

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
METALURJİ VE MALZEME MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI**

**ÜZÜM POSASINDAN FARKLI ALKALİ KONSANTRASYONLAR İLE
ELDE EDİLEN SELÜLOZ NANOKRİSTALLERİN HİDROLİZİ VE
KARAKTERİZASYONU**

**Yazar
EZGİ ROJDA TAYMAZ**

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emin Uslu



MANİSA–2023

EZGİ ROJDA
TAYMAZ

ÜZÜM POSASINDAN FARKLI ALKALİ KONSANTRASYONLAR İLE
ELDE EDİLEN SELÜLOZ NANOKRİSTALLERİN HİDROLİZİ VE
KARAKTERİZASYONU

2023

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik /Fen-Edebiyat Fakültesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Ezgi Rojda TAYMAZ





İÇİNDEKİLER

SAYFA

İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER VE KISALTMALARI.....	III
ŞEKİLLER DİZİSİ	IV
TABLO DİZİSİ	V
TEŞEKKÜRLER.....	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT	VIII
1.GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın Amacı	2
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Biyokütle	3
2.2. Lignoselülozik Biyokütle ve Özellikleri	5
2.3. Selüloz	7
2.4. Nanoselüloz	9
2.5. Selüloz Nanokristal (CNC)	10
2.6. Biyokütle Kaynağı: Üzüm	13
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	14
3.2. Üzüm Posasının Organik İzolasyon	14
3.3. Selüloz İzolasyonu	15
3.4. Selüloz Nanokristal İzolasyonu	16
3.5. Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)	17
3.6. Geniş açılı X-ışını kırınımı (XRD)	17
3.7. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	17
3.8. Termogravimetrik analiz (TGA)	18
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR VE BULGULAR	19
4.1. SEM Analizleri	19
4.2. FT-IR Analizleri	22
4.3. TGA Analizleri	26
4.4. XRD Analizleri	29
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	32
KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	41

SİMGELER VE KISALTMALARI

CNC	Selüloz nanokristalleri
CNF	Selüloz nanofiber
BNC	Bakteriyel nanoselüloz
FTIR	Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi
XRD	Geniş açılı X-ışını kırınımı
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TGA	Termogravimetrik analiz



ŞEKİLLER DİZİSİ

Şekil 1. Selüloz hücre duvarının şeması ve mikrofibril yapısı	7
Şekil 2. Selüloz asit hidrolizinden CNC oluşumunun şematik gösterimi	12
Şekil 3. Selüloz nanokristal izolasyonunun ilk aşamasıdır. Etüv ile kurutulan hammadde nin sokslet aparatı ile organik izolasyonu	14
Şekil 4. Selüloz izolasyonunun deneysel adımları	15
Şekil 5. Selüloz nanokristal hidrolizinin deneysel adımları.....	16
Şekil 6. Farklı alkali konsantrasyonları sonucu saflaştırılarak ele edilen selülozun SEM görüntüsü.....	20
Şekil 7. Farklı konsantrasyon oranlarında saflaştırılan selülozun kristal formuna çevrilmesi sonucu hidroliz edilen CNC'lerin SEM görüntüleri	21
Şekil 8. Üzüm posasının, ekstrakte edilmiş selülozun ve selüloz nanokristalin FTIR sonuçları	22
Şekil 9. Farklı konsantrasyon oranları ile elde edilen selülozun FTIR ile karakterizasyonu	23
Şekil 10. %3 NaOH/H ₂ O ₂ alkali ağartma ile elde edilen selüloz ve asit hidrolizi ile elde edilen CNC'in FTIR sonuçları	24
Şekil 11. Üzüm posası ve %3 NaOH/H ₂ O ₂ alkali izolasyon sonucu elde edilmiş selülozun termogravimetri (TG) eğrisini	26
Şekil 12. Sülfürik asit hidrolizi ile elde edilen CNC'lerin termogravimetri (TG) eğrisini	27
Şekil 13. Üzüm posası ve %3 NaOH/H ₂ O ₂ alkali izolasyon sonucu elde edilmiş selülozun geniş açılı X-ışını kırınımı (XRD) grafiği	30
Şekil 14. Sülfürik asit hidrolizi ile elde edilen CNC'lerin geniş açılı X-ışını kırınımı (XRD) grafiği	30

TABLO DİZİSİ

Tablo 1. Lignoselülozik biyokütle materyallerinin sınıflandırılması ve bileşimi	6
Tablo 2. Selüloz nanokristalin fiziksel ve yapısal özellikleri	10
Tablo 3. Hidroliz edilen CNC'in selülozun izolasyon konsantrasyon farkına göre isimlendirilmesini göstermektedir	19
Tablo 4. Ham üzüm posası, farklı alkali konsantrasyon sonucu elde edilen selüloz ve bu selülozlardan hidroliz edilen CNC'lerin kristallik indeksi	28



TEŞEKKÜR

Danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emin Uslu'ya özel teşekkürlerimi sunmak isterim, benim için muazzam bir akıl hocası oldunuz. Araştırmamı teşvik ettiğiniz ve bir araştırma bilimcisi olarak büyümeme izin verdiğiniz için teşekkür ederim. Hem araştırma hem de kariyerim hakkındaki tavsiyeleriniz paha biçilemezdi.

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği ve Biyomühendislik Bölümü'ne teşekkürlerimi sunmak istiyorum. Tez çalışmam sırasında bana bütün imkânları sağlayan Biyomühendislik bölümü akademik kadroya teşekkürler.

Aileme özel olarak teşekkür etmek istiyorum. Benim adıma yaptığınız bütün fedakârlıktan dolayı annem Yurdanur, babam Yusuf, kardeşim Eren'e ne kadar minnettar olduğumu kelimeler ile anlatamam. Beni yazılı olarak destekleyen ve hedefime doğru çabalamam için beni teşvik eden tüm arkadaşlarıma da teşekkür ediyorum.

Ezgi Rojda TAYMAZ
MANİSA, 2023

ÖZET

ÜZÜM POSASINDAN FARKLI ALKALİ KONSANTRASYONLAR İLE ELDE EDİLEN SELÜLOZ NANOKRİSTALLERİN HİDROLİZİ VE KARAKTERİZASYONU

Yüksek Lisans Tezi

Ezgi Rojda TAYMAZ

Manisa Celal Bayar Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emin USLU

Yaklaşık 70 yıl boyunca polimerlerden üretilen biyoyoumlu malzemeler devrim yarattı. Yeni uygulamaların fonksiyonel performans taleplerini karşılamak için fosil bazlı kaynaklardan elde edilen biyoyoumlu ve biyobozunur yeni yüksek performanslı polimerler üretilmektedir. Bu projede amaç geri dönüşüm enerjisini kullanarak yüksek performanslı polimer üretmektir. Ürettiğimiz yüksek performanslı polimerimizi nanokristal forma döndürmek için bir dizi işlemden geçirmemiz gerekiyor. Bunun amacı esas malzememiz olan selülozu, istenmeyen yan ürünlerinden ayırmak ve daha saf elde etmektir. Selüloz, yüksek derecede reaktif yüzey fonksiyonel gruplarının yanı sıra biyolojik olarak bozunabilirlik, kimyasal direnç ve termal kararlılık gibi çekici özelliklere sahip dünyada en bol bulunan organik polimerlerden biridir. Bu açıdan biyomühendislik çalışmaları için istenen özelliklere sahip bir doğal polimerdir. Literatürde farklı bitkisel kaynaklardan selüloz ve selüloz nanokristaller elde edilmiştir. Burada ki amacımız dünya genelinde potansiyeli yüksek olan üzüm atığının kullanılması ve izolasyon işlemlerinde farklı konsantrasyon kullanılarak elde edilen ürünler arasında karşılaştırma yapılmasıdır. Bu proje ile üzüm posalarından geri dönüşüm ile doğal polimer olan selülozun nanokristal formunun elde edilmesi ve bu üreteceğimiz yüksek performanslı polimerimiz ileride üretilecek yeni projeler için ön bir çalışmayı amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Selüloz, Selüloz Nanokristal, FTIR, XRD, TGA, SEM

2023, 51 Sayfa

ABSTRACT

HYDROLYSIS AND CHARACTERIZATION OF CELLULOSE NANOCRYSTALS OBTAINED FROM GRAPE POMACE WITH DIFFERENT ALKALINE CONCENTRATIONS

M.Sc. Thesis

Ezgi Rojda TAYMAZ

Manisa Celal Bayar University

Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Metallurgy and Materials Engineering

Supervisor: Dr. Mehmet Emin USLU

For about 70 years, biocompatible materials made of polymers have revolutionized. In order to provide the functional performance demands of new applications, biocompatible and biodegradable new high-performance polymers obtained from fossil-based sources are produced. The aim of this project is to produce high-performance polymers using recycling energy. In order to convert the produced high-performance polymer into a nano-crystalline form, we need to go through a series of processes. The purpose of this is to separate the cellulose, which is our main material, from its unwanted by-products and to get it purer. Cellulose is one of the most abundant organic polymers with a high degree of reactive surface functional groups, as well as attractive properties such as biodegradability, chemical resistance and thermal stability. From this point of view, it is a natural polymer with the desired properties for bioengineering studies. Cellulose and cellulosnanocrystals have been obtained from different plant sources in the literature. Our goal here is to use grape waste, which is overproduced worldwide, and compare the products obtained using different concentrations in isolation processes. With this project, it is aimed to obtain the nanocrystalline form of cellulose by recycling from grape pomace and to conduct a preliminary study for the new projects that will be produced in the future with our high-performance polymer that we will produce.

Keywords: Cellulose, Cellulose Nanocrystal, FTIR, XRD, TGA, SEM

2023, 51 Pages

1. GİRİŞ

Dünya üzerinde en bol bulunan doğal polimer selüloz, gelecekte enerji ve kimya endüstrisinin ana hammaddesi olarak kabul edilmektedir ve düşük maliyetleri, sürdürülebilirliği, biyouyumluluğu ve biyolojik bozunabilirliği nedeniyle insan toplumunun sürdürülebilir gelişimi için önemli bir güç haline gelmiştir. Selülozdan nanomalzemelerin üretilmesi, bu yeni malzemelerin nanoteknoloji alanında geliştirilmesi ve uygulanması için yeni fırsatlar aranmaktadır [1].

Şarap üretimi, tarım ve içecek endüstrilerinin önemli bir parçasıdır. Şarap üretimi, güney yarımkürede ocak-nisan ayları arasında ve kuzey yarımkürede ağustos-ekim ayları arasında gerçekleşmektedir. Her yıl şarap endüstrileri tarafından saplar, üzüm çekirdeği, atık su çamuru ve maya yapraklarından oluşan büyük miktarda atık üretilir. Şaraphane atıklarının atılması veya bertarafı çeşitli toksik çevresel etkilere neden olabilmektedir [2].

Mendes ve ark. [3] ve Garcia-Lomillo ve Gonzalez [4] göre her 6 litre şarap için yaklaşık 1 kg posa üretildiği bildirilmiştir. Geleneksel olarak, üzüm posası gübre ve hayvan yemi için kullanılmaktadır. Üzüm posası, çok sayıda katma değerli bileşenin üretimi için de kullanılmaktadır. Bu bileşenler yenilebilir asitler (tartarik, malik ve sitrik asitler), etanol, diyet lifi ve üzüm çekirdeği yağından oluşur[5].

Bu tez çalışmasında biyokütle kaynağı olarak atık üzüm posası kullanılmıştır ve geri dönüşüm enerjisi ile selüloz nanokristaller elde edilmiştir. Bu tez ile geleceğe yönelik endüstriyel alanda atıkların geri dönüştürülmesi için ön çalışma yapılmıştır.

