

오일 팜 수간 유래 CNF (cellulose nanofibrils)의 화장품 보습제 적용을 위한 보습력 평가

송우용 · 신수정[†]

접수일(2016년 4월 11일), 수정일(2016년 4월 18일), 채택일(2016년 4월 19일)

Evaluation of water holding property for applying a cosmetic moisturizer from oil palm trunk CNF

Woo-Yong Song and Soo-Jeong Shin[†]

Received April 11, 2016; Received in revised form April 18, 2016; Accepted April 19, 2016

ABSTRACT

Cellulose nanofibrils (CNF) was made from oil palm trunk (OPT) with soda-anthraquinone pulping, chlorine dioxide bleaching, carboxymethylation, followed by mechanical grinding. Size of this CNF was 16–40 nm of width confirmed by TEM. To evaluate CNF from OPT as cosmetics raw materials for moisturizing component, water holding properties was compared with hyaluronic acid and collagen. CNF from OPT had better water holding property than collagen or hyaluronic acid whether phenoxyethanol was added as antiseptic or without additive.

Keywords: *Oil palm trunk, carboxymethylation, cellulose nanofibrils, water-holding property*

1. 서론

셀룰로오스는 포도당 분자가 베타-1,4-결합에 의하여 만들어진 선형 고분자 물질이며, 지구상에 가장 널리 존재하는 유기물로 일반적으로 식물의 엽록체에서 광합성에 의해서 생성된 포도당의 연결체 고분자이지만 일부 박

테리아가 포도당을 원료로 합성을 하기도 하고, 멧개의 껍질을 구성하는 동물성 셀룰로오스도 존재한다.¹⁻³⁾ 식물 세포벽 내에서 마이크로 피브릴을 구성하며 분자 내 수소결합과 분자 간 수소결합을 통하여 셀룰로오스의 강도적 특성을 부여한다.

산업적으로는 목화의 종피 내에 존재하는 면 섬유 내 셀

• 충북대학교 임산공학과 (Department of Forest Products and Engineering, Chungbuk National University, Chungbuk 28644, Korea)

† 교신저자 (Corresponding Author): E-mail: soojshin@cbnu.ac.kr

룰로오스의 함량이 높고 이를 원료로 면 방직을 통한 섬유산업에서 사용되고 있다.^{4,5)} 목재는 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌의 복합체로 구성되어 있고, 화학 펄핑 공정에서 대부분의 리그닌을 제거한 후 표백 공정을 거쳐 표백 화학 펄프를 생산하며 이를 원료로 다양한 등급의 종이 만들어진다.

포도당은 단량체 내에 5개의 수산기를 가지며 셀룰로오스로 중합되는 과정에서 두 개의 수산기 축합 반응에 사용된 후 고분자 구조 내에는 3개의 결합하지 않은 수산기를 가지고 있으며 이들 수산기는 분자 내 수소결합과 분자 간 수소결합을 통하여 결정구조를 가능하게 한다.

고분자를 더 작은 크기로 가공하면 비표면적이 증가하면서 새로운 물성을 나타낸다. ITT사 Rayonier 연구실에서 셀룰로오스를 우유 가공 장치인 Gaulin형 homogenizer로 고온 고압에서 가공하여 겔 형태의 물질로 전환시켰는데 이것이 나노, 마이크로 크기로 셀룰로오스를 기계적으로 처리한 첫 번째 시도이다.⁶⁾ 이후 디스크 밀 형의 나노그라인더, 고압 microfluidizer 등의 장치가 개발되어 기계적 처리에 의한 나노셀룰로오스가 제조되고 있다.⁷⁻⁹⁾

나노셀룰로오스 제조 과정에서 소요되는 동력 소모 감소와 작은 크기의 나노셀룰로오스 제조를 위한 전처리 공정이 연구되고 있다. 전처리 공정 중 카르복시메틸화 처리와 TEMPO-oxidation 처리는 셀룰로오스에 음이온을 붙이는 것으로, 기계적 처리과정에서 섬유 음이온 사이에 정전기적 반발력이 작용하도록 하는 전처리이다. 이런 전처리를 통해 기존에 연구되었던 나노셀룰로오스에 비해 더 작은 폭의 나노 셀룰로오스가 제조되었고, 동력 소모 감소 효과를 얻은 연구 내용이 보고되었다.^{10,11)}

나노 크기로 셀룰로오스를 가공하면 인장강도가 500 MPa로 알루미늄과 비슷한 강도적 성질을 가지게 된다.^{12,13)} 또한 공기나 산소 투과도가 낮아 식품용 포장재로도 적합하다.^{14,15)} 이런 용도로 나노셀룰로오스를 이용하기 위해서는 건조 공정이 필요하다.

