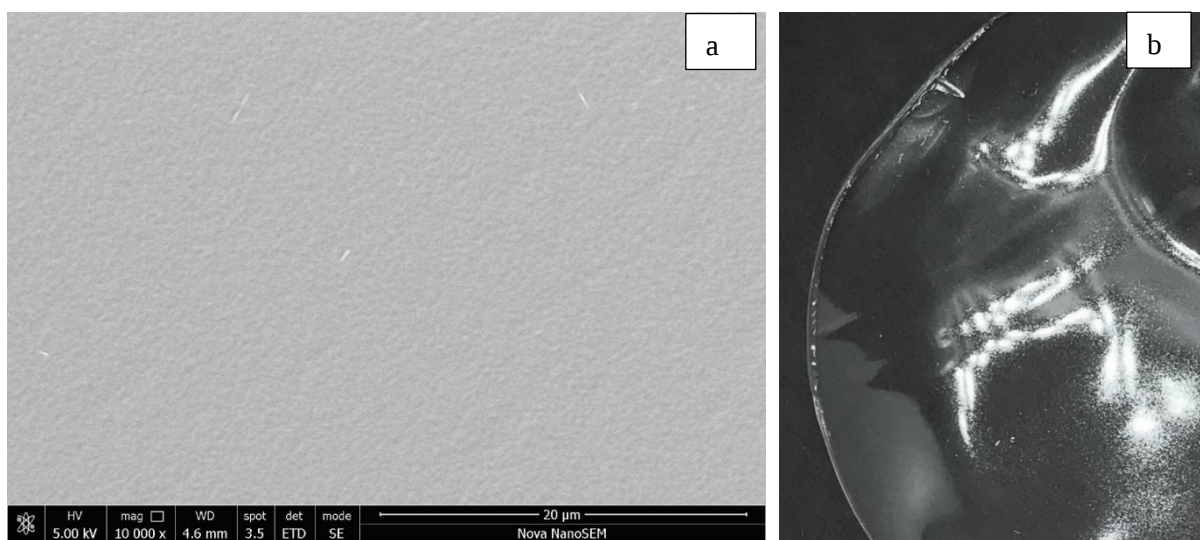
Pomocí skenovacího elektronového mikroskopu byla prozkoumána detailní struktura agarových filmů. Snímky ze SEM potvrdily homogenitu u filmů připravených z MCC na obrázcích 16a a 18a. Naproti tomu filmy připravené z C-HMMr byly nehomogenní (obrázek 17a a 19a). Tuto skutečnost lze pozorovat již pouhým okem (Obrázek 16b – 19b). Postup přípravy nanočástic popsáný v kapitole 3.4 tedy není tak účinný jako kyselá hydrolýza.



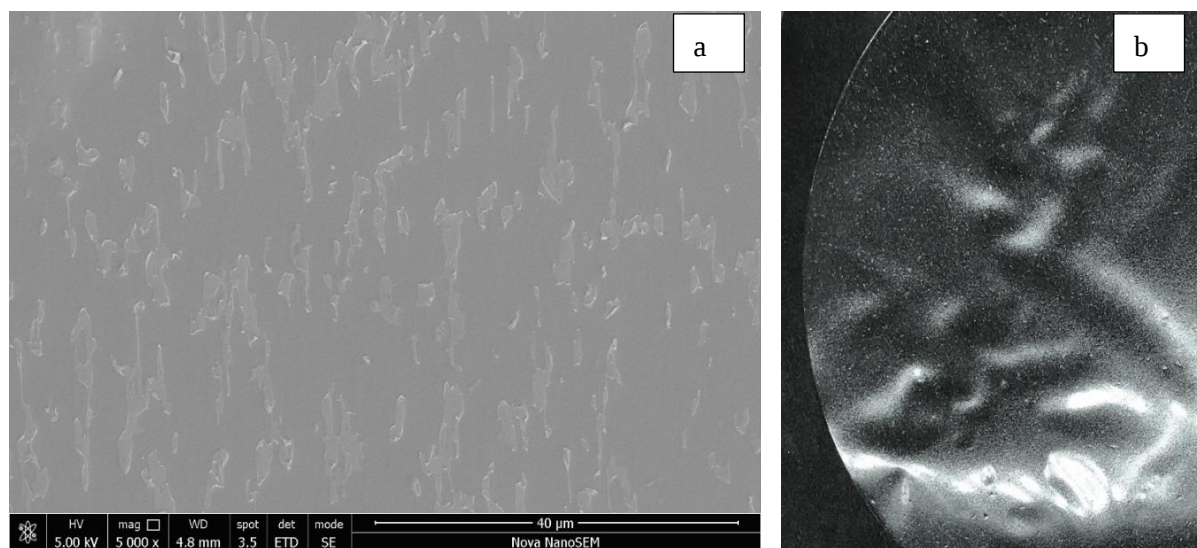
Obrázek 16: a) SEM 10 % MCC; b) snímek z fotoaparátu 10 % MCC