1.1. Çalışmanın Amacı

Ülkemizde ve dünya çapında şarap fabrikaları, her yıl tonlarca üzüm posası üretmektedir. Bu çalışmanın temel amacı, tarımsal ve sanayi atığı olan üzüm posasının geri dönüşüm enerjisi ile kullanılabilen biyomateryale dönüştürmesidir. Çalışma yürütülürken amaç, ‘Üzüm posasından farklı alkali konsantrasyonlar ile selüloz nanokristal hidrolizi ve karakterizasyonu’ olarak belirlenmiştir. Çalışmanın her bölümü için nihai hedefe ulaşmak için alt hedefler hedeflenmiştir.

1. Bitkinin organik izolasyon işlemleri aynı tutulmuştur ancak selüloz izolasyon aşamasında farklı alkali konsantrasyonlar kullanılmıştır. Bu hedef ile çeşitli alkali işlemler ile elde edilen selülozların birbiri ile karşılaştırılması yapılmıştır.
2. Farklı alkali konsantrasyonlar sonucu elde edilen selülozlardan asit hidrolizi ile selüloz nanokristaller elde edilmiştir. İzolasyon işleminin, biyomateryalin kristallliği üzerindeki etkisi incelenmiştir.
3. Son olarak farklı karakterizasyon işlemleri ile üretilen selülozların ve selüloz nanokristallerin birbiri ile karşılaştırılması yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Biyokütle

Biyokütle, biyolojik kökeni fosil olmayan ve yenilenebilir olan mevcut bitki veya hayvanlardan elde edilen doğal veya organik (çürüyen) maddenin kütlesi veya kalıntısı olarak tanımlanır. Biyokütle, arazi ve suda yetiştiren bitkiler, orman ve tarım tesisleri, hayvan atıkları, otsu ve odunsu enerji tesisleri; şehirlerin, sanayilerin ve belediyelerin organik atıkları dahil olmak üzere 100 yıldan kısa sürede yenilenebilen tüm organik maddelere verilen ortak isimdir [6].

Dört temel biyokütle kaynağı vardır: deniz, orman artıkları ve mahsuller, hayvan gübresi ve endüstriyel atıklardır [7, 8]. Deniz biyokütlesi mikroalglerden, lignin içeriği az veya hiç olmayan deniz bitkilerinden ve hızla büyüyen fotosentetik türlerden oluşur [9]. Bitkisel kaynaklar arasında orman ürünleri, çok hızlı büyüyen bazı ağaç türleri, yosun benzeri otlar, algler ve suda yetişen enerji bitkileri sayılabilir [10]. Büyük ölçekli enerjiyi elde etmek için kullanılan başlıca hayvansal kaynaklar sığır, koyun ve kümes hayvanlarının atıklarından oluşmaktadır [11]. Sanayi atıkları; Sanayide imal edilmiş her türlü evsel organik atıkları ve organik atıkları kapsar [12].

Biyokütle kaynakları klasik ve modern olarak da sınıflandırılabilir. Klasik biyokütle kaynakları ormanlardan elde edilen odun, bitki ve hayvan kalıntılarından oluşur. Modern biyokütle kaynakları arasında enerji ormancılığı, odun ve orman endüstrisi atıkları, hayvansal atıklar ve kentsel atıklar bulunmaktadır. Modern biyokütle kaynakları bitki, hayvan ve sanayiden biyokütle olarak düşünülebilir [13].

Klasik biyokütle kaynaklarının herhangi bir dönüşüm olmadan ham kullanımı, bi çevre üzerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Modern biyokütle kaynakları önemli bir biyokütle enerji potansiyeline sahiptir ve bu kaynakların geliştirilmesi ile daha geleneksel biyokütle kaynaklarının kullanılabilceğı tahmin edilmektedir [8, 14].

Tarımsal ürün artıkları dünya çapında gigaton ölçeğinde mevcuttur. Bu artıklar enerji ve depolama alanı oluşturmak için yakılır ve küresel ısınmanın önemli bir nedeni olabilecek tonlarca zararlı gaz üretir. Bitki biyokütlesi, biyo-yenilenebilir ve çevre dostu kimyasallar, yakıtlar, malzeme polimerleri ve daha fazlası için kullanılabilir [15, 16]

2.2. Lignoselülozik Biyokütle ve Bileşenleri

Çevreye katı atık olarak salınan çeşitli tarımsal yan ürünler ve bitkisel atıklar biyokütle kaynağı olarak düşünülebilir. Bu tür maddeler genel özellikleri ve kimyasal yapıları bakımından odunla benzerlik gösterir ve lignoselülozik biyokütle olarak adlandırılır. Lignoselülozik biyokütle oldukça karmaşık bir polimerik yapıya sahiptir [17].

Bitki hücresi dışarıdan içeriye doğru pektin, selüloz, lignin-hemiselüloz ve çözünür stoplazmik bileşiklerden oluşur. Hücre içi bileşenler esas olarak şekerler, nişasta, proteinler, pektin ve lipitlerdir. Lignoselülozik malzemeler önemli bir hammadde kaynağıdır çünkü bu bileşenler hidroliz ve ekstraksiyon ile ayrılabilir [18].

Dünyadaki toplam biyokütlenin %50'sini oluşturan lignoselülozik maddeler doğrudan gıda olarak tüketime uygun değildir ve bitki kaynaklarından oluşmaktadır. Temel olarak üç temel polimeri vardır: hemiselüloz ($C_5H_8O_4$)_n, selüloz ($C_6H_{10}O_5$)_n ve lignin [$(C_9H_{10}O_3)(OCH_3)_{0.9-1.7}$]_n [17].

Tipik olarak, biyokütle %40-60 selüloz, %20-40 hemiselüloz ve %0-25 lignin içerir. Farklı tiplerde lignoselülozik biyokütlelerin sınıflandırılması ve bileşimleri Tablo 1'de sunulmuştur. Lignoselülozdaki ekstraktlar ve mineraller kuru biyokütle ağırlığının %10'u kadardır. Lignoselülozik maddenin çok küçük bir bölümünü (%1-5) organik çözeltiler veya suda çözünen maddeler oluşturmaktadır [19].

Tablo 1. Lignoselülozik biyokütle materyallerinin sınıflandırılması ve bileşimi.

Biyokütle	Bileşim (%)			Referans
	Hemiselüloz	Selüloz	Lignin	
Üzüm	19.95	26.33	32.77	[20]
Şeker kamışı	25	50	25	[21]
Mısır koçanı	38.78	27.71	9.4	[22]
Pirinç Samanı	28	32.15	19.64	[23]
Çam ağacı	23	42	24	[24]
Kayın ağacı	34.30	42.50	22.20	[25]
Portakal kabuğu	10.9	14.4	1.33	[26]
Muz kabuğu	25.52	11.45	9.82	[27]
Yer fıstığı kabuğu	27.62	38.31	21.10	[28]

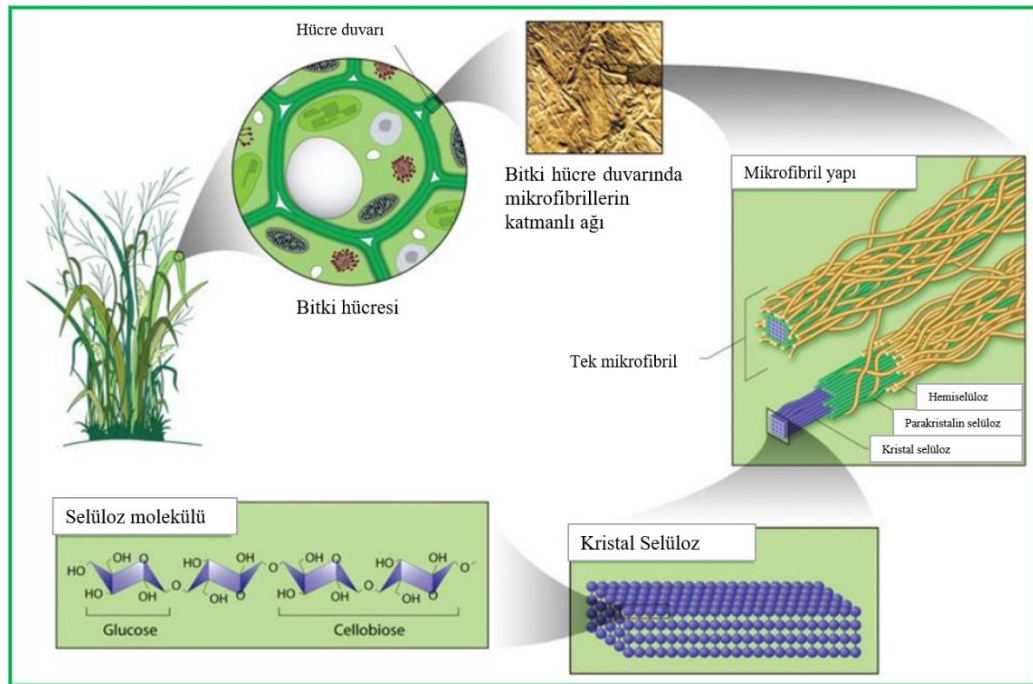
Lignoselülozik doğal kaynakların ana bileşenleri selüloz, hemiselülozlar, ligninler, ekstrakte edilebilir maddeler ve inorganik maddelerdir [29]. Hemiselülozlar galaktoz, mannoz, ksiloz, arabinoz ve diğer şekerlerdir; üronik asitlerin polimerlerini ve heteropolimerlerini içerirler. Ek olarak, doğadaki hemen hemen her selüloz, selüloz-lignin karışımı olarak bulunur [30, 31].

2.3. Selüloz

Canlılar dünyası dediğimiz biyosferde canlı organizmalara yaklaşık 27×10^{10} ton karbon bağlanmakta ve bunun %99'undan fazlası bitkisel materyalde bulunmaktadır. Bitkilerdeki karbonun yaklaşık %40'ı selülozdan gelir. Bu bakımdan, selüloz dünyadaki en bol bulunan doğal polimerdir [32, 33].

Selüloz, bitki dünyasında bulunan ve en basit yapıya sahip olan ve aynı zamanda hücre duvarı yapısında bulunan en önemli yapısal polisakkaritlerden biridir [34]. Doğada bitki hücresi duvarlarında bulunur, ancak bazı hayvan ve birkaç bakteri tarafından da üretilir [35]. Selüloz; birçok mikroorganizma tarafından etkin bir şekilde parçalanabilen, kendi kendini yenileyebilen, toksik olmayan, yüksek güç ve ısı dayanıma sahip çevre dostu bir polimerdir [36].

Selüloz tüm bitkilerin temel yapısında yer alır ve selülozun en önemli görevi bitkilere güç, diklik ve destek sağlamaktır. Selüloz doğada saf haliyle mevcut değildir. Hücre duvarının ana yapı elemanı olan selüloz, lignoselülozik biyokütlenin %40-50'sini oluşturur [37]. Genellikle diğer bitkisel bileşenlerle birlikte bulunur. Bu, selülozun doğal ortamda parçalanmasını etkiler [30].



Şekil 1. Selüloz hücre duvarının şeması ve mikrofibril yapısı [38].

Selüloz moleküllerinin demetler biçiminde bir araya gelerek oluşturduğu büyük yapıya fibril denir. Aynı yöne uzanan 40 selüloz molekülünün bir araya gelmesi sonucu oluşan çapı 3.5 nm olan en küçük demet ise elementer fibril olarak adlandırılmaktadır. Elementer fibriller bir araya gelerek mikrofibrilleri, mikrofibriller bir araya gelerek lamelleri meydana getirmektedir. Elektron mikroskobu ile görülebilen en küçük yapısal birim mikrofibrildir (Şekil 1). Mikrofibriller arasında genişliği 10 nm olan dar aralıkları lignin ve diğer ara maddeler doldurmaktadır [38, 39].



2.4. Nanoselüloz

Mevcut biyomalzeme bilimi olan nanoselüloz, biyotıp, çevre, enerji, eczacılık, tarım ve gıda gibi farklı alanlardaki mevcut gereksinimleri karşılamaya çalışarak yeni ve çok işlevli özelliklere sahip yeni malzemeler geliştirmeyi amaçlamaktadır. Her tür nanoselüloz benzer kimyasal bileşime sahiptir, ancak kristallik derecelerinde, parçacık boyutlarında ve morfolojik özelliklerinde büyük farklılıklar vardır [40].