기존의 셀룰로오스계 펄프와 달리 나노셀룰로오스는 물과의 수소결합 능력이 증가하여 건조하기 어렵다. 종이 제조시 탈수 과정에서 농도가 약 30%로 증가하고 습윤 압착공정을 통하여 농도를 50%로 증가시킬 수 있다.

나노셀룰로오스는 일반적인 탈수과정에서 수분의 제거가 어렵고 건조과정에서 셀룰로오스 입자들의 응집 현상이 일어나기 때문에 용매치환 건조나 동결건조 분사 건조 등이 시도되고 있다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 이런 건조 공정 속에서도 일부의 입자들이 응집되어 건조 전 나노셀룰로오스가 갖는 물성의 완전한 회복이 되지 않는다.

본 연구에서는 건조가 어려운 나노셀룰로오스의 특성을 고려하여 보습력이 중요한 화장품 보습제 원료의 적용 특성을 확인하고자 하였다. 기존 화장품 보습제 중 시장 지배력이 큰 히알루론산과 콜라겐을 비교 물질로 하여 오일 팜 수간을 원료로 제조한 표백 펄프로 제조한 CNF와 보습력을 비교하여 화장품 보습제로의 적용 가능성을 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시 재료

CNF 제조에 사용한 원료는 말레이시아에서 25-30년 성장한 오일 팜 수간을 아시아나셀룰로오스(주)사에서 공급받아 사용하였다. 보습력 비교에 사용한 콜라겐(Geltech, Korea)과 히알루론산은 sodium hyaluronate(Bioland, Korea)를 사용하였다.

2.2 실험 방법

2.2.1 오일 팜 수간 펄프 제조

CNF 제조를 위한 원료인 오일 팜 수간펄프를 제조하기 위하여 소다-안트라퀴논 펄핑 방법과 염소표백을 진행하였다. 펄핑 조건은 활성알칼리 18%, 안트라퀴논 0.1%(w/w), 액비 1:8, 증해온도 170°C, 1.5 시간 승온 후 2 시간동안 증해하였다.

표백 방법은 D₁ED₂표백을 진행하였으며 ClO₂ 사용량은 전건 펄프 기준 D₁에서 6%, D₂에서 1%(w/w)로 표백을 진행하였다.

2.2.2 오일 팜 수간 원료 및 펄프의 화학 분석

오일 팜 수간과 펄프의 화학 조성 분석을 위해 유기용

매 추출물 함량 측정(TAPPI T 204 om-88), 열수 추출물 함량 측정(TAPPI T 207 om-93), 산 불용성 리그닌 분석(TAPPI T 222 om-88)을 실시하였다.

2.2.3 당 조성 분석

오일 팜 수간 원료, 미 표백 펄프, 표백 펄프의 탄수화물 조성을 비교하기 위해 ¹H-NMR 분석을 실시하였다. 시료에 72% 황산을 이용하여 30℃에서 한 시간 동안 1차 가수분해 후, 중수(D₂O)를 넣어 희석한 후 100℃에서 한 시간 동안 2차 가수분해를 실시하였다. 가수분해 후 여과과정을 거쳐 얻은 여과액을 모아 Nuclear magnetic resonance spectrometer (Avance 500MHz, Bruker, Germany)기기를 이용하여 분석하였다. NMR 스펙트럼 상에서 아노머성 수소 피크를 적분하여 탄수화물을 정량 분석하였다.

2.2.4 CNF (cellulose nanofibrils) 제조

표백 오일 팜 수간펄프의 CNF 제조를 위해 전처리로 카르복시메틸화 처리를 실시하였다. 표백 오일 팜 수간 펄프 75 g을 2 L 이소프로필알코올에 해리한 후 40.5 g 수산화나트륨이 용해된 메탄올 400 ml와 50 g 클로로아세트산이 용해된 이소프로필알코올 600 ml를 함께 섞어 95℃에서 2.5 시간 동안 처리하였다. 처리가 끝난 펄프는 세척하여 CNF 제조에 사용하였다.