Obrázek 17: a) SEM 10 %CHMMR; b) snímek z fotoaparátu 10 % MCC



Obrázek 18: a) SEM 10 % MCCmod; b) snímek z fotoaparátu 10 % MCCmod

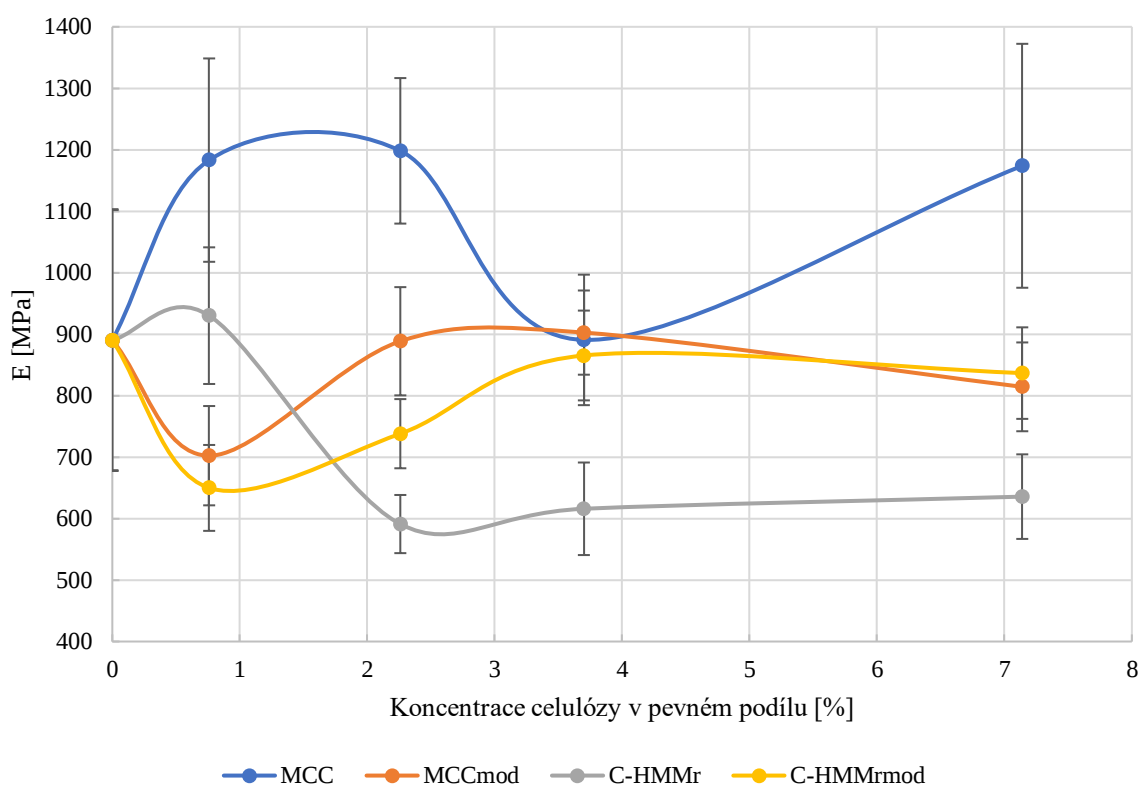


Obrázek 19: a) SEM 10 % C-HMMrmod; b) snímek z fotoaparátu 10 % C-HMMrmod

4.5 Mechanické vlastností agarových filmů s obsahem MCC

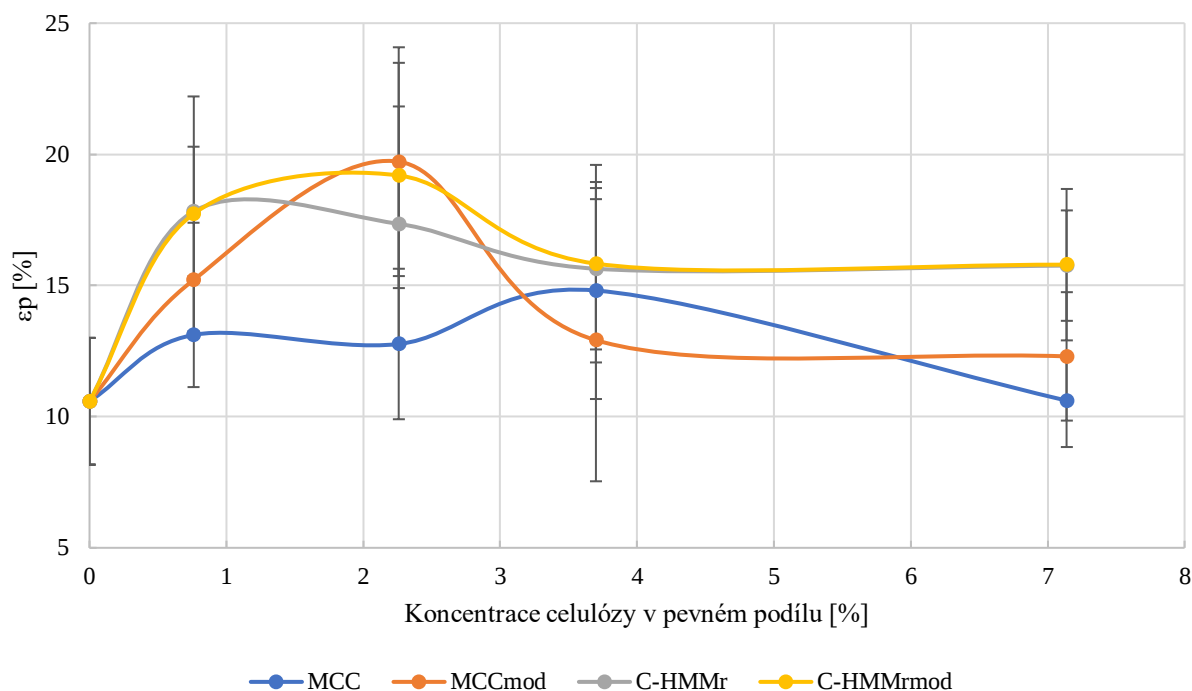
Cílem přidavku MCC do agaru v koncentraci (0,76 – 7,14 %) bylo získat agarové filmy s vyšší tuhostí a kompaktností. V rámci určení a porovnání mechanických vlastností agarových filmů s různými koncentracemi a zdroji celulózy byly měřeny celkem tři parametry, a to Youngův modul pružnosti (E), modul tažnosti při přetržení (ϵ_p) a modul pevnosti při přetržení (σ_p). Byly sledovány změny vlastností v souvislosti s koncentracemi přidané celulózy s účelem určit co nejlepší poměr agaru ku celulóze pro přípravu filmů.

Obrázek 20 ukazuje porovnání a zhodnocení Youngova modulu v závislosti na koncentraci celulózy a způsoby její přípravy. Youngův modul měří deformaci filmu v závislosti na použitém napětí. Největšího zlepšení v porovnání s agarovým filmem bez celulózy (AB), vykazuje MCC. Filmy s celulózou vyizolovanou za použití kyselé hydrolyzy (64 % KS) vykazují zvýšení modulu pružnosti v tahu a tím také zlepšení vlastností. Naopak se dá říct, že zbytek vzorků nepřesáhl 900 MPa naměřenou u AB a v tomto směru tedy žádné zlepšení neprokázaly. V porovnání s agarovým filmem s 0 % celulózy jsou tedy filmy MCCmod, C-HMMr a C-HMMrmod měkčí a poddajnější.