Üç tip nanoselüloz vardır; selüloz nanokristalleri (CNC), selüloz nanofiber (CNF) ve bakteriyel nanoselüloz (BNC). Nanoselülozun çeşitli avantajlarına rağmen, bazı dezavantajları vardır. CNF'nin aksine, CNC, amorf bölgelerin uzaklaştırılması nedeniyle sınırlı esnekliğe sahiptir. Hidroliz sırasında selüloz zincirlerinin rastgele kırılması nedeniyle, CNC'nin çapları aynı ölçüde değildir. Nanoselülozun yüzeyinde çok miktarda reaktif hidroksil grup vardır, bu da yüzey özelliklerini çeşitli kimyasal modifikasyonlarla değiştirmeyi mümkün kılar [41].

Nanoselülozun gelecek vaat eden malzemeleri, yüksek en boy oranı, daha iyi mekanik özellikler, yenilenebilirlik, biyolojik olarak parçalanabilir, toksik olmayan ve diğerleri gibi çok sayıda üstün özelliklerinden dolayı ilgi görmektedir. Nanoselülozun özellikleri, nanoselüloz elde etmek için kullanılan hammaddelere ve yöntemlere bağlıdır [42].

2.5. Selüloz Nanokristal

Selüloz, bitki hücre duvarından doğal olarak elde edilen uzun zincirli toksik olmayan karbonhidrat bazlı doğal bir biyopolimerdir. Organik bir bileşik olan selüloz, hem bitkilere hem de hayvanlara gerekli yapıyı sağlayan doğrusal zincirlerden ve bağlı birimlerden oluşur [43].

Selülozun çok sayıda uygulaması vardır [44]. Biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen yapısı, vücut dokularına yerleştirilebilir ve toksik değildir [45]. Amorf ve kristalin türdeki selüloz türleri makro lifler, fibriller, gözenekler ve mikro ve nanokristaller gibi çeşitli bölgeler sergiler [46].

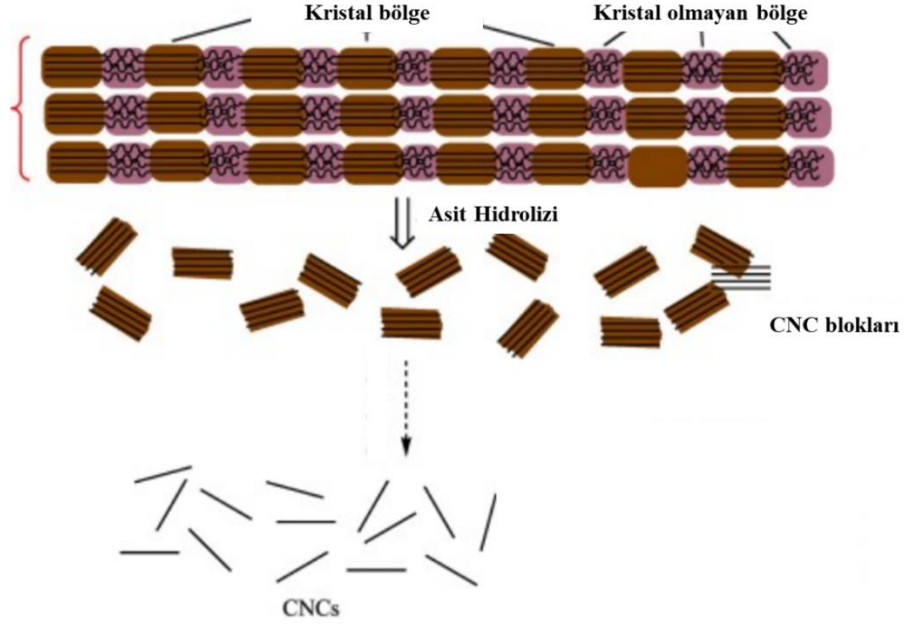
Biyo bazlı selüloz nanokristalleri (CNC), mühendislik özellikleri arasında yüksek yüzey / hacim oranı, yüksek gerilme mukavemeti, yüksek sertlik ve yüksek esneklik özellikleri bulunur. Üst düzey teknik ve biyolojik uygulamalara uyarlanmış özelliklere sahip olacak şekilde kimyasal olarak değiştirilebilirler. Kimyasal, optik, mekanik ve reolojik özellikleri nedeniyle, bu nanomalzemeler birçok araştırmada kullanılmaktadır [44, 47]. Tablo 2’de CNC’in fiziksel, mekanik, termal ve biyolojik özelliklerinden bahsedilmiştir.

Tablo 2. Selüloz nanokristalin fiziksel ve yapısal özellikleri.

Selüloz Nanokristalin Özellikleri			
CNC boyutları	Genişliği	~ 3 nm - 50 nm	[48]
	Çapı	~ 3-5 nm	[49]
	Uzunluğu	~ 100-300 nm	
Mekanik Özellikleri	Teorik Çekme Dayanımı	~ 7.5-7.7 GPa	[50]
	Elastik Modülü	~ 150 GPa	[51]
	Bir CNC'nin Enine Modülü	~ 18-50 GPa	[52]
Termal Özellikleri	CNC kütleinin; %40'ını	150-300°C	[53]
	%30'unu	300-600°C arasında kaybeder.	[54]
	Kademeli termal geçişler gözlenmiştir.		
Biyolojik Özellikleri	Toksisite, biyolojik bozunabilirlik ve		[55]
	biyoyumluluk biyolojik özelliklerin örnekleridir.		[47]

Biyolojik materyaller için en önemli gereksinimlerden biri biyoyumluluktur. Önemli sayıda makale CNC'lerin toksisitesini doğrulayarak, biyomedikal uygulamalar için kabul edilebilir kılmaktadır [56, 57].

Asit hidrolizi, CNC'lerin hazırlanması için kullanılan yöntemlerden biridir. Nanokristallerin hazırlanmasında çeşitli mineral asitler, örneğin sülfürik asit (H_2SO_4) [58], müratik asit (HCl) [59], hidrobromik asit [60] ve ortofosforik asit (H_3PO_4) [61] kullanılmaktadır (Şekil 2). Şekil 2'de asit hidrolizi sonucu selülozdan kristal yapının elde edilmesi gösterilmiştir. Asit hidrolizi uygun şartlar altında, yapıdaki kristal olamayan bölgelerin uzaklaştırılmasını sağlamaktadır.



Şekil 2. Selüloz asit hidrolizinden CNC oluşumunun şematik gösterimi [62].

Asit hidrolizi ile CNC'lerin oluşum mekanizması, asitlerin hidrojen iyonlarının monosakkarit birimleri arasındaki glikosidik bağları yok etmesi ile gerçekleşir. Bu nedenle, asit hidroliz teknikleriyle hazırlanan CNC'lerin fizikokimyasal özellikleri genellikle ana malzemeler ve reaksiyon parametreleri ile ilişkilidir [62, 63].

2.6. Biyokütle Kaynağı: Üzüm

Üzüm (*Vitis spp*), binlerce yıldır yetiştirilen ve şarap yapımında kullanılan en önemli meyve mahsullerinden biridir. Üzüm; üzüm suları, tohum yağı, kuru üzüm, sirke, reçel ve jölelerde kullanılmaktadır. Bununla birlikte 2018-19 yıllarında dünya genelinde toplam üzüm üretimi 22.15 milyon metrik ton olmuştur [64]. Dünya genelinde 50 milyon ton üzüm üretiminden Avrupa ülkelerinden yapılan üretim 27 milyon tona karşılık gelirken, önde gelen şarap üreten ülkeler İtalya, Fransa ve İspanya'dır. Bunu dikkate alarak üzümlerin yaklaşık %75'i yılda 27 milyar litre şarap üretiminde kullanılmaktadır [65].

Üzümler, dünya çapında taze tüketimi veya halk arasında “şarap” olarak bilinen preslenmiş içecek için yetiştirilen yenilebilir meyvelerdir. Üzüm posasının yolculuğu hasattan hemen sonra üzüm suları şaraba işlendiğinde başlar. Üzümlerin sapları ve taneleri, anti-besleyici bileşenler içerdikleri için çıkarılır, ancak bazen gerekli şarap bileşimine ve duyuşal özelliklere bağlı olarak fermantasyon işlemi sırasında kasıtlı olarak eklenir [64].

Üzümler, fermantasyon sırasında gerekli şekerleri (glukoz ve fruktoz) dışarı atmak için belirli bir basınçta önceden kalibre edilmiş silindirlere preslenir. Üzüm posası, şarabın kırmızı rengine katkıda bulunan antosiyanin pigmentleri içerir ve bu nedenle, kırmızı şarabın hazırlanması sırasında, ekstrakte edilen meyve suyu, kağıt hamuru ile birlikte fermente edilir ve 28-30°C'lik sıcaklıklarda birlikte sıkılır ve tüm şeker maya tarafından alkole dönüştürülene kadar bir veya iki hafta bekletilir. Bu nedenle beyaz şarap yapım endüstrileri, kırmızı şarap endüstrilerine kıyasla daha fazla posa üretmektedir [64, 65].

3. DENEYSEL KISIM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Toluen (C_7H_8), Etanol (C_2H_5OH), Sodyum Hidroksit ($NaOH$), Hidrojen Peroksit (H_2O_2), Sülfirik asit (H_2SO_4). İlgili çalışmanın bütün aşamalarında deiyonize su (ddH_2O) kullanıldı.

3.2. Üzüm Posasının Organik İzolasyonu

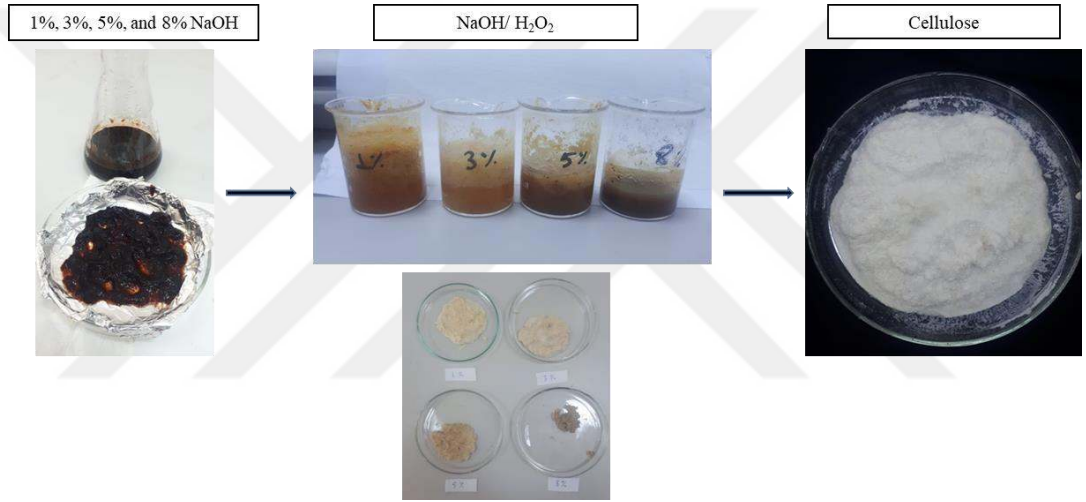
Alikante (*Vitis spp*) tipi üzüm posası $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat etüvde kurutuldu. Tamamen kurumuş katı madde çekirdeklerinden ayrılıp öğütüldü. Öğütülmüş üzüm posası ilk önce balmumu, fenolik bileşikler, pigmentleri ve yağları çıkarmak için 10 saat boyunca bir Soxhlet aparatında toluen / etanol (2: 1, v / v) karışımı ile ekstrakte edildi ve 24 saat boyunca $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de kurutulması için etüve bırakıldı.



Şekil 3. Selüloz nanokristal izolasyonunun ilk aşamasıdır. Etüv ile kurutulan hammaddenin sokslet aparatı ile organik izolasyonu.