카르복시메틸화 처리된 오일 팜 수간펄프에 증류수를 가하여 1%(w/w)로 농도를 조절한 후 그라인딩을 실시하였다. 이용된 그라인더(IKA process-pilot 2000/4, IKA, Germany)의 갭 사이즈는 0.104 mm, 그라인더 회전 속도는 12000 rpm 조건으로 그라인딩을 30 분간 진행하였다. 그라인딩 과정이 종료된 CNF 일부는 보관성 증대를 위한 첨가물인 페녹시에탄올(C₈H₁₀O₂, Samchun, Korea) 0.4%(w/w)를 첨가하여 보관하였고, 남은 것은 다른 첨가물 없이 저온에서 보관하였다.

2.2.5 투과전자현미경 관찰

제조된 오일 팜 수간 펄프 CNF의 크기를 확인하기 위해 에너지 여과형 TEM 분석을 실시하였다. 0.01%로 희

석된 CNF를 카본 그리드에 부착시킨 후 우라닐아세테이트를 사용하여 염색을 진행하였다. 사용 장비는 Energy filtering transmission electron microscope(Libra 120, Carl Zeiss, Germany)를 사용하여 가속전압 120 kV에서 확인하였다.

2.2.6 보습력 측정

오일 팜 수간 CNF의 보습력은 100 ml 비커 안에 여과지를 배치한 후 1% 오일 팜 수간 CNF 용액 10 g을 여과지 위에 올리고 25℃, 상대습도 50% 조건의 항온 항습기에서 매 시간마다 증량을 측정하여 증량 차이에 의해 보습력을 비교하였다. 오일 팜 수간 CNF의 보습력 비교를 위하여 히알루론산과 콜라겐을 같은 농도로 희석하여 비교하였다.¹⁹⁾

3 결과 및 고찰

3.1 오일 팜 수간 원료 및 펄프 특성

오일 팜 수간의 화학적 조성을 펄핑 전 후로 비교하여 Table 1에 나타내었다. 오일 팜 수간의 화학 조성은 추출물이 15.2%, 리그닌이 18.7%, 탄수화물이 66.0%로 나타났다. 다른 열대 활엽수인 유칼립투스과 비교했을 때 리그닌의 비율은 유칼립투스가 3.5% 더 높게 나타났다. 오일 팜 수간의 탄수화물 조성은 셀룰로오스를 구성하는 포도당이 가장 높은 비율을 차지하고 있으며, 그 다음은 일반적으로 활엽수 헤미셀룰로오스의 주성분인 자일란을 구성하는 자일로스가 높은 비율을 차지하는 것을 확인하였다(Table 2). 펄프화 과정을 거쳐 만들어진 오일 팜 수간 펄프의 탄수화물 조성은 전체적으로 원료와 비슷하게 포도당과 자일로스가 많은 조성을 보였다. 그러나 다른 헤미셀룰로오스를 구성하는 탄수화물의 손실이 발생하여 포도당의 비율이 펄프화 과정 이후 더 높아진 것을 확인할 수 있다. 미 표백 오일 팜 수간 펄프와 표백 오일 팜 수간 펄프의 탄수화물 조성을 비교하였을 때 표백 과정에서 일부 자일로스 손실이 있을 뿐 대부분의 탄수화물이 보존된 것으로 판단된다.

Table 1. Chemical composition of oil palm trunk and its pulp

Sample	Acetone extractives (%)	Hot-water extractives (%)	Lignin (%)	Polysaccharides (%)
Oil palm trunk	0.5	14.7	18.7	66.0
Eucalyptus ²⁰⁾	2.2	12.1	24.2	61.5
Unbleached oil palm trunk pulp	0	0	2.7	97.3

Table 2. Carbohydrate composition of oil palm trunk and its pulp

Sample	Glucose (%)	Xylose (%)	Mannose (%)	Galactose (%)	Arabinose (%)
Oil palm trunk	64.3	28.5	0.9	4.4	2.0
Unbleached oil palm trunk pulp	70.4	27.5	0.4	1.8	0
Bleached oil palm trunk pulp	70.5	26.8	0.7	1.9	0