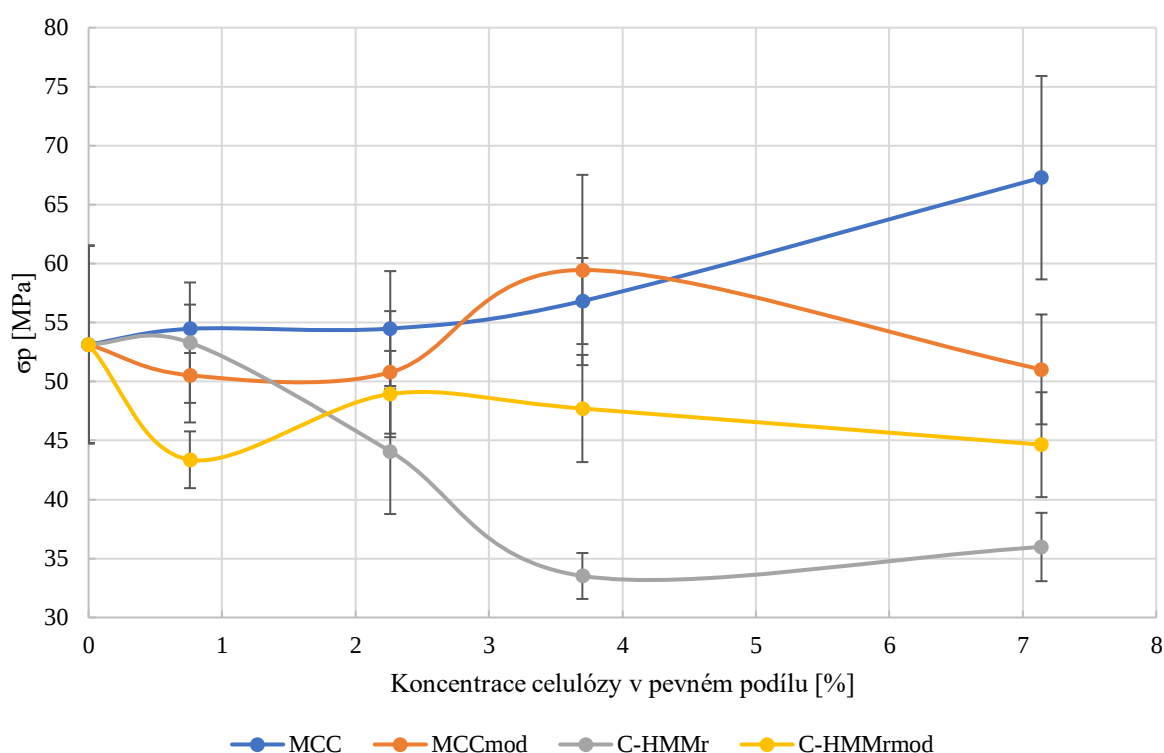
Obrázek 20: Youngův modul pružnosti u všech druhů agarových filmů

Na Obrázku 21 lze pozorovat vliv použité koncentrace na křehkost filmů. Z obrázku vyplývá, že se zvyšujícím množstvím celulózy se mez tažnosti při přetržení snižuje. Tento fakt může být následkem vodíkové vazby mezi hydroxylovými skupinami polysacharidu a hydroxylovými a karboxylovými skupinami celulózy (Pan et al. 2020). I přes snižující se tažnosti při přetržení s přibývajícím množstvím celulózy je patrné, že se vlastnost u všech filmů nepatrně zlepšila oproti AB, který má ϵ_p 10,6 %. Snižující se trend modulu tažnosti při přetržení byl pozorován i v článku Pan et al. 2020 a byl přisuzován snížení soudržnosti matrice s nárůstem obsahu MCC. Oba typy modifikované celulózy v nižších koncentracích však pružnost zvýšily.



Obrázek 21: Mez tažnosti při přetržení u všech druhů agarových filmů

Obrázek 22 ukazuje výsledky měření meze pevnosti při přetržení v souvislosti s obsahem celulózy v agarových filmech. Mez pevnosti při přetržení je maximální tahové napětí, které film během zkoušky vydrží. Je patrné, že se modul postupně s množstvím MCC zvyšuje. U C-HMMr je tomu naopak. U modifikovaných filmů je trend proměnlivý a lze říct, že všechny modifikované filmy nezávisle na obsahu celulózy vykazují stejné, nebo horší vlastnosti než AB. Stejný vzestup σ_p s přibývajícím koncentrací celulózy, jako má vzorek MCC byl pozorován i v pracích Yadav et al. 2020; Coelho et al. 2020; Pan et al. 2020. Pan et al. ve své práci ale poznamenal, že tento trend není nekonečný. Při koncentraci celulózy 20 % došlo v důsledku nadměrného množství celulózy k aglomeraci s matricí a tím ke změně struktury a zhoršení mechanických vlastností (E , σ_p). Stejným argumentem lze obhájit i špatné vlastnosti C-HMMr, jelikož velikost částic tohoto vzorku byla výrazně větší (v μm), než velikost MCC (nm). Dá se tedy vyvodit, že E , σ_p jsou nepřímo úměrné velikosti vláken celulózy.



Obrázek 22: Mez pevnosti při přetržení u všech typů agarových filmů

Maulida et al. 2016; Yadav et al. 2020; Coelho et al. 2020; Pan et al. 2020 ve svých pracích došli k závěru, že s přibývajícím množstvím mikrokystalické celulózy se zvyšuje mez pevnosti a Youngův modul pružnosti, zatímco se mez tažnosti snižuje. Na základě dat uvedených na obrázcích 20 – 22 lze říct, že se s přibývajícím množstvím MCC celulózy posiluje pevnost a pružnost materiálu. Zároveň ale dochází ke snižování meze tažnosti, tedy ke zvýšení křehkosti filmů. Křehkost by se dala dále ovlivnit zvýšením množství přidávaného změkčovadla. Dále lze z obrázků pozorovat závislost mechanických vlastností na velikosti částic. Čím větší částice jsou, tím horší vykazují E , σ_p . Avšak na ϵ_p měla větší velikost částic spíše pozitivní vliv. Yadav et al. předpokládá, že snižování ϵ_p s rostoucí koncentrací je způsobeno menší dostupností kontaktu plnidlo-polymer. Je tedy možné, že u nehomogenních filmů byla přístupnost na rozhraní plnidlo-agar vyšší a tím byla zvýšena i hodnota ϵ_p .