3.3. Selüloz İzolasyonu

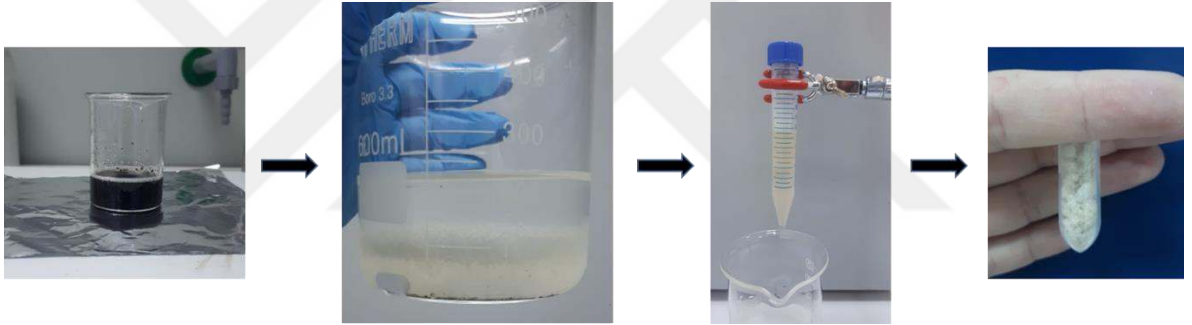
Sokslet aparatından elde edilen katıya NaOH/H₂O₂ işlemi görülmüştür. Farklı konsantrasyonlarda (1%, 3%, 5% ve 8%) NaOH çözeltisi hazırlanmıştır. Oda sıcaklığında 24 saat sabit karıştırma altında katı özüt işleme tabi tutulmuştur. Daha sonra 90 °C’de 6 saat boyunca sabit karıştırma altında işleme devam edilmiştir. Vakum altında filtrelenip birkaç defa ddH₂O ile yıkanıp, kuruması için 24 saat boyuca 70°C’de etüve bırakılmıştır. Elde edilen katı, 4% H₂O₂ (pH=11.5 NaOH ile ayarlanmış) ile 6 saat 45°C’de sabit karıştırmaya bırakılmıştır. Filtrelenip yıkama işlemi yapıldıktan sonra liyofilizatör ile kurutma işlemi yapılmıştır.



Şekil 4. Selüloz izolasyonunun deneysel adımları.

3.4. Selüloz Nanokristal (CNC) Hidrolizi

Üzüm posasından izole edilen selüloz, mekanik karıştırma altında 30 dakika boyunca 45 ° C'de 58 wt% sülfürik asit (0.05 g selüloz / mL) kullanılarak hidrolize edildi. Asit hidrolizi, buzlu su (5° C) ile 10 kat seyreltilerek durduruldu. Asit çözeltisini ortadan kaldırmak için 15 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüjleme yapıldı. CNC çökeltileri toplandı ve nötr duruma gelene kadar damıtılmış su ile durulandı. Süpernatant, diyalizat nötr hale gelene kadar birkaç gün boyunca suya karşı diyalize edildi. Daha sonra CNCs süspansiyonu olarak süpernatant elde etmek için 15 dakika boyunca 5000 rpm'de santrifüjlendi. CNC süspansiyonu daha sonra büyük CNCs agregalarını bozmak için 5 dakika % 40 genlik ile bir buz banyosunda sonikleştirildi. Daha sonra 2 µm gözenek boyutlu şırınga filtresinden süzülür. Sulu CNC süspansiyonu 4 ° C'de saklandı.



Şekil 5. Selüloz nanokristal hidrolizinin deneysel adımları.

3.5. Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Saflaştırma ve hidroliz işlemlerinden sonra numunelerin kimyasal yapılarındaki değişiklikler FT-IR spektrumları ile araştırılmıştır. FT-IR spektrumları, 400-4000 cm⁻¹ arasında değişen dalga boylarında bir kızılötesi spektrofotometre üzerinde analiz edildi.

3.6. Geniş açılı X-ışını kırınımı (XRD)

Numunelerin kristallliği, 40 kV ve 40 mA'lık Ni filtreli Cu-K α radyasyon kaynağı ile donatılmış bir Philips X'pert Pro difraktometre kullanılarak XRD ile belirlendi. Numuneler 5-50° (2 θ), (10°/dak) aralığında, 0.02° adım büyüklüğü ve oda sıcaklığında 1 saniye adım süresi ile tarandı. Kristallik indeksi (*CrI*) Segal, Creely, Martin Jr ve Conrad'a [66] göre Denklem (1) kullanılarak belirlendi.

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

burada I_{002} , kristalin bölgenin yaklaşık 2 θ = 22.5°'deki maksimum kırınım yoğunluğudur ve I_{am} , yaklaşık 2 θ = 18°'deki amorf bölgeye atfedilen kırınım yoğunluğudur.

3.7. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Numunelerin yüzey morfolojisi Philips XL 30S FEG kullanılarak SEM ile değerlendirildi. Kuru numuneler, karbon şeritle kaplanmış alüminyum saplamalara yapıştırılmış ve daha sonra altınla kaplanmıştır ve vakum koşullarında 5 kV'lık bir hızlanma voltajı kullanılarak gözlemlenmiştir.

3.8. Termogravimetrik analiz (TGA)

Termal özellikler TGA (Perkin Elmer Diomand TG / DTA) tarafından 30-600 ° C sıcaklık aralığında, aynı ısıtma hızında 10 ° / dak, azot atmosferi altında 50 mL / dak akış hızında analiz edildi.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

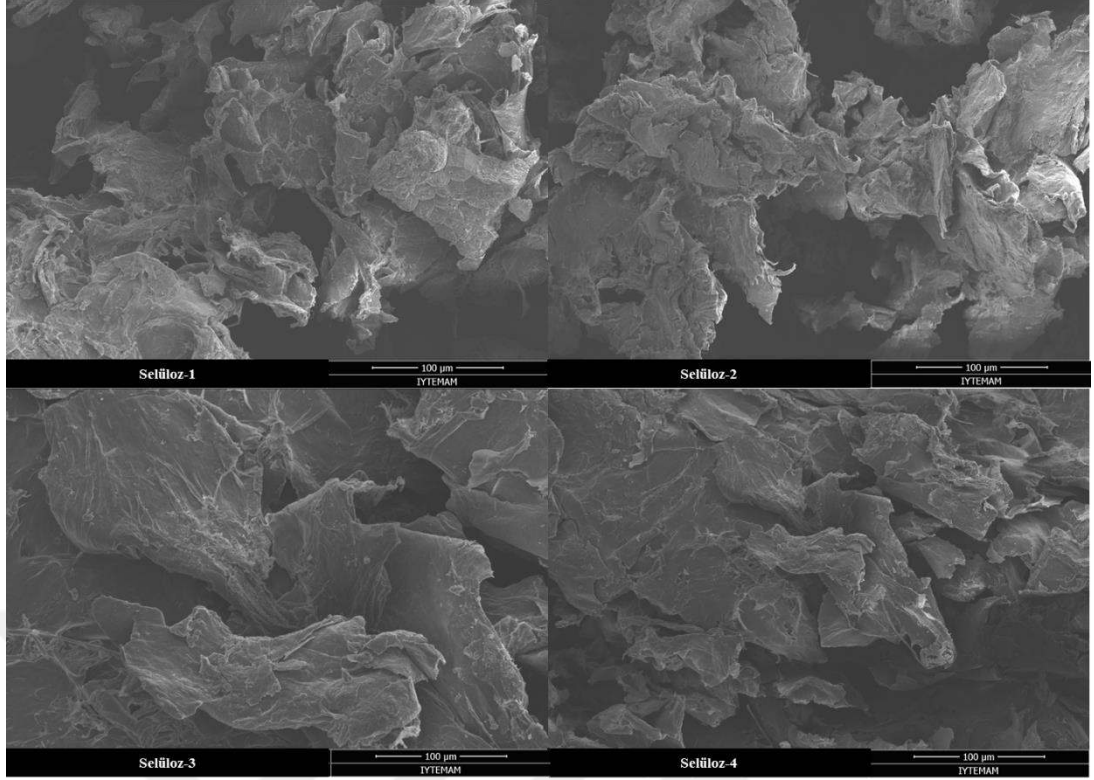
4.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Bu çalışmada ele alınan farklı konsantrasyon oranlarında izole edilen selülozdan üretilmiş selüloz nanokristalinin yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak analiz edildi. Tablo 3, selülozun izolasyon konsantrasyonuna göre isimlendirilmesini ve selülozun izolasyon konsantrasyon farkına göre hidrolize CNC'i göstermektedir. Selüloz-1, %1 NaOH/H₂O₂ alkali konsantrasyonundan izole edildi. CNC-1, Selüloz-1'den izole edildi. Diğer isimlendirmeler de aynı şekildedir.

Tablo 3. Hidroliz edilen CNC'in selülozun izolasyon konsantrasyon farkına göre isimlendirilmesini göstermektedir.

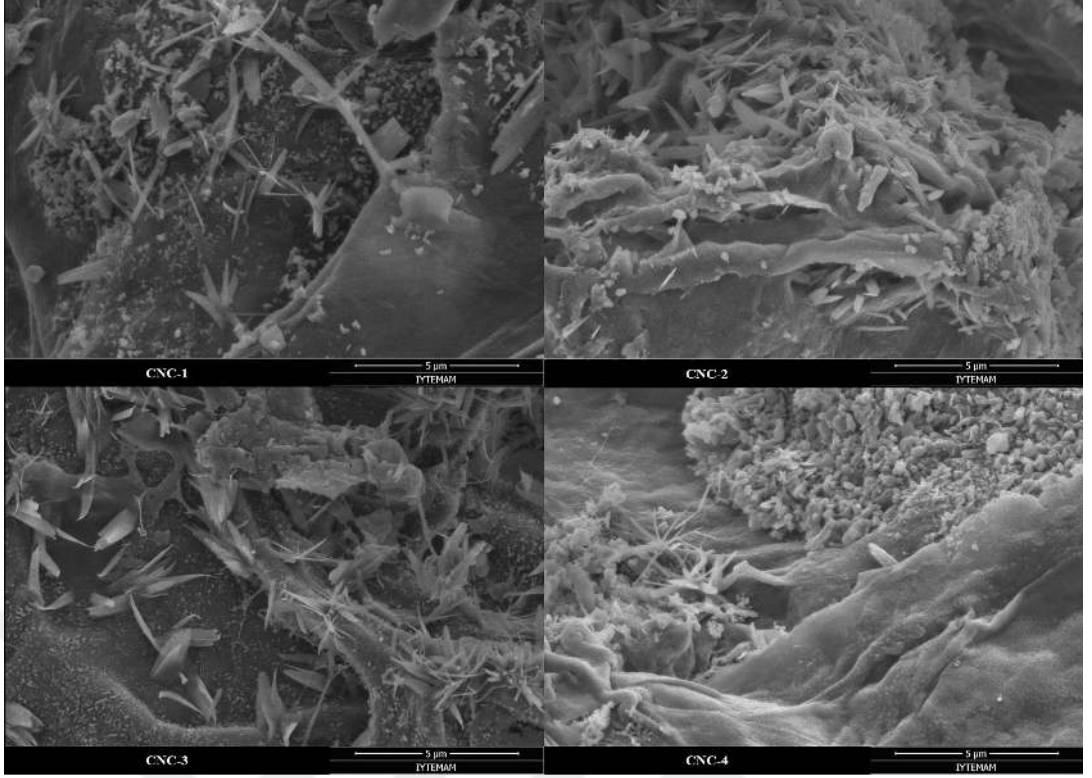
İsimlendirme	Konsantrasyon oranı
Selüloz-1 / CNC-1	%1 NaOH/H ₂ O ₂ Selüloz
Selüloz-2 / CNC-2	%3 NaOH/H ₂ O ₂ Selüloz
Selüloz-3 / CNC-3	%5 NaOH/H ₂ O ₂ Selüloz
Selüloz-4 / CNC-4	%8 NaOH/H ₂ O ₂ Selüloz

Şekil 6, alkali konsantrasyon oranlarındaki değişiklikler sonucu elde edilen selülozun SEM görüntülerini göstermektedir. Üzüm posasından çıkarılan selüloz, SEM tarafından, düzensiz şekilli selüloz katıları olarak gözlenmiştir (Şekil 6). Bu selüloz parçaları, izolasyon işlemlerini takiben selüloz mikrofibril demetlerinden oluşur.