3.2 투과전자 현미경 관찰에 의한 CNF의 크기 분석

나노셀룰로오스의 크기는 원료와 사용하는 장비, 전처리에 따라 다른 폭과 길이를 보인다. 크라프트 펄프를 High pressure homogenizer를 사용한 경우 50-100 nm 폭을 가진 나노셀룰로오스가 제조된 연구가 보고되었고,^{22,23)} 밀짚을 원료로 사용한 경우 제조된 나노셀룰로오스의 폭은 20-120 nm로 보고되었다.²⁴⁾ 크라프트 펄프를 그라인더를 사용하여 나노셀룰로오스를 제조한 경우에는 폭이 20-90 nm인 나노셀룰로오스를 제조한 연구가 보고되어 있다.²⁵⁾ 그 외 제조과정의 동력 감소와 나노셀룰로오스의 크기를 줄이기 위한 연구로 여러 전처리 방법이 연구되었다. TEMPO-oxidation을 전처리로 사용한 경우 나노셀룰로오스의 폭이 8-9 nm로 제조한 연구가 보고 되었고,¹⁰⁾ 카르복시메틸화처리를 통해 10 nm 이하의 폭을 가진 나노셀룰로오스를 제조한 연구가 보고 되어 있다.¹¹⁾

제조된 오일 팜 수간 CNF의 크기를 분석하기 위하여 에너지 여과형 TEM을 사용하여 관찰하였다(Fig. 1). 제조된 오일 팜 수간 CNF의 관찰 결과 CNF의 크기는 16-40 nm로 확인되었다. 오일 팜 수간을 구성하는 세포가 섬유상의 관다발만 존재하는 것이 아닌 유세포도 일반 목재에 비해 높은 비율이 존재하기 때문에²¹⁾ 이러한 크기의 CNF가 만들어진 것으로 사료된다.

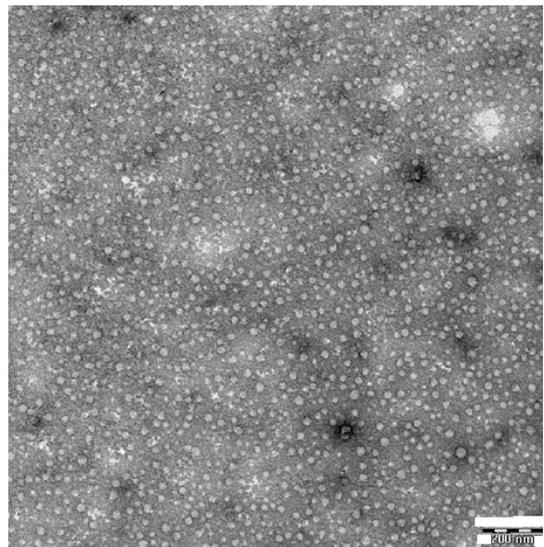


Fig. 1. Energy filtering TEM image of oil palm trunk CNF.

3.3 히알루론산과 팜오일 수간 CNF의 보습력 비교

제조된 CNF 용액의 보관과정에서 미생물에 의한 분해, 오염이 발생할 수 있다. 이러한 문제는 CNF를 제조하는 공정을 효소 당화의 전처리로 이용하는 연구에서 예측할 수 있다. 그라인딩으로 인한 피브릴화가 진행될수록, 섬

유의 크기가 작아질수록 효소의 접근성이 좋아진다는 보고가 있다.²⁶⁻²⁸⁾

이러한 특성으로 인해 제조된 CNF를 보습용 화장품 원료로 사용하기 위해서는 나노셀룰로오스의 분해, 오염을 방지할 수 있는 방법이 필요하다. 화장품 원료로 사용되는 물질들의 미생물에 대한 오염, 분해를 방지하기 위해 페녹시에탄올, 1,2-헥산디올 등의 보존성 향상을 위한 물질을 첨가한다.²⁹⁾ 본 연구에서 제조한 CNF 또한 화장품 원료로 사용하기 위해 보존성을 향상 시킬 필요가 있다. 본 연구에서는 여러 보존성 향상 물질 중 페녹시에탄올을 선택하였으며, 페녹시에탄올이 첨가 되었을 경우 보습력에 영향하는지에 대해 확인하였다.

오일 팜 수간 CNF의 보습력을 확인하기 위하여 같은 농도로 희석한 히알루론산과 비교하였다. 페녹시에탄올을 넣지 않은 경우 오일 팜 수간 CNF의 보습력은 히알루론산보다 더 높게 나타났다.(Fig. 2A).