4.6 Stanovení čistoty celulózy a agarových filmů

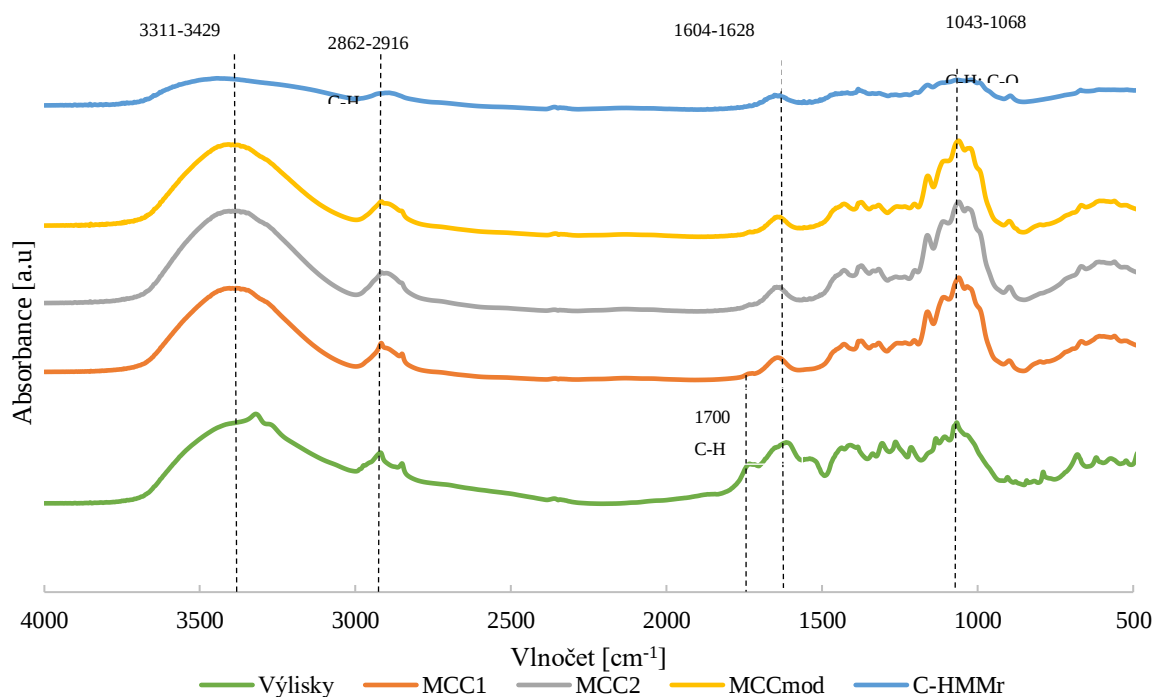
4.6.1 FT-IR

Obrázek 23 znázorňuje FT-IR spektrum vyizolované hydrolyzované celulózy (MCC), modifikované celulózy (MCCmod), komerční celulózy upravené dle kapitoly 3.4 (C.HMMr) a pomletých hroznových výlisků. Podrobné vysvětlení zkratk je uvedeno v Tabulce 13. Pomocí FT-IR spektra je možné určit fyzikálně-chemické a konformační vlastnosti materiálu prostřednictvím identifikace funkčních skupin materiálu.

Tabulka13: Vysvětlivky jednotlivých zkratk

Název vzorku	Vysvětlivky
MCC1	Dle postupu 1 v kap. 3.6.1
MCC2	Dle postupu 2 v kap. 3.6.2
C- HMMr	Dle postupu 3.4
MCCmod	Modifikace izolované a hydrolyzované ethylendiaminem
Výlisky	Pomleté a vysušené

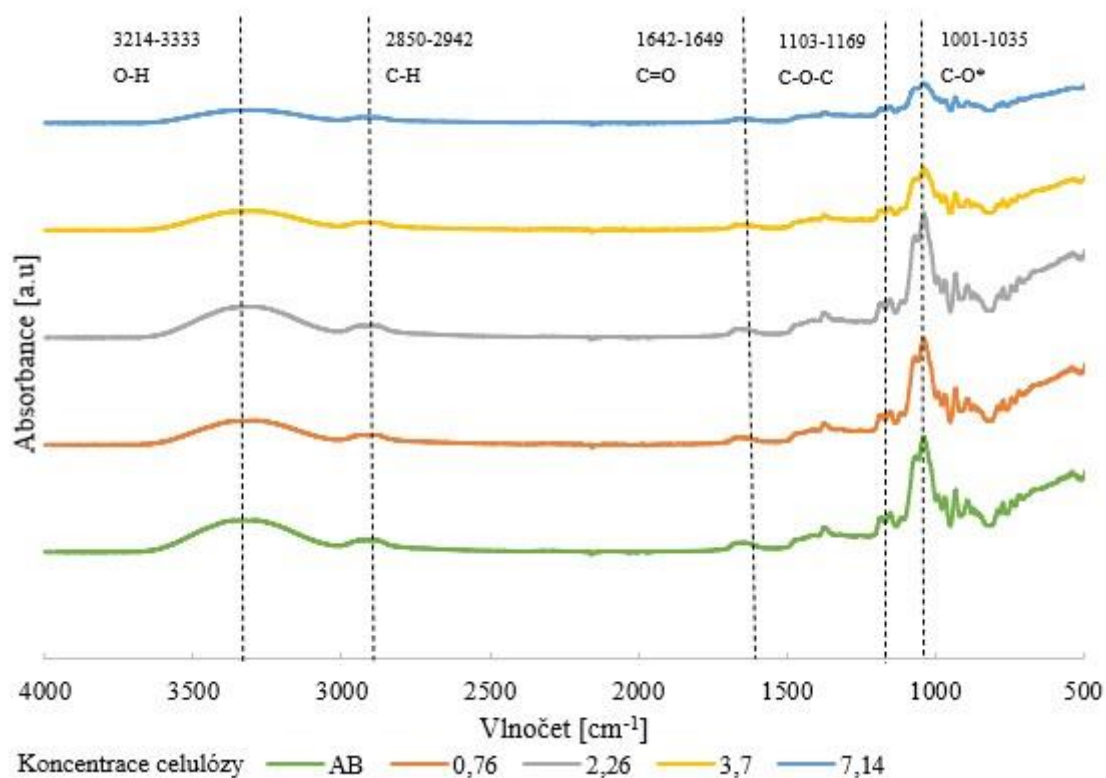
Vrchol v blízkosti $3311 - 3429 \text{ cm}^{-1}$, který byl pozorován ve všech vzorcích dle Obrázku 23, je představitelem skupin CH a OH. Vyšší hodnoty u zpracovaných vzorků oproti výliskům ve své práci pozorovali i Leite et al. 2017 a přisuzovali tento fakt vyšší krystalinitě hydrolyzované celulózy. Vrchol kolem 1640 cm^{-1} ve všech spektrech odpovídá absorpci vody. Obě sady píků jsou připisovány protahování vodíkových vazeb a ohýbání hydroxylových (OH) skupin vázaných na celulóзовou strukturu. Tyto výsledky naznačují, že v rámci kyselé hydrolýzy nedošlo k rozkladu celulózy. Ve spektru odpovídajícím neošetřeným hroznovým slupkám bylo pozorováno rameno kolem 1700 cm^{-1} . Připisuje se acetylovým a esterovým skupinám v hemicelulóze nebo skupinám karboxylové kyseliny ve ferulové a p-kumerní složce ligninu. Pík zmizí po chemickém ošetření slupek, což ukazuje na odstranění necelulóзовých materiálů (Johar et al. 2012). Ve své práci Trache et al. 2016 také připisuje píky okolo $1600 - 1640 \text{ cm}^{-1}$ absorpci vody celulóзou způsobenou silnou vzájemnou interakcí. Absorpční pásy přítomné v rozpětí okolo 1400 cm^{-1} jsou způsobeny intermolekulární přitažlivostí vodíku na C6 aromatické kruhové skupiny, která je nejvyšší ve vzorcích s MCC. Píky v rozmezí $1040 - 1070 \text{ cm}^{-1}$ ukazují C-H natahovací vibraci C-O a tím potvrzují strukturu celulózy (Johar et al. 2012). I Trache ve své práci pozoruje ojedinělý pík pouze u nezpracovaného vzorku, který poukazuje na přítomnost ligninu. Alkalické ošetření naruší glykosidickou vazbu mezi ligninem a dalšími sacharidovými frakcemi, díky čemuž tento pík není pozorovatelný u zpracovaných vzorků. Píky pohybující se okolo $2800 - 2900 \text{ cm}^{-1}$ připisuje krystalické struktuře celulózy (Trache et al. 2016).