Şekil 6. Farklı alkali konsantrasyonlarında saflaştırılan selülozun SEM görüntüsü.

Şekil 7’te üretilen CNC’in mikrofiber yüzey pürüzlülüğünü, çapı ve uzunluğundaki farklılıkları göstermektedir. İmal edilen CNC, ilgili asit hidroliz üretim koşulları nedeniyle uzunluk ve çap bakımından farklılık gösteren çubuk şeklindeki kristal parçacıklardan oluşmaktadır. Alkali ağartma konsantrasyon farklılığına göre elde edilen selülozlardan morfolojik olarak farklı tiplerde CNC üretilmiştir.

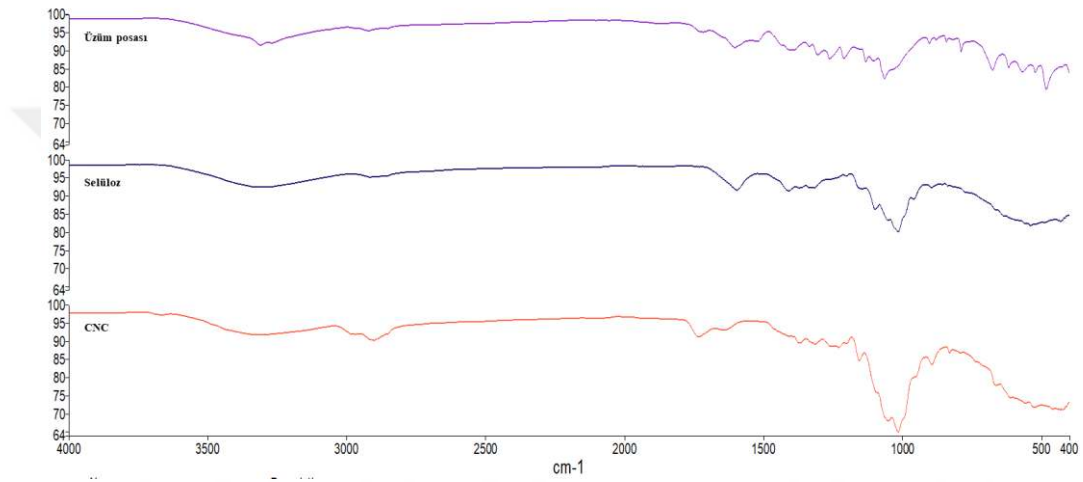


Şekil 7. Farklı konsantrasyon oranlarında saflaştırılan selülozun kristal formuna çevrilmesi sonucu hidroliz edilen CNC'lerin SEM görüntüleri.

CNC-1'de gözlenen düzensiz partiküller, selüloz yapısının eksik hidrolizine yol açan daha düşük alkali hidroliz oranına bağlı olduğunu göstermektedir. Buna karşılık, CNC-2 ve CNC-3, daha düzenli ve uzun parçacık uzunluklarına sahip, iğne benzeri kristallerden oluşmaktadır. CNC-4'de kristal form ve mikrofibril form birlikte gözlenmektedir. Dört farklı konsantrasyon oranı incelendiğinde en düzenli yapıda ve kristal formda CNC-2 elde edilmiştir. Sonuç olarak, artan alkali ağartma işleminin, mikrofibril uzunluklarının ve çaplarının azalmasına ve yüzey pürüzlülüğünün artmasına neden olduğunu göstermektedir. En verimli sonuç %3 NaOH/H₂O₂ oranında elde edilmiştir.

4.2. Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

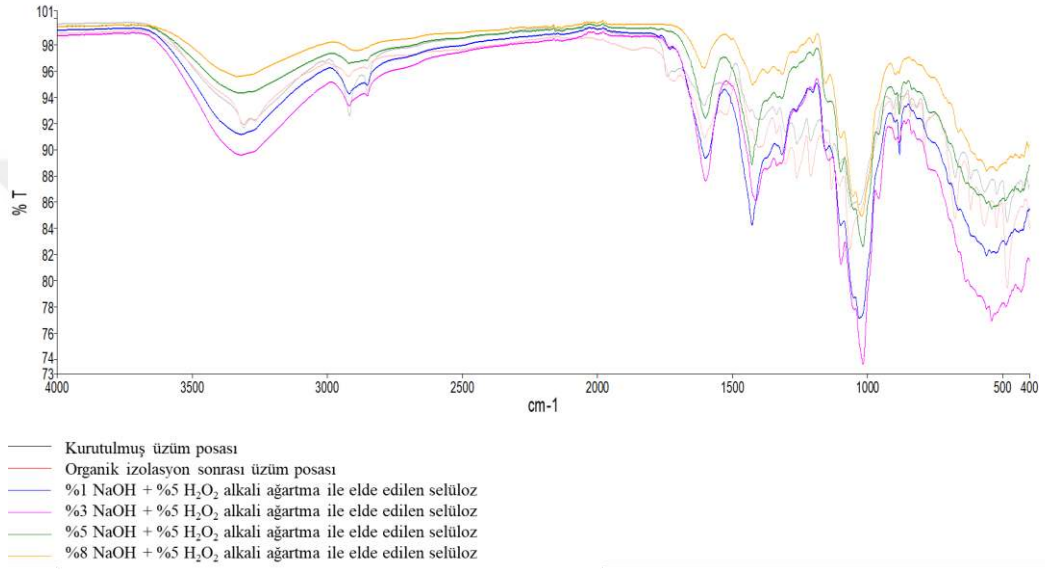
FTIR, en yaygın kızılötesi spektroskopi şeklidir. Tüm kızılötesi spektroskopiler, kızılötesi (IR) radyasyon bir numuneden geçtiğinde, radyasyonun bir kısmının emildiği prensibine göre hareket eder. Farklı yapıdaki moleküller farklı spektrumlar ürettiğinden, spektrumlar molekülleri tanımlamak ve ayırt etmek için kullanılabilir. Bu şekilde, spektrumlar moleküllerin kimyasal yapıları hakkında bilgi vermektedir [67].



Şekil 8. Üzüm posasının, ekstrakte edilmiş selülozun ve selüloz nanokristalin FTIR sonuçları.

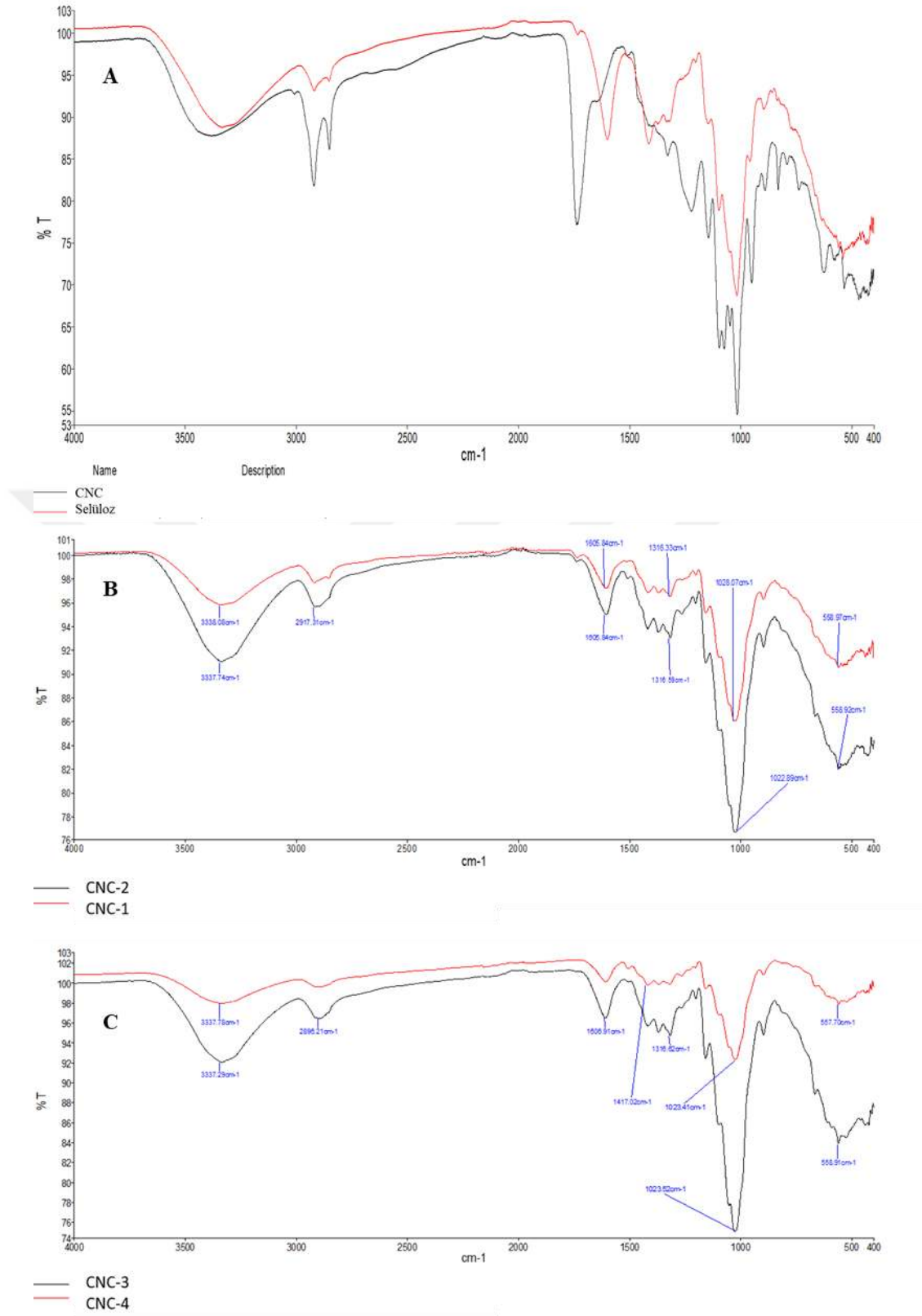
Şekil 8’da elde edilen ürünün FTIR spektrumları kimyasal yapısının selüloz olduğunu göstermektedir. Üzüm posasının spektrumu, 1500-500 cm⁻¹ parmak izi bölgesinde bol miktarda keskin emilim tepe noktası göstermektedir (Şekil 8-Üzüm posası) [68].

Üründeki en belirgin spektral değişim, 1741 (karbonil gerilmesi) ve 1530 (aromatik iskelet titreşimleri) cm^{-1} 'de iki tepe noktasının olmamasıdır (Şekil 8-Selüloz) [69]. 1741 cm^{-1} karbonil zirvesi, pektin, ksilan ve hemiselüloz gibi polisakkaritlerin yanı sıra bazı fenolik asitlerin varlığını gösterir. 1530 cm^{-1} 'deki tepe, fenoliklerin tipik aromatik yapılarından gelir [70]. Bu iki tepe noktasının ürünün spektrumundan yokluğu, üzüm posasındaki diğer polisakkaritlerin ve fenoliklerin tamamen çıkarıldığını doğrulamaktadır.



Şekil 9. Farklı konsantrasyon oranları ile elde edilen selülozun FTIR ile karakterizasyonu.

Tüm numuneler, saflaştırılması ve hidrolizi sırasında kimyasal bileşimlerinde herhangi bir değişiklik göstermeyen hemen hemen aynı spektrumları göstermiştir. Ürünün FTIR'ı, O-H germe titreşimine karşılık gelen 3650– 3000 cm^{-1} bölgesindeki geniş bantlar, C-H germe titreşimine karşılık gelen 2900 cm^{-1} 'deki tepe noktası, 1800-600 cm^{-1} bölgesindeki ünitelerin deformasyon, sallanma ve büküm modları da dahil olmak üzere selülozun tüm karakteristik özelliklerini açıkça göstermiştir (Şekil 9) [53].