페녹시에탄올을 첨가한 경우 그렇지 않은 경우와 비교

했을 때 오일 팜 수간 CNF와 히알루론산의 보습력은 3시간 까지 히알루론산의 보습력이 더 높게 나타났지만 3시간 이후 오일 팜 수간 CNF의 보습력이 더 높은 것을 확인할 수 있다. 이 결과로 볼 때 보관성 증대를 위해 페녹시에탄올을 첨가하였을 때 오일 팜 수간 CNF의 보습력에 영향을 주지 않는 것으로 판단된다(Fig. 2B).

오일 팜 수간 CNF가 히알루론산보다 높은 보습성이 나타난 이유는 CNF 제조과정에서 전처리로 진행한 카르복시메틸화에 의해 펄프의 친수성이 증가되는 처리가 되었다. 또한 그라인딩 과정에서 오일 팜 수간펄프의 피브릴화와 섬유가 절단되면서 표면적이 증가되었고, 표면적이 증가한 만큼 외부로 노출되는 수산기가 증가되어 히알루론산에 비해 더 높은 보습력을 보인 것으로 판단된다.

3.4 콜라겐과 오일 팜 수간 CNF의 보습력 비교

오일 팜 수간 CNF의 보습력을 확인하기 위하여 동일

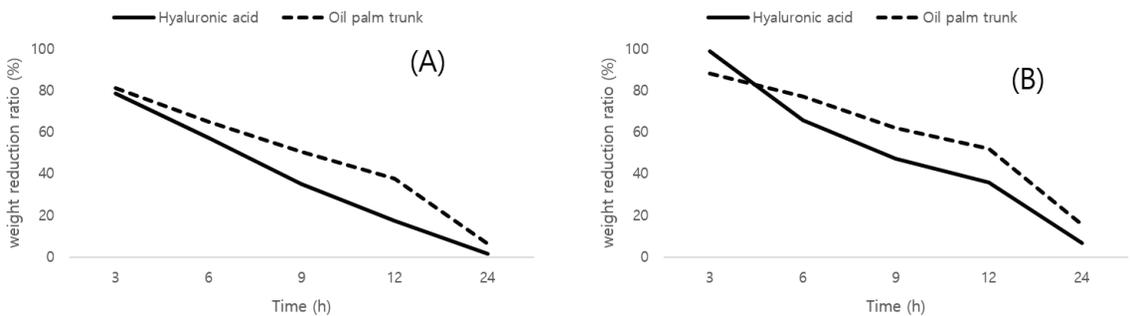


Fig. 2. Comparison of oil palm trunk CNF water-holding property with hyaluronic acid. (A: no additive, B: phenoxyethanol added)

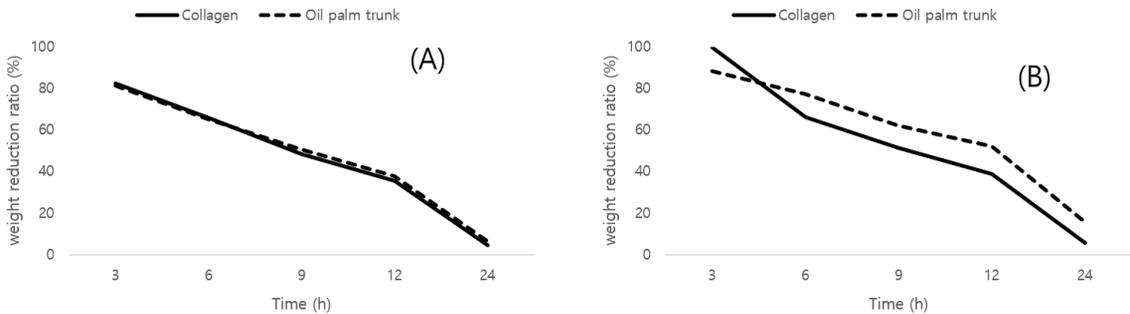


Fig. 3. Comparison of oil palm trunk CNF water-holding property with collagen. (A: no additive, B: phenoxyethanol added)

농도로 희석한 콜라겐과 비교하였다. 페녹시에탄올을 첨가하지 않은 오일 팜 수간 CNF와 콜라겐의 보습력 비교 결과는 두 샘플의 보습력은 크게 차이나지 않음을 확인하였다(Fig. 3A).