Obrázek 23: FT-IR spektrum Jednotlivých druhů celulóз v porovnání s hroznovými výlisky

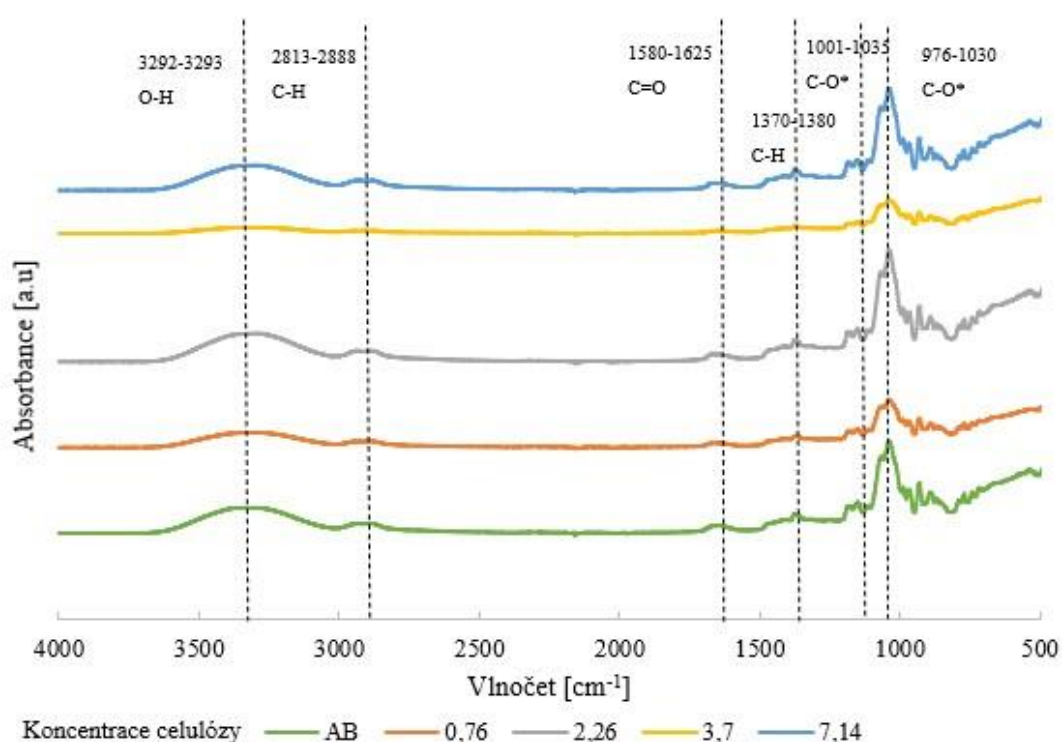
4.6.2 FT-IR ATR

Na Obrázku 24 je znázorněno FT-IR spektrum agarových filmů připravených s různými koncentracemi vyizolované hydrolyzované celulózy (MCC). Pomocí FT-IR spektra je možné určit fyzikálně-chemické a konformační vlastnosti materiálu prostřednictvím identifikace funkčních skupin. Na základě těchto rozmezí vlnových délek byla každé skupině píků přiřazena daná funkční skupina. V nejvyšších vlnočtech se pohyboval nejširší pík v rozmezí vlnových délek $3333 - 3214 \text{ cm}^{-1}$, který byl stanoven jako O-H skupina kyselin. Zde lze také pozorovat, že se zvyšující se koncentrací celulózy docházelo ke snižování vlnočtu. Stejný jev pozoroval ve svém článku také Abdul Khalil et al. 2018, kde tento jev přisuzoval zvyšování krystalinity celulózy. V mém případě lze tedy předpokládat, že při zvyšujících se koncentracích celulózy ve filmu také mírně stoupá krystalinita celulózy a má tedy vliv na vlnovou délku. Píky v rozmezí vlnových délek $2942 - 2850 \text{ cm}^{-1}$, byly přiřazeny funkční skupině C-H. Další signifikantní pík se pohyboval v rozmezích $1642 - 1649 \text{ cm}^{-1}$ odpovídá absorpci vody. Jak uvádí Abdul Khalil et al. 2018 ve své práci, mohl by tento vrchol souviset s natahováním vodíkových vazeb a ohybem molekuly vody v rámci interakce mezi vodou a celulózou. Některé studie uvádí, že by tento pík mohl být indikován přítomností malého množství hemicelulózy v důsledku oxidace C-OH skupiny. Pík s vlnočtem $1376 - 1391 \text{ cm}^{-1}$ byl přiřazen skupinám CH a CH_2 . Pík $1103 - 1169 \text{ cm}^{-1}$ odpovídá C-O-C vazbě v β -1,4-glykosydicke vazbě celulózy. Nejnižší vlnová délka $1035 - 1001 \text{ cm}^{-1}$ by mohla odpovídat valenčním vibracím C-O polysacharidů.