Şekil 10. %3 NaOH/H₂O₂ alkali ağartma ile elde edilen selüloz ve asit hidrolizi ile elde edilen CNC'in FTIR sonuçları (A). CNC-1 ve CNC-2'nin FTIR analiz sonuçları (B). CNC-3 ve CNC-4'ün FTIR analiz sonuçları (c).

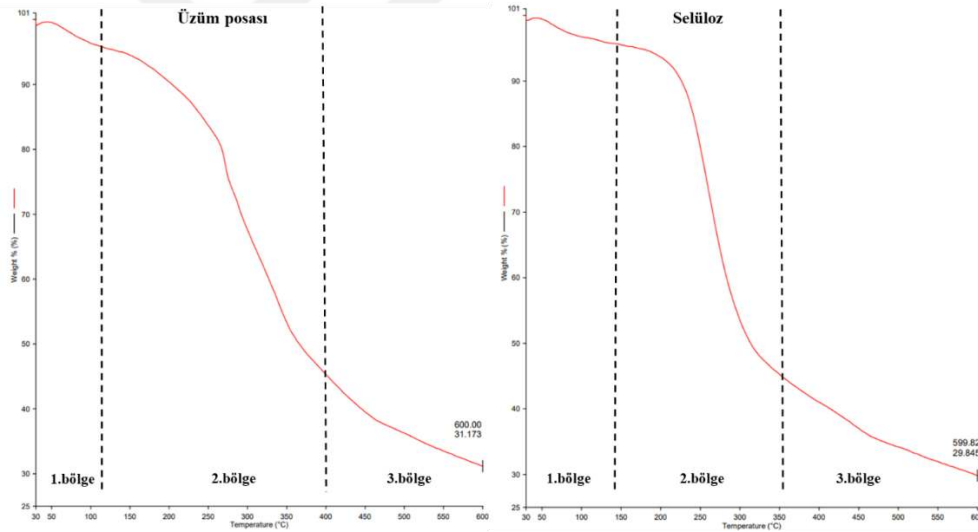
Sülfürik asit hidrolizinden sonra elde edilen CNC'lerin FTIR spektrumlarında önemli bir değişiklik olmamıştır. Bu, hem hidroliz sıcaklığının hem de zamanının selülozun yapısını değiştirmediği anlamına gelir. Ayrıca, CNC'lerin yoğunluğu, hem işlenmemiş üzüm posasına hem de izole edilen selüloza kıyasla daha yüksektir (Şekil 8 ve Şekil 10). Artan yoğunluk, kimyasal saflaştırma ve sülfürik asidin hidrolizinden sonra selülozun artan kristalliği ile ilişkili olabilir.



4.3. Termogravimetrik analiz (TGA)

Termal analiz yöntemleri, farklı sıcaklık ve yükler altındaki mekanik değişimleri ölçer ve önemli termal olayların ne zaman ve hangi sıcaklıkta meydana geldiğini tam olarak belirleyebilir [71].

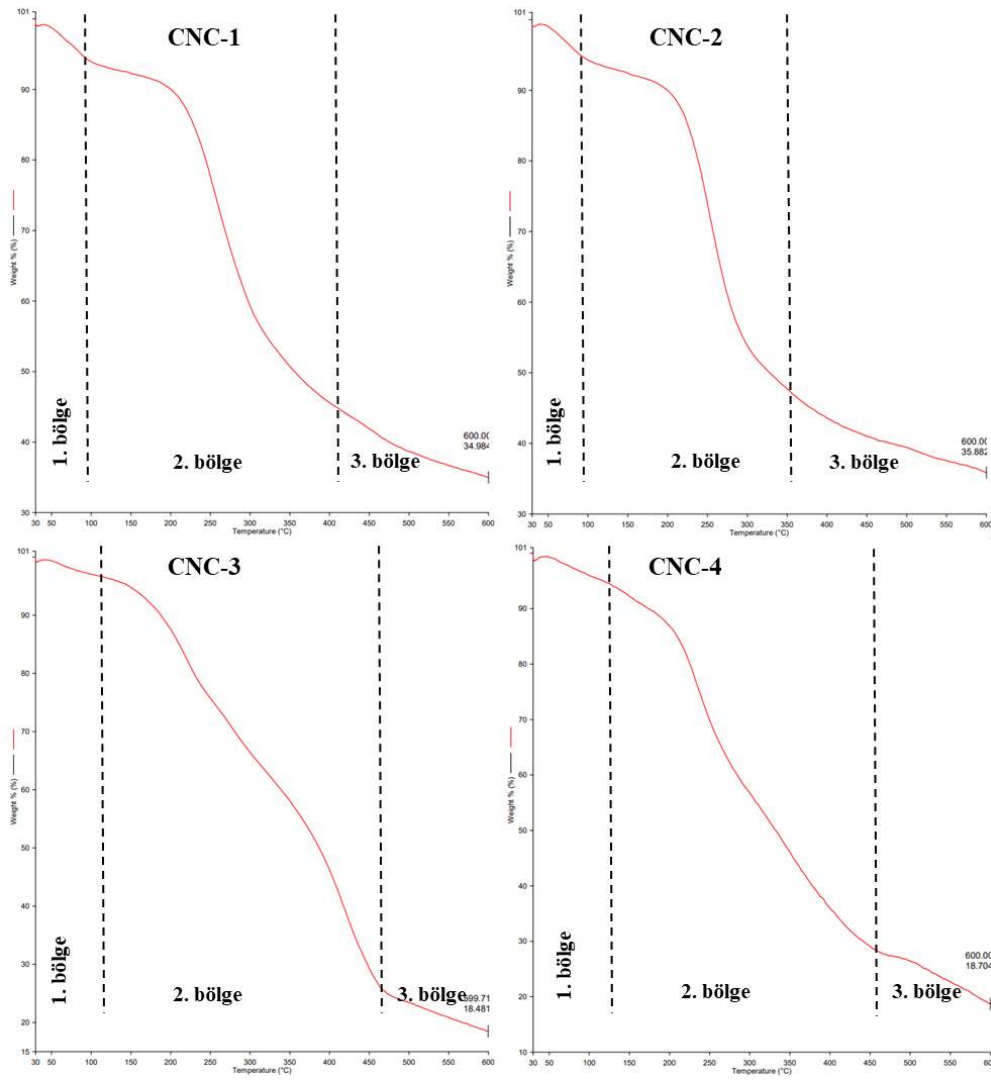
Şekil 11, işlenmemiş üzüm posası ve %3 NaOH/H₂O₂ alkali izolasyon sonucu elde edilmiş selülozun termogravimetri (TG) eğrisini göstermektedir. Şekil 12, farklı alkali izolasyonları sonucu elde edilen selülozun hidroliz sonucu elde edilen CNC'lerin TG eğrilerini göstermektedir. Şekil 11 ve Şekil 12'da, tüm örneklerin üç termal bozunma bölgesinde benzer davranışlar gösterdiği izlenmiştir. 1. bölge (30-130°C), hafif bir kütle kaybıyla numuneler tarafından emilen nemin buharlaşmasına atfedilebilir.



Şekil 11. Üzüm posası ve %3 NaOH/H₂O₂ alkali izolasyon sonucu elde edilmiş selülozun termogravimetri (TG) eğrisini.

Selülozun ilk ayrışma sıcaklığı, işlenmemiş üzüm posasına kıyasla daha yüksekti. Bu, kimyasal saflaştırma sırasında daha düşük termal stabiliteye sahip bazı hemiselülozların salınmasından kaynaklıdır ve termal stabilitenin düşmesine neden olur [72].

Şekil 12'de %3 NaOH/H₂O₂ alkali izolasyon sonucu elde edilmiş selülozdan hidroliz edilerek hazırlanan CNC-2'nin, tüm numuneler arasında en düşük su ağırlığı kaybını sergilediği görülmektedir. Bu, CNC'in yüksek kristal içeriği ile ilişkilidir.



Şekil 12. Sülfürik asit hidrolizi ile elde edilen CNC'lerin termogravimetri (TG) eğrisini.

Tüm numuneler birbirinden farklı sıcaklık aralığında termal bozunma sergilemiş olsa da, ortalama 130-450 °C (2. bölge) sıcaklık aralığında termal bozulmanın ana aşamasını sergilemiştir. Bu bölge, tüm numuneler arasında en yüksek termal bozunmayı göstermektedir ve selülozun depolimerizasyonu sonucu karbon monoksit, metan ve karbondioksit gibi uçucu maddeler açığa çıkmıştır [73].

3. bölge (450-600°C), hidrojen, etilen, etan ve katran gibi uçucu maddeler üretmek için termal bozunma ara maddelerinin daha fazla parçalandığını göstermektedir [74]. Ek olarak, daha küçük boyutlu CNC'lerin termal direnci daha büyük olanlardan daha düşüktür, çünkü daha küçük boyutlu CNC'ler çok daha geniş bir spesifik yüzey alanına sahiptir [75].

4.4. Geniş açılı X-ışını kırınımı (XRD)

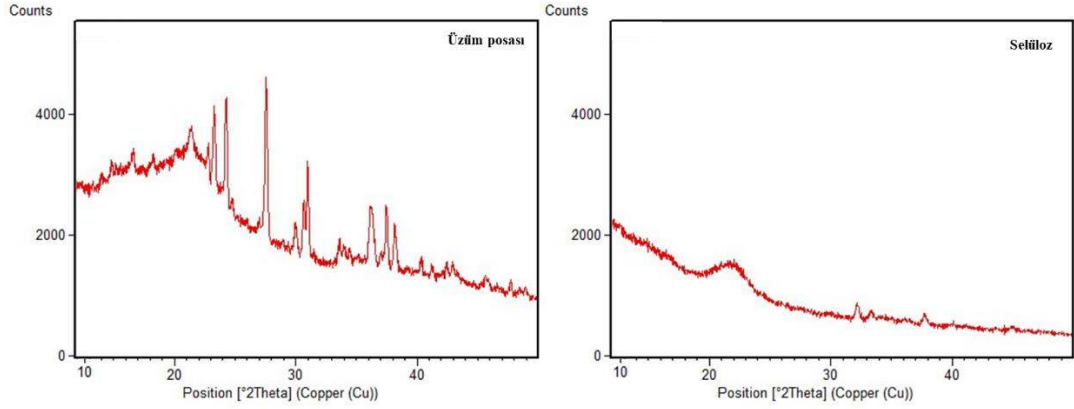
İşlenmemiş ham üzüm posası, %3 NaOH/H₂O₂ alkali izolasyon sonucu elde edilmiş selülozun ve farklı alkali konsantrasyon ile hazırlanmış selülozlardan hidroliz edilen CNC'lerin XRD grafikleri Şekil 13 ve Şekil 14'te gösterilmiştir. CNC'lerin farklı alkali konsantrasyonlar sonucu hidrolizinde kristallik indeksi Segal denklemi (Eq.1) ile hesaplanmıştır ve sonuçları Tablo 4'de sunulmuştur.