콜라겐과 또한 히알루론산과 오일 팜 수간 CNF의 보존성 증대를 위해 첨가한 페녹시에탄올을 첨가한 경우의 보습력을 비교하였다. 보관성 증대를 위해 페녹시에탄올을 첨가한 경우 첨가하지 않은 경우에 비해 콜라겐의 보습력이 3 시간까지 더 높게 나타났지만 3시간 이후 오일 팜 수간에 비해 보습력이 떨어지는 것이 확인되었다.(Fig. 3B) 페녹시에탄올을 첨가한 경우 콜라겐은 페녹시에탄올을 첨가하지 않은 경우와 차이를 보였지만 히알루론산과 오일 팜 수간 CNF의 경우 큰 변화가 관찰되지 않았다. 이는 페녹시에탄올을 첨가에 따라 콜라겐의 경우 보습력의 변화가 생길 수 있고, 히알루론산과 오일 팜 수간 CNF의 경우 페녹시에탄올이 첨가되더라도 보습력에 큰 변화가 생기지 않는 것으로 사료된다.

4. 결론

본 연구에서는 오일 팜 수간을 원료로 하는 CNF의 보습력을 화장품 원료인 히알루론산과 콜라겐과 비교하여 그 특성을 확인하였다. 연구 결과 오일 팜 수간 CNF의 보습력은 히알루론산과 콜라겐과 비교하였을 때 비슷하거나 더 높은 결과를 확인하였다. 이러한 특성은 CNF 제조과정 중 전처리 과정인 카르복시메틸화에 의해 섬유질의 친수성이 증가하였고, 그라인딩 과정에서 섬유의 피브릴화와 섬유 절단으로 인해 표면적이 증가하고, 표면적이 증가한 만큼 수산기의 노출이 많아져 친수성이 증가하여 보습력이 높은 것으로 판단된다. 이러한 CNF의 특성을 이용하면 히알루론산과 콜라겐을 사용하던 보습력 기반 화장품 원료를 대체 할 수 있을것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 중소기업청에서 지원하는 2015년도 산학연 협력 기술개발사업(No. C0349576)의 연구수행으로 인한 결과물임을 밝힙니다.

Literature Cited

1. O'Sullivan, A. C., Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*, 4(3):173-207 (1997).
2. Maneerung, T., Tokura, S., and Rujiravanit, R., Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. *Carbohydrate Polymers*, 72(1):43-51 (2008).
3. Sasakura, Y., Nakashima, K., Awazu, S., Matsuoka, T., Nakayama, A., Azuma, J. I., and Satoh, N., Transposon-mediated insertional mutagenesis revealed the functions of animal cellulose synthase in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(42):15134-15139 (2005).
4. Meinert, M. C., and Delmer, D. P., Changes in biochemical composition of the cell wall of the cotton fiber during development. *Plant Physiology*, 59(6):1088-1097 (1977).
5. Park, H. J., Han, J. S., Son, H. N., and Seo, Y. B., Study of cotton linter pre-treatment process for producing high quality regenerated fibers for fabrics. *Journal of Korea TAPPI*, 45(3):27-35 (2013).
6. Turbak, A. F., Snyder, F. W., and Sandberg, K. R., Microfibrillated cellulose, a new cellulose product: properties, uses, and commercial potential. *Journal of Applied Polymer Science.: Applied Polymer Symposium*, 37 (1983).
7. Missoum, K., Belgacem, M. N., and Bras, J., Nanofibrillated cellulose surface modification: a review. *Materials*, 6(5):1745-1766 (2013).
8. Nechyporchuk, O., Pignon, F., and Belgacem, M. N., Morphological properties of nanofibrillated cellulose produced using wet grinding as an ultimate fibrillation process. *Journal of Material Science*, 50:531-541 (2015).
9. Cervin, N. T., Andersson, L., Ng, J. B. S.,