Obrázek 24: Výsledky FT-IR agarových filmů s koncentrací MCC %

Obrázek 25 zobrazuje FT-IR spektrum naměřené pro filmy z agaru za použití různých koncentrací komerční celulózy (C-HMMR). Dle vlnových délek, které se příliš neliší od těch naměřených pro MCC byla vždy každé skupině píky přiřazená stejná funkční skupina, jako u MCC filmů. Již podle obrázku lze říct, že zde nejsou patrné žádné zásadní změny v porovnání s obrázkem pro MCC. Dalo by se ale říct, že C-HMMR nevykazuje tak spolehlivé a jednotvárné chování v rámci změny koncentrace zastoupení C-HMMR ve filmech, kdežto například u prvního píky pro MCC lze tento trend velmi krásně pozorovat. C-HMMR se v zásadě chová velmi neuspořádaně a tento fakt bych přisuzovala nehomogennímu rozptylu vláken C-HMMR ve filmech, které bylo možné pozorovat již na snímcích SEM.



Obrázek 25: Výsledky FT-IR agarových filmů s koncentrací C-HMMR 1-10 %

5 ZÁVĚR

Předložená diplomová práce se zabývá izolací mikrokrystalické celulózy z hroznových výlisků, jakožto odpadu potravinářského průmyslu. Ze získané MCC byly připraveny agarové filmy, které by mohly sloužit jako biologicky rozložitelný obalový materiál. Byl sledován vliv přídavku celulózy na mechanické a strukturní vlastnosti filmů.

Před zpracováním lignocelulóзовého materiálu bylo prověřeno 5 postupů kyselé hydrolýzy (na vzorku komerční celulózy). Jako nejvhodnější byly vybrány postupy za použití 50% kyseliny sírové s výtěžností MCC 53,9 % a za použití 64% kyseliny sírové s výtěžností MCC 30,5 %.

Dále byl na vzorku komerční celulózy ověřen postup přípravy celulóзовých nanovláken za použití močoviny a hydroxidu a následného zmrazení směsi při -20 °C. Z tohoto vzorku byly také připraveny agarové filmy a byly sledovány vlivy na obohacení mechanických vlastností.

Hroznové výlisky Vavříček 9/2017 (směs odrůd Veltlín zelený a Sauvignon) obsahovaly 34,2 % celulózy, dále pak 32,9 % ligninu 31,51 % hemicelulózy a 7,03 % lipidů. Celulóza byla z hroznových výlisků izolována dvěma postupy. V prvním byly výlisky odmaštěny v hydroxidu draselném a běleny chloritanem sodným. Ve druhém odmaštěny etanolem a běleny peroxidem vodíku.

Izolace MCC byla následně provedena dvěma postupy vždy dvakrát. Výtěžnost MCC se pohybovala v rozmezí 3-14 % (vztaženo k obsahu celulózy ve vzorku).

U vyizolované celulózy byla stanovena její čistota pomocí FT-IR, kde byly vzorky porovnány se vzorkem hroznových výlisků. Bylo prokázáno, že vzorky izolované celulózy byly kompletně zbaveny všech fenolických látek a u zpracovaných vzorků byla zdůrazněna krystalinita celulózy. Pomocí TEM byla posouzena morfologie celulózy. Průměr vyizolovaných vláken se pohyboval 15-130 nm. Tímto byla potvrzena izolace nanokrystalické celulózy.

Vyizolovaná celulóza byla dále použita pro přípravu agarových filmů. Filmy byly připraveny metodou lití. U filmů byly měřeny mechanické vlastnosti (Youngův modul pružnosti, modul pevnosti při přetržení a modul tažnosti při přetržení). Z naměřených hodnot vyplývá, že s rostoucí koncentrací celulózy se zvyšuje Youngův modul i pevnost při přetržení a zároveň klesala tažnost při přetržení – filmy byly křehčí. Tyto výsledky jsou stejné jako literatura.

6 LITERATURA

ABDUL KHALIL, H. P.S., Tze Kiat LAI, Ying Ying TYE, M. T. PARIDAH, M. R. Nurul FAZITA, A. A. AZNIWATI, Rudi DUNGANI a Samsul RIZAL, 2018. Preparation and Characterization of Microcrystalline Cellulose from Sacred Bali Bamboo as Reinforcing Filler in Seaweed-based Composite Film. *Fibers and Polymers* [online]. **19**(2), 423–434. ISSN 12299197. Dostupné z: doi:10.1007/s12221-018-7672-7

ALDAEUS, Fredrik a Elisabeth SJÖHOLM, 2011. COST Action FP0901 Round Robins of lignin samples – Part 1: Lignin content. *Innventia Report No.: IR 108*. (December), 1–23.