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

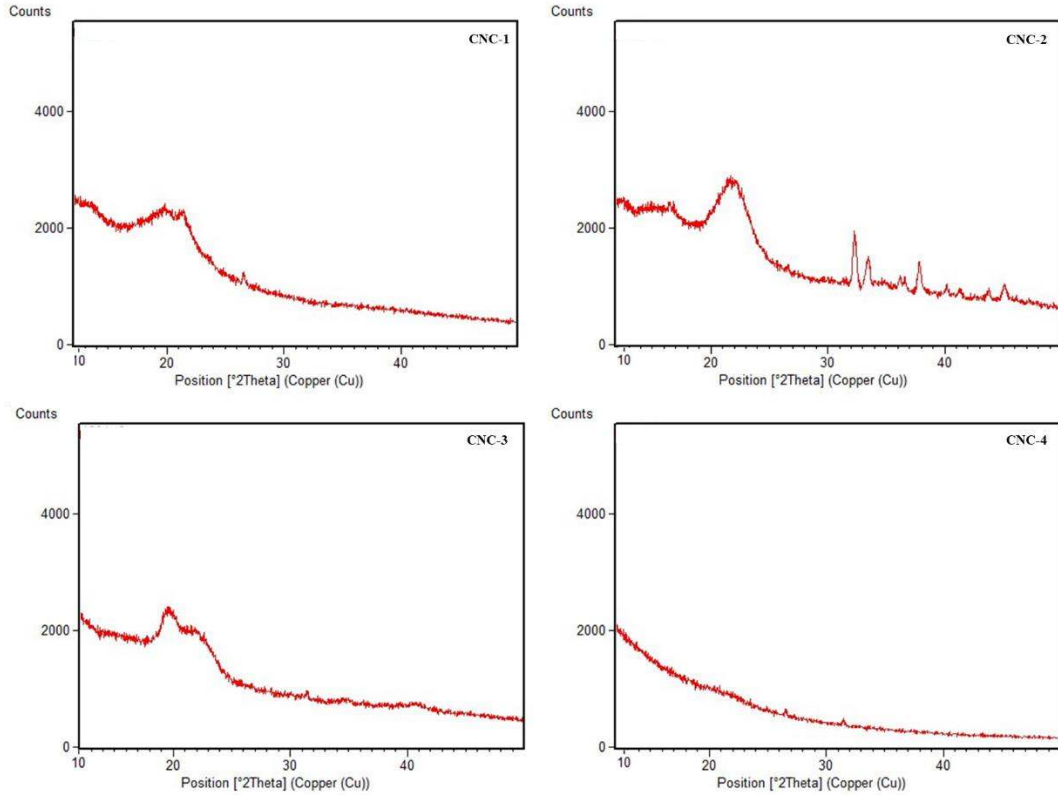
Bu bağıntıda I_{002} ; $2\theta=22.5^\circ$ 'de 002 düzlemindeki kristal alan kırılma yoğunluğunu; I_{am} ise $2\theta=18^\circ$ 'da amorf bölgenin kırılma yoğunluğunu ifade etmektedir [66]. Sonuçlara göre kimyasal saflaştırmanın hemiselüloz ve ligninin çözünmesi nedeniyle kristallliği arttırdığını göstermektedir [76].

Tablo 4. Ham üzüm posası, farklı alkali konsantrasyon sonucu elde edilen selüloz ve bu selülozlardan hidroliz edilen CNC'lerin kristallik indeksi.

Ürün adı	Alkali konsantrasyonu (%)	Reaksiyon süresi (dakika)	Sülfirik asit konsantrasyonu (%)	Kristallik CrI (%)
Ham üzüm posası	-	-	-	1.22
Selüloz	%3 NaOH/H ₂ O ₂	30	58	25
CNC-1	%1 NaOH/H ₂ O ₂ Selüloz	30	58	36
CNC-2	%3 NaOH/H ₂ O ₂ Selüloz	30	58	63.9
CNC-3	%5 NaOH/H ₂ O ₂ Selüloz	30	58	60.8
CNC-4	%8 NaOH/H ₂ O ₂ Selüloz	30	58	1.02



Şekil 13. Üzüm posası ve %3 NaOH/H₂O₂ alkali izolasyon sonucu elde edilmiş selülozun geniş açılı X-ışını kırınımı (XRD) grafiği.



Şekil 14. Sülfürik asit hidrolizi ile elde edilen CNC'lerin geniş açılı X-ışını kırınımı (XRD) grafiği.

Selüloz ve CNC'lerin kristallik indeksi (CrI) sırasıyla %25, %36, %63.9, %60.8 ve %1.02'dir. XRD pik noktaları hammadde kaynağına bağlı olarak farklılık gösterebilir. Bu farklılık organik izolasyon sonrası selüloz izolasyonundaki alkali konsantrasyon farkından kaynaklıdır. Sülfürik hidrolize bağlı amorf bileşenlerin uzaklaştırılması, CNC'lerin artan kristallik indeksinden sorumlu olabilir [77].

Kristallik indekslerindeki bu farklılık selülozun saflaştırılmasında kullanılan alkali konsantrasyonuna bağlanmıştır. Selülozun saflaştırılmasında en yüksek oran %3 NaOH/H₂O₂ alkali izolasyon sonucu elde edilmiş ve buna takiben kristallik indeksi en yüksek olan bu selülozdan elde edilen CNC'de gözlenmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu bilimsel çalışma, selüloz nanokristallerinin tarım ve sanayi atığı materyalinden, yani üzüm posasından, ekstraksiyonu ve izolasyonu hakkında fikir vermektedir. Organik izolasyon ve farklı konsantrasyondaki alkali ağartmalar sonucu selüloz saflaştırılması gerçekleşmiştir. Elde edilen selülozlara uygulanan asit hidrolizi sonucu CNC'ler elde edilmiştir. Farklı karakterizasyon teknikleri ile selülozun ve CNC'lerin morfolojisi, kimyasal yapısı, termal stabilitesi ve kristallik oranı hakkında analizler yapılmıştır.

Ogunjobi ve arkadaşları deneysel çalışmalarında siam otu kullanmışlardır ve CNC elde ettiler. Bizde benzer çalışma ile CNC'i asit hidroliz yöntemi kullanarak hazırladık ve yapısal olarak FTIR ile aynı bantları gözlemledik [78]. TGA analizine göre, selülozun ilk ayrışma sıcaklığı, işlenmemiş bir üzüm posasına kıyasla daha yüksektir. Bunun nedeni, kimyasal saflaştırma sırasında daha düşük termal stabiliteye sahip bazı hemiselülozların salınmasıdır, bu da termal stabilitede bir azalmaya yol açar [72]. Tüm CNC'ler kristallik indeks değerlerinde farklılıklar gösterdi. Kristallik indeksinin alkali izolasyon konsantrasyonundan etkilendiği bulunmuştur [79].

XRD kristalin yapısal verileri, FTIR sonuçları ve TGA termal davranışları ile birlikte incelendiğinde izole edilen ürünün saf selüloz olduğunu ve bu selülozdan elde edilen CNC'lerin hidroliz edildiğini göstermektedir. Bu yapısal analizler, organik izolasyonun ve farklı konsantrasyonlarda alkali izolasyonun, selülozun üzüm posasından elde edilmesinde oldukça etkili olduğunu göstermiştir. Elde edilen yüksek saflıktaki selüloz ile CNC'lerin hidrolizi yapılan analizler ile ispatlanmıştır. Selüloz ve CNC'in üzüm posasından izole etmek için bu başarılı yaklaşım, diğer fenolik bakımından zengin biyokütlelerde farklı kimyasal koşullar altında sentezlenmesi için mükemmel bir prototip görevi görmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Klemm D., Kramer F., Moritz S., Lindstrom T., Ankerfors M., Gray D., Dorris A. (2011). Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. *Angewandte Chemie-International Edition*, 50 (24), 5438-5466.
- [2] Beres C., Costa G.N.C., Cabezudo I., da Silva-James N.K., Teles A.S.C., Cruz A.P.G., Mellinger-Silva C., Tonon R.V., Cabral L.M.C., Freitas S.P. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management Journal*. 68, 581-594.
- [3] Mendes A., Rettore D., Ramos A., da Cunha S., de Oliveira L., Ramos E. (2014). Milano type salami elaborated with fibers of red wine byproducts. *Ciencia Rural*. 44, 1291-1296.
- [4] Garcia-Lomillo J., Gonzalez M. (2017). Applications of wine pomace in the food industry: approaches and functions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food safety*. 16, 3-22.
- [5] Maier T., Göppert A., Kammerer D.R., Schieber A., Carle R. (2008). Optimization of a process for enzyme-assisted pigment extraction from grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *European Food Research and Technology*. 227, 267-275.
- [6] Kumar, R., Strezov, V., Weldekidan, H., He, J., Singh, S., Kan, T., Dastjerdi, B. (2020). Lignocellulose biomass pyrolysis for bio oil production: A review of biomass pretreatment methods for proection of drop in fuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 123, 109763.
- [7] Feng, Y., Tao. L., Zheng, Z., Huang, H., Lin, F. (2020). Upgrading agricultural biomass for sustainable energy storage: Bioprocessing, electrochemistry, mechanism, *Energy Storage Materials*.
- [8] Li, Z., Guo, D., Liu, Y. (2020). Wang, H., Wang, L., Recent advances and challenges in biomass-derived porous carbon nanomaterials for supercapacitors. *Chemical Engineering Journal*. 397, 125418.
- [9] Rodriguez, M., Camacho, J.A. (2020). The development of trade of biomass in Spain: A raw material equivalent approach. *Biomass and Bioenergy*. 133, 105450.
- [10] Lee, M., Lin, Y., Chiuesh, P., Den, W. (2020). Environmental and energy assessment of biomass residues to biochar as fuel: A brief review with recommendations for future bioenergy systems. *Journal of Cleaner Productions*. 251, 119714.

- [11] Zubair, M., Wang, S., Zhang, P., Ye, J., Liang, J., Nabi, M., Zhou, Z., Tao, X., Chen, N., Sun, K., Xiao, J., Cai, Y. (2020). Biological nutrient removal and recovery from solid and liquid manure: Recent advance and perspective. *Bioresource Technology*. 301, 122823.
- [12] Kalemekiewicz, J. Ve Chmielarz, U. (2012) Ashes from co-combustion of coal and biomass: New industrial wastes. *Resources Conservation and Recycling*. 69, 109-121.
- [13] Nunes, L.J.R., Cause, T.P., Ciolkosz, D. (2020). Biomass for energy: A review on supply chain management models. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 120, 109658.
- [14] Alinejad M., Henry C., Nikafshar S., Gondaliya A., Bagheri S., Chen N., Singh S.K., Hodge D.B., Nejad M. (2019). Lignin-based polyurethanes: opportunities for bio-based foams, elastomers, coatings and adhesives. *Polymers*. 11 (7), 1202.
- [15] Holladay J.E., White J.F., Bozell J.J., Johnson D. (2007). Top value added chemicals from biomass - volume II, results of screening for potential candidates from biorefinery lignin. Pacific Northwest National lab. (PNNL), Richland, WA (United States); National renewable energy lab. (NREL), golden. CO (United States). 1-87.
- [16] Huber G.W., Iborra S., Corma A. (2006). Synthesis of transportation fuels from Biomass: chemistry, catalysts, and engineering. *Chemical Reviews*. 106 (9), 4044-4098.
- [17] Yeğin, S. (2017). *Aureobasidium pullulans ile ksilanaz üretimine etki eden biyoproses parametrelerin belirlenmesi*, *GIDA/The Journal of FOOD*, 42(1), 67-75.
- [18] Morrison, I.M., Brice, R.E., Mousdale, S.A. (1989). Biodegradation of Lignocellulosic Materials: Present Status and Future Prospects, Feeding Strategies for Improving Productivity of Ruminant Livestock in Developing countries. *Organic Process Research & Development*. 191-204.
- [19] Kim, S., Dale, B.E. (2004). Global Potential Bioethanol Production from Wasted Crops and Crop Residues. *Biomass and Bioenergy*. 26: 361-375.
- [20] Souza Coelho, C.C., Silva, R.B.S., Carvalho, C.W.P., Rossi, A.L., Teixeira, J.A., Freitas-Silva, O., Cabral, L.MC. (2020). Cellulose nanocrystals from grape pomace and their use for the development of starch-based nanocomposite films. *International Journal of Biological Molecules*. 159, 1048-1061.