- Olin, P., Bergström, L., and Wågberg, L., Lightweight and strong cellulose materials made from aqueous foams stabilized by nanofibrillated cellulose. *Biomacromolecules*, 14(2):503–511 (2013).
10. Isogai, T., Saito, T., and Isogai, A., Wood cellulose nanofibrils prepared by TEMPO electro-mediated oxidation. *Cellulose*, 18(2):421–431 (2011).
 11. Naderi, A., Lindström, T., and Pettersson, T., The state of carboxymethylated nanofibrils after homogenization-aided dilution from concentrated suspensions: a rheological perspective. *Cellulose*, 21(4):2357–2368 (2014).
 12. Aulin, C., Salazar-Alvarez, G., and Lindström, T., High strength, flexible and transparent nanofibrillated cellulose–nanoclay bio-hybrid films with tunable oxygen and water vapor permeability. *Nanoscale*, 4(20):6622–6628 (2012).
 13. Ho, T. T., Zimmermann, T., Ohr, S., and Caseri, W. R., Composites of cationic nanofibrillated cellulose and layered silicates: water vapor barrier and mechanical properties. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 4(9):4832–4840 (2012).
 14. Aulin, C., Gällstedt, M., and Lindström, T., Oxygen and oil barrier properties of microfibrillated cellulose films and coatings. *Cellulose*, 17(3):559–574 (2010).
 15. Stevanic, J. S., Bergström, E. M., Gatenholm, P., Berglund, L., and Salmén, L., Arabinoxylan/nanofibrillated cellulose composite films. *Journal of Materials Science*, 47(18):6724–6732 (2012).
 16. Peng, Y., Gardner, D. J., and Han, Y., Drying cellulose nanofibrils: in search of a suitable method. *Cellulose*, 19(1):91–102 (2012).
 17. Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., and Youngblood, J., Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40(7):3941–3994 (2011).
 18. Kolakovic, R., Laaksonen, T., Peltonen, L., Laukkanen, A., and Hirvonen, J., Spray-dried nanofibrillar cellulose microparticles for sustained drug release. *International Journal of Pharmaceutics*, 430(1):47–55 (2012).
 19. Cha, S. H., Lee, J. S., Kim, Y. S., Kim, D. U., Moon, J. C., and Park, K. P., Properties of fucoidan as raw materials of water-holding cream and cosmetics. *Korean Chemical Engineering Research*, 48(1):27–32 (2010).
 20. Sung, Y.-J., Lee, J.-W., Kim, S.-B., and Shin, S.-J., Comparison of the soda-anthraquinone pulping properties between imported eucalyptus mixture chips and domestic yellow poplar (*Liriodendron tulipifera*) chips. *Journal of Korea TAPPI*, 10(3):22–27 (2010).
 21. Mhd Ramle, S. F., Sulaiman, O., Hashim, R., Arai, T., Kosugi, A., Abe, H., and Mori, Y., Characterization of parenchyma and vascular bundle of oil palm trunk as function of storage time. *Lignocellulose Journal*, 1(1):33–44 (2012).
 22. Iwamoto, S., Nakagaito, A. N., and Yano, H., Nano-fibrillation of pulp fibers for the processing of transparent nanocomposites. *Applied Physics A*, 89(2):461–466 (2007).
 23. Iwamoto, S., Nakagaito, A. N., Yano, H., and Nogi, M., Optically transparent composites reinforced with plant fiber-based nanofibers. *Applied Physics A*, 81(6):1109–1112 (2005).
 24. Alemdar, A., and Sain, M., Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues - Wheat straw and soy hulls. *Biore-source Technology*, 99(6):1664–1671 (2008).
 25. Taniguchi, T., and Okamura, K., New films produced from microfibrillated natural fibres. *Polymer International*, 47(3):291–294 (1998).
 26. Yeh, A. I., Huang, Y. C., and Chen, S. H., Effect of particle size on the rate of enzymat-

- ic hydrolysis of cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 79(1):192–199 (2010).
27. Lee, S. H., Inoue, S., Teramoto, Y., and Endo, T., Enzymatic saccharification of woody biomass micro/nanofibrillated by continuous extrusion process II: effect of hot-compressed water treatment. *Bioresource Technology*, 101(24):9645–9649 (2010).
28. Lee, S. H., Chang, F., Inoue, S., and Endo, T., Increase in enzyme accessibility by generation of nanospace in cell wall supramolecular structure. *Bioresource Technology*, 101(19):7218–7223 (2010).
29. Connolly, P., Bloomfield, S. F., and Denyer, S. P., The use of impedance for preservative efficacy testing of pharmaceuticals and cosmetic products. *Journal of Applied Bacteriology*, 76(1):68–74 (1994).