ATHIRAH ABDULLAH, Nur, Muhammad HANIF SAINORUDIN, Nilofar ASIM, Masita MOHAMMAD, Nurul HUDA ABD KADIR a Zahira YAAKOB, 2020. Extraction of Microcrystalline Cellulose from Two Different Agriculture Waste via Chemical Treatment. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* [online]. **739**(1). ISSN 1757899X. Dostupné z: doi:10.1088/1757-899X/739/1/012017

AZUM, Naved, Mohammad JAWAID, Lau Kia KIAN, Anish KHAN a Maha Moteb ALOTAIBI, 2021. Extraction of microcrystalline cellulose from washingtonia fibre and its characterization. *Polymers* [online]. **13**(18), 1–11. ISSN 20734360. Dostupné z: doi:10.3390/polym13183030

BEZERRA, Roosevelt D.S., Régis C. LEAL, Mateus S. DA SILVA, Alan I.S. MORAIS, Thiago H.C. MARQUES, Josy A. OSAJIMA, Andréia B. MENEGUIN, Hernane da S. BARUD a Edson C. DA SILVA FILHO, 2017. Direct modification of microcrystalline cellulose with ethylenediamine for use as adsorbent for removal amitriptyline drug from environment. *Molecules* [online]. **22**(11). ISSN 14203049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22112039

COELHO, Caroline C.S., Michele MICHELIN, Miguel A. CERQUEIRA, Catarina GONÇALVES, Renata V. TONON, Lorenzo M. PASTRANA, Otniel FREITAS-SILVA, António A. VICENTE, Lourdes M.C. CABRAL a José A. TEIXEIRA, 2018. Cellulose nanocrystals from grape pomace: Production, properties and cytotoxicity assessment. *Carbohydrate Polymers* [online]. **192**(November 2017), 327–336. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2018.03.023

COELHO, Caroline Corrêa de Souza, Raysa Brandão Soares SILVA, Carlos Wanderlei Piler CARVALHO, André Linhares ROSSI, José António TEIXEIRA, Otniel FREITAS-SILVA a Lourdes Maria Correa CABRAL, 2020. Cellulose nanocrystals from grape pomace and their use for the development of starch-based nanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. **159**, 1048–1061. ISSN 18790003. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.05.046

DU, Xu, Zhe ZHANG, Wei LIU a Yulin DENG, 2017. *Nanocellulose-based conductive materials and their emerging applications in energy devices - A review* [online]. 1. květen 2017. B.m.: Elsevier Ltd. ISSN 22112855. Dostupné z: doi:10.1016/j.nanoen.2017.04.001

FONTANA, José D., Heidegrid S. KOOP, Marcela TIBONI, Adelia GRZYBOWSKI, Aline PEREIRA, Cassandra D. KRUGER, Mônica G.R. DA SILVA a Leonardo P. WIELEWSKI, 2017. New Insights on Bacterial Cellulose. In: *Food Biosynthesis* [online]. B.m.: Elsevier, s. 213–249. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-811372-1.00007-5

FOUAD, H., Lau Kia KIAN, Mohammad JAWAID, Majed D. ALOTAIBI, Othman Y. ALOTHMAN a Mohamed HASHEM, 2020. Characterization of microcrystalline cellulose isolated from conocarpus fiber. *Polymers* [online]. **12**(12), 1–11. ISSN 20734360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12122926

- FRASSOLDATI, Alessio. a Eliseo. RANZI, 2019. Modeling of Thermochemical Conversion of Biomasses. In: *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering* [online]. B.m.: Elsevier. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-409547-2.11625-7
- GHAVIDEL, Amir, Tamás HOFMANN, Miklós BAK, Ion SANDU a Viorica VASILACHE, 2020. Comparative archaeometric characterization of recent and historical oak (*Quercus* spp.) wood. *Wood Science and Technology* [online]. **54**(5), 1121–1137. ISSN 14325225. Dostupné z: doi:10.1007/s00226-020-01202-4
- GOLMOHAMMADI, Hamed, Eden MORALES-NARVÁEZ, Tina NAGHDI a Arben MERKOÇI, 2017. Nanocellulose in Sensing and Biosensing. *Chemistry of Materials* [online]. **29**(13), 5426–5446. ISSN 15205002. Dostupné z: doi:10.1021/acs.chemmater.7b01170
- GREGORY, Abigail a G.Paul BOLWELL, 1999. Hemicelluloses. In: *Comprehensive Natural Products Chemistry* [online]. B.m.: Elsevier, s. 599–615. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-08-091283-7.00084-9
- ILYAS, Talat, Pankaj CHOWDHARY, Deepshi CHAURASIA, Edgard GNANSOUNOU, Ashok PANDEY a Preeti CHATURVEDI, 2021. Sustainable green processing of grape pomace for the production of value-added products: An overview. *Environmental Technology and Innovation* [online]. **23**, 101592. ISSN 23521864. Dostupné z: doi:10.1016/j.eti.2021.101592
- JEON, Wooyoung, Yeu Chun KIM, Minhee HONG, Sanoj REJINOLD, Kyoungmoon PARK, Injoong YOON, Sungsik YOO, Hongweon LEE a Jungoh AHN, 2018. Microcrystalline Cellulose for Delivery of Recombinant Protein-Based Antigen against Erysipelas in Mice. *BioMed Research International* [online]. **2018**. ISSN 23146141. Dostupné z: doi:10.1155/2018/7670505
- JOHAR, Nurain, Ishak AHMAD a Alain DUFRESNE, 2012. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. *Industrial Crops and Products* [online]. **37**(1), 93–99. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2011.12.016
- KANG, Hongliang, Ruigang LIU a Yong HUANG, 2015. Graft modification of cellulose: Methods, properties and applications. *Polymer* [online]. **70**, A1–A16. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2015.05.041
- KOLLATHOVA, Renata, Ondrej HANUŠOVSKÝ, Branislav GALIK, Daniel BIRO, Milan ŠIMKO, Miroslav JURÁČEK, Michal ROLINEC, Reinhard PUNTIGAM, Julia Andrea SLAMA a Martin GIERUS, 2020. Fatty acid profile analysis of grape by-products from Slovakia and Austria. *Acta Fytotechnica et Zootechnica* [online]. **23**(2), 78–84. ISSN 13369245. Dostupné z: doi:10.15414/AFZ.2020.23.02.78-84
- KRISHNAMACHARI, Parakalan, Raed HASHAIKEH a Mike TINER, 2011. Modified cellulose morphologies and its composites; SEM and TEM analysis. *Micron* [online]. **42**(8), 751–761. ISSN 09684328. Dostupné z: doi:10.1016/j.micron.2011.05.001
- KUMAR RAI, Gangesh a V.P. SINGH, 2021. Study of fabrication and analysis of nanocellulose reinforced polymer matrix composites. *Materials Today: Proceedings* [online]. **38**, 85–88. ISSN 22147853. Dostupné z: doi:10.1016/j.matpr.2020.06.018
- LEITE, Anna Leticia Moron Pereira, Caroline Dalcin ZANON a Florencia Cecilia MENEGALLI, 2017. Isolation and characterization of cellulose nanofibers from cassava root bagasse and peelings. *Carbohydrate Polymers* [online]. **157**, 962–970. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2016.10.048
- LI, Li, Jack S. ROWBOTHAM, H. CHRISTOPHER GREENWELL a Philip W. DYER, 2013. An