- [21] Morais Teixeira, E. Bondancia, T.J. Teodoro, K.B.R. Corrêa, A.C. Marconcini, J.M. Mattoso L.H.C. (2011). Sugarcane bagasse whiskers: extraction and characterizations. *Industrial Crops and Products*. 33 (63), 63-66.
- [22] Lu, P. ve Hsieh, Y. (2012). Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from rice straw. *Carbohydrate Polymer*. 87 (1), 564-573.
- [23] Dufresne, A., Cavaille, J.Y., Helbert, W. (1997). Thermoplastic nanocomposites filled with wheat straw cellulose whiskers. Part II: effect of processing and modeling. *Polymer Composition*, 18 (2), 198-210.
- [24] Kumar, A., Ramakanth, D., Akhila, K., Gaikwad, K.K. (2023). Influence of halloysite nanotubes/microfibrillated cellulose on pine leaves waste based ethylene scavenging composite paper for food packaging applications. *Applied Clay Science*. 231, 106726.
- [25] Demirbaş, A. (2005). Potential applications of renewable energy sources, biomass combustion problems in boiler power systems and combustion related environmental issues. *Progress in Energy and Combustion Science*. 32(2), 171-192.
- [26] Bicu, I. ve Mustata, F. (2011). Cellulose extraction from orange peel using sulfite digestion reagents. *Bioresource Technology*. 102(21), 10013-10019.
- [27] Deepa, B., Abraham, E., Cherian, B.M. , Bismarck, A., Blaker, J.J., Pothan, L.A., Kottaisamy, M. (2011). Structure, morphology and thermal characteristics of banana nano fibers obtained by steam explosion. *Bioresource Technology*. 102 (2), 1988-1997.
- [28] Bano, S., Negi, Y.S. (2017). Studies on cellulose nanocrystals isolated from groundnut shells. *Carbohydrate Polymers*. 157, 1041-1049.
- [29] Valenzuela, M.B., Jones, C.W., Agrawal, P.K. (2006). Batch Aqueous-Phase Reforming of Woody Biomass. *Energy Fuels*. 20, 1744–1752.
- [30] Beguin, P., Aubert, J.P. (1994). The biological degradation of cellulose, *FEMS Microbiological Reviews*. 13, 25–58.
- [31] Kim, J., Lee, H.W., Lee, S.M., Jae, J., Park, Y. (2019). Overview of the recent advances in lignocellulose liquefaction for producing biofuels, bio-based materials and chemicals. *Bioresource Technology*. 279, 373-384.

- [32] Fengel, D., Wegener, G. (1984). Wood Chemistry, ultrastructure, reactions, 482-520, Walter De Gruyter, Verlag.
- [33] Sjöström, E. (1993). Wood Chemistry: Fundamentals and application. Academic press. 204-222.
- [34] Eriksson, K.E., Blanchette, R.A., Ander, P. (1990). Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components, 225-333. Springer-Verlag KG.
- [35] Lynd, L. R., Wyman C.E., Gerngross T.U. (1999). Biocommodity engineering. Biotechnology Progress. 15, 777–793.
- [36] Johar, N., Ahmad, I., Dufresne, A. (2012). Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. Industrial Crops and Products. 37(1), 93–99.
- [37] Johansson, E., Krantz-Rultcker, C., Zhang, B. X. (1999). Chlorination and biodegradation of lignin. Soil Biology & Biochemistry. 1029-1032.
- [38] Saxena, I.M.; Brown, R.M.J. (2005). Cellulose Biosynthesis: Current views and evolving concepts. Annals of Botany. 96, 9-21.
- [39] Tozluoğlu, A., Çöpür, Y., Özyürek, Ö., Çıtlak, S. (2015). Nanoselüloz üretim teknolojisi. Turkish Journal of Forestry. 16(2), 203-219.
- [40] Shak K.P.Y., Pang Y.L., Mah S.K. (2018). Nanocellulose: recent advances and its prospects in environmental remediation. Beilstein Journal of Nanotechnology. 9, 2479-2498.
- [41] Thomas P., Duolikun T., Rumjit N.P., Moosavi S., Lai C.W., Bin Johan M.B., Fen L.B. (2020). Comprehensive review on nanocellulose: recent developments, challenges and future prospects. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 110, 103884.
- [42] Philip R.R.E., Paul S., Madhavan A., Raveendran S., Parameswaran B., Pandey A., Sirohi R. (2020). Nanocellulose-based products for sustainable applications – recent trends and possibilities. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. 19, 779-806.
- [43] Aziz T., H. Fan, F. Haq, F.U. Khan, A. Numan, A. Ullah, N. (2019). Facile modification and application of cellulose nanocrystals. Iranian Polymer Journal. 28 (8), 707-724.
- [44] George J., Sabapathi S.N. (2015). Cellulose nanocrystals: Synthesis, functional properties, and applications. Nanotechnology. Science and Applications. 8, 45-54.

- [45] Roman M., Dong S., Hirani A., Lee Y.W. (2009). Cellulose nanocrystals for drug delivery. ACS Symposium Series.
- [46] Trilokesh C., Uppuluri K.B. (2019). Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from jackfruit peel. Scientific Reports. 9 (1), 1-8.
- [47] Sunasee R., Hemraz U.D., Ckless K. (2016). Cellulose nanocrystals: A versatile nanoplatform for emerging biomedical applications. Expert Opinion on Drug Delivery. 13 (9), 1243-1256.
- [48] George J., Siddaramaiah A. (2012). High performance edible nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals. Carbohydrate Polymers. 87 (3), 2031-2037.
- [49] George, J., Bawa, A. S., & Siddaramaiah. (2010). Synthesis and characterization of bacterial cellulose nanocrystals and their PVA nanocomposites. Advanced Materials Research. 123–125, 383–386.
- [50] Iwamoto S., Kai W., Isogai A., Iwata T. (2009). Elastic modulus of single cellulose microfibrils from tunicate measured by atomic force microscopy. Biomacromolecules. 10 (9), 2571-2576.
- [51] Moon R.J., Martini A., Nairn J., Simonsen J., Youngblood J. (2011). Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites. Chemical Society Reviews. 40 (7).
- [52] Šturfová A., Davies G.R., Eichhorn S.J. (2005). Elastic modulus and stress-transfer properties of tunicate cellulose whiskers. Biomacromolecules. 6 (2), 1055-1061,
- [53] Lu P., Hsieh Y.L. (2010). Preparation and properties of cellulose nanocrystals: Rods, spheres, and network. Carbohydrate Polymers. 82 (2), 329-336.
- [54] Roman M., Winter W.T. (2004). Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. Biomacromolecules. 5, 1671-1677
- [55] Johnston H., Brown D., Kermanizadeh A., Gubbins E., Stone V. (2012). Investigating the relationship between nanomaterial hazard and physicochemical properties: Informing the exploitation of nanomaterials within therapeutic and diagnostic applications. Journal of Controlled Release. 164 (3), 307-313.
- [56] Ganguly K., Patel D.K., Dutta S.D., Shin W.C., Lim K.T. (2020). Stimuli-responsive self-assembly of cellulose nanocrystals (CNCs): Structures, functions, and

biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 155, 456-469.

[57] Pelegrini B.L., Ré F., Oliveira M.M., Fernandes T., Oliveira J.H., Oliveira Junior A.G., Souza Lima M.M. (2019). Cellulose Nanocrystals as a sustainable raw material: Cytotoxicity and applications on healthcare technology. *Macromolecular Materials and Engineering*, 304 (8).

[58] Beck-Candanedo S., Roman M., Gray D.G. (2005). Effect of reaction conditions on the properties and behavior of wood cellulose nanocrystal suspensions. *Biomacromolecules*. 6, 1048-1054.

[59] Yu H., Qin Z., Liang B., N.Liu, Zhou Z., Chen L. (2013). Facile extraction of thermally stable cellulose nanocrystals with a high yield of 93% through hydrochloric acid hydrolysis under hydrothermal conditions. *Journal of Materials Chemistry A*. 1, 3938-3944.

[60] Sadeghifar H., Filpponen I., Clarke S.P., Brougham D.F., Argyropoulos D.S. (2011). Production of cellulose nanocrystals using hydrobromic acid and click reactions on their surface. *Journal of Materials Science*. 46, 7344-7355.

[61] Gan I., Chow W.S. (2019). Synthesis of phosphoric acid-treated sugarcane bagasse cellulose nanocrystal and its thermal properties enhancement for poly (lactic acid) nanocomposites. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*. 32, 619-634.

[62] Rana A.K., Frollini E., Thakur V.K. (2021). Cellulose nanocrystals: Pretreatments, preparation strategies, and surface functionalization. *International Journal of Biological Macromolecules*. 182,1554-1581.

[63] Kontturi E., Meriluoto A., Penttilä P.A., Baccile N., Malho J.M., Potthast A., Rosenau T., Ruokolainen J., Serimaa R., Laine J. (2016). Degradation and crystallization of cellulose in hydrogen chloride vapor for high-yield isolation of cellulose nanocrystals. *Angewandte Chemie-International Edition*. 55, 14455-14458.

[64] Scoma A., Rebecchi S., Bertin L., Fava F. (2016). High impact biowastes from South European agro-industries as feedstock for second-generation biorefineries. *Critical Reviews in Biotechnology*. 36 (1), 175-189.

[65] Amienyo D., Camilleri C., Azapagic A. (2014). Environmental impacts of consumption of Australian red wine in the UK. *Journal of Cleaner Production*. 72, 110-119.

- [66] Segal, L., Creely, J. J., Martin, A. E., Jr., & Conrad, C. M. (1959). Empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*, 29(10), 786–794.
- [67] Biswas S., Rahaman T., Gupta P., Mitra R., Dutta S., Kharlyngdoh E., Guha S., Ganguly J., Pal A., Das M. (2022). Cellulose and lignin profiling in seven, economically important bamboo species of India by anatomical, biochemical, FTIR spectroscopy and thermogravimetric analysis. *Biomass and Bioenergy*. 158, 106362.
- [68] Meyer, A. S. ve Arnous, A. (2008). Comparison of methods for compositional characterization of grape (*Vitis vinifera* L.) and apple (*Malus domestica*) skins. *Food and Bioproducts Processing*. 86(C2), 79–86.
- [69] Meyer, A. S., Pinelo, M., ve Arnous, A. (2006). Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science and Technology*. 17(11), 579–590.
- [70] Souquet, J. M., Labarbe, B., Le Guerneve, C., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2000). Phenolic composition of grape stems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(4), 1076–1080.
- [71] Kristanto J., Azis M.M., Purwono S. (2021). Multi-distribution activation energy model on slow pyrolysis of cellulose and lignin in TGA/DSC. *Heliyon*. 7(7).
- [72] Tao P., Wu Z., Xing C., Zhang Q., Wei Z., Nie S. (2019). Effect of enzymatic treatment on the thermal stability of cellulose nanofibrils. *Cellulose*. 26, 7717–7725.
- [73] Isaac A., Paula J., Viana C.M., Henriques A.B., Malachias A., Montoro L.A. (2018). From nano- to micrometer scale: the role of microwave-assisted acid and alkali pretreatments in the sugarcane biomass structure, *Biotechnology Biofuels*. 11 (73), 1–11.
- [74] Yang H., Yan R., Chen H., Dong H.L., Zheng C. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*. 86, 1781–1788.
- [75] Quievy N., Jacquet N., Sclavons M., Deroanne C., Paquot M., Devaux J. (2010). Influence of homogenization and drying on the thermal stability of microfibrillated cellulose. *Polymer Degradation and Stability*. 95, 306–314.
- [76] Alemdar A., Sain M. (2008). Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues—Wheat straw and soy hulls. *Bioresource Technology*. 99 (6), 1664–1671.
- [77] Yang X., Xie H., Du H., Zhang X., Zou Z., Zou Y., Liu W., Lan H., Zhang X., Si C. (2019). Facile extraction of thermally stable and dispersible cellulose nanocrystals

with high yield via a green and recyclable FeCl₃-Catalyzed Deep Eutectic Solvent System. ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 7 (7), 7200–7208.

[78] Ogunjobi, J.K., Adewale, A.I., Adeyemi, S.A. (2023). Cellulose nanocrystals from Siam weed: Synthesis and physicochemical characterization. Heliyon. 9(1), e13104.

[79] Aryasena, R., Kusmono, N. Umami, (2022). Production of cellulose nanocrystals extracted from Pennisetum purpureum fibers and its application as a lubricating additive in engine oil. Heliyon. 8(11), e11315.