- Science* [online]. **505**, 154–167. ISSN 10957103. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcis.2017.05.106
- PHANTHONG, Patchiya, Prasert REUBROYCHAROEN, Xiaogang HAO, Guangwen XU, Abuliti ABUDULA a Guoqing GUAN, 2018. Nanocellulose: Extraction and application. *Carbon Resources Conversion* [online]. **1**(1), 32–43. ISSN 25889133. Dostupné z: doi:10.1016/j.crcon.2018.05.004
- PIĄTEK, Michał, Aleksander LISOWSKI a Magdalena DĄBROWSKA, 2021. Surface-Related Kinetic Models for Anaerobic Digestion of Microcrystalline Cellulose: The Role of Particle Size. *Materials* [online]. **14**(3), 487. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma14030487
- RASHEED, Masrat, Mohammad JAWAID, Bisma PARVEEZ, Aamir Hussain BHAT a Salman ALAMERY, 2021. Morphology, structural, thermal, and tensile properties of bamboo microcrystalline cellulose/poly(Lactic acid)/poly(butylene succinate) composites. *Polymers* [online]. **13**(3), 1–15. ISSN 20734360. Dostupné z: doi:10.3390/polym13030465
- REQUEJOA, Salvador, 2014. Extraction and Characterization of Cellulose and Lignin from Sawdust. (81).
- RYDZ, Joanna, Marta MUSIOL, Barbara ZAWIDLAK-WĘGRZYŃSKA a Wanda SIKORSKA, 2018. Present and Future of Biodegradable Polymers for Food Packaging Applications. In: *Biopolymers for Food Design* [online]. B.m.: Elsevier Inc., s. 431–467. ISBN 9780128115015. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-811449-0.00014-1
- SCHWANNINGER, Manfred a Barbara HINTERSTOISSER, 2002. Klason lignin: Modifications to improve the precision of the standardized determination. *Holzforschung* [online]. **56**(2), 161–166. ISSN 00183830. Dostupné z: doi:10.1515/HF.2002.027
- SHANKAR, Shiv a Jong Whan RHIM, 2016. Preparation of nanocellulose from micro-crystalline cellulose: The effect on the performance and properties of agar-based composite films. *Carbohydrate Polymers* [online]. **135**, 18–26. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2015.08.082
- SPINEI, Mariana a Mircea OROIAN, 2021. The potential of grape pomace varieties as a dietary source of pectic substances. *Foods* [online]. **10**(4). ISSN 23048158. Dostupné z: doi:10.3390/foods10040867
- TALEB, Fayrouz, Mohamed AMMAR, Mongi ben MOSBAH, Ridha ben SALEM a Younes MOUSSAOUI, 2020. Chemical modification of lignin derived from spent coffee grounds for methylene blue adsorption. *Scientific Reports* [online]. **10**(1), 1–13. ISSN 20452322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-020-68047-6
- TAVAKOLIAN, Mandana, Seid Mahdi JAFARI a Theo G.M. VAN DE VEN, 2020. A Review on Surface-Functionalized Cellulosic Nanostructures as Biocompatible Antibacterial Materials. *Nano-Micro Letters* [online]. **12**(1). ISSN 21505551. Dostupné z: doi:10.1007/s40820-020-0408-4
- THOORENS, Gregory, Fabrice KRIER, Bruno LECLERCQ, Brian CARLIN a Brigitte EVRARD, 2014. Microcrystalline cellulose, a direct compression binder in a quality by design environment - A review. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. **473**(1–2), 64–72. ISSN 18733476. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2014.06.055
- TRACHE, Djalal, M HAZWAN HUSSIN, Caryn TAN, Hui CHUIN, Sumiyyah SABAR, M R NURUL FAZITA, F A TAIWO, T M HASSAN a M K Mohamad HAAFIZ, 2016. Microcrystalline cellulose: Isolation, characterization and bio-composites application-A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. **93**, 789–804. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.09.056
- WANG, Taoran a Yanyun ZHAO, 2021. Optimization of bleaching process for cellulose extraction

from apple and kale pomace and evaluation of their potentials as film forming materials. *Carbohydrate Polymers* [online]. **253**(August 2020), 117225. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2020.117225

YADAV, Mithilesh, Kartik BEHERA, Yen Hsiang CHANG a Fang Chyou CHIU, 2020. Cellulose nanocrystal reinforced chitosan based UV barrier composite films for sustainable packaging. *Polymers* [online]. **12**(1). ISSN 20734360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12010202

YANG, Haitao, Yuhang ZHANG, Chang Geun YOO, Xianzhi MENG, Xiong CHEN, Arthur J. RAGAUSKAS a Lan YAO, 2020. Physico-chemical properties of lignin fractions from acid pretreated corn stover and their effects on enzymatic hydrolysis of microcrystalline cellulose. *BioResources* [online]. **15**(3), 4898–4911. ISSN 19302126. Dostupné z: doi:10.15376/biores.15.3.4898-4911

YE, Siying, Yonghui ZHANG, Jun CHEN, Fuquan CHEN, Huifen WENG, Qiong XIAO a Anfeng XIAO, 2022. Synthesis and properties of maleic anhydride-modified agar with reversibly controlled gel strength. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. **201**(December 2021), 364–377. ISSN 18790003. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.12.096

YI, Chun, John SHI, John KRAMER, Sophia XUE, Yueming JIANG, Mingwei ZHANG, Ying MA a Joseph POHORLY, 2009. Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. *Food Chemistry* [online]. **114**(2), 570–576. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.103

ZHANG, Hao, Chang DOU, Lokendra PAL a Martin A. HUBBE, 2019. Review of electrically conductive composites and films containing cellulosic fibers or nanocellulose. *BioResources* [online]. **14**(3), 7494–7542. ISSN 19302126. Dostupné z: doi:10.15376/biores.14.3.7494-7542