

## Yeşil Ceviz Kabuklarının Biyoaktif Özelliklerinin FT-IR Spektroskopi Yöntemiyle Tahmin Edilmesi

Pınar Kadiroğlu<sup>1</sup>, Halil Ekici<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana<sup>2</sup>Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kilis

Geliş Tarihi (Received): 17.07.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 27.03.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [pkadiroglu@adanabtu.edu.tr](mailto:pkadiroglu@adanabtu.edu.tr) (P. Kadiroğlu)

☎ 0 322 455 00 00– 2120 📠 0 322 455 00 09

### ÖZ

Ceviz (*Juglans regia* L.) sağlık ve beslenme açısından çok değerli yağlı tohumlardan biridir. Dünya ceviz üretiminde ilk sıralarda yer alan ülkelerden Çin, İran ve ABD'den sonra 180.000 tonluk üretimiyle Türkiye gelmektedir. Ceviz zengin besleyici öğelere sahip olmakla birlikte sağlık üzerine faydalı özellikleri bakımından da önemi artarak anlaşılan bir üründür. Cevizin iç kısmının önemi bilinmekle birlikte ceviz kabuğu genellikle atılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, farklı çözümler kullanılarak kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarından ekstraktlar elde edilmesi ve bu ekstraktların biyoaktif, antimikrobiyal özelliklerinin ve antioksidan kapasitesinin belirlenerek Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi ile tahmin edilmesidir. Farklı ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Antimikrobiyal analiz sonuçlarına göre ceviz kabuklarının sulu ekstraktları *Staphylococcus aureus* bakterisi üzerine etkinliği daha fazla bulunmuştur. FT-IR spektral verinin kısmi en küçük kareler (PLS) regresyon analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinin açıklama (belirtme) katsayısı  $> 97\%$ , kalibrasyon ve çapraz geçerlilik hatalarının ortalama karekökü değerleri 3.03 ile 5.35 aralığında bulunmuştur. Elde edilen bulgular PLS analizi ile oluşturulan modellerin iyi tahmin etme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Yeşil ceviz kabuğu, Ekstraksiyon, İnfrared spektroskopi, Kemometri

### Prediction of Bioactive Properties of Walnut Green Husks Using FT-IR Spectroscopy

#### ABSTRACT

Walnut is a widely consumed, nutritive and healthy crop in the world. China, the US, and Iran are the leading countries of walnut production, and Turkey is among the main producers ranking fourth with 180.000 tons of production rate. Walnut green husk is a valuable agricultural by-product that is commonly used in traditional medicine for alleviating pain and treating skin diseases related to its antioxidant properties and health benefits. This study aimed to find the effect of solvent type on extraction of bioactive compounds and to predict the extraction effects in rapid and reliable method such as Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. Solvent efficiency was evaluated using different polarity solvents such as water, methanol, ethanol, acetone and aqueous solutions of methanol, ethanol and acetone for the extraction of walnut green husks. Analysis of variance results revealed that there was a significant difference among the total phenolic contents and antioxidant activities of different extracts. Antimicrobial activity analysis demonstrated that water extracts showed higher activity against *Staphylococcus aureus*. According to the results of partial least squares (PLS) regression analysis to predict the total phenol content and antioxidant capacity of extracts,  $R^2$  values of calibration and cross validation models were higher than 97% with root mean square error of calibration (RMSEC) and root mean square error of cross validation (RMSECV) values ranging from 3.03 to 5.35. It can be concluded that PLS models had high predictive capability.

**Keywords:** Green walnut husks, Extraction, Infrared spectroscopy, Chemometrics

## GİRİŞ

Ceviz (*Juglans regia* L.), *Juglandaceae* familyası ve *Juglans* cinsinde yer almaktadır. *Juglans* cinsine ait olan türler içerisinde özellikleri tanımlanmış ve yüksek kaliteli meyveye sahip olan tür *J. regia* olarak belirlenmiştir. Dünyadaki ceviz üretimi 1.5 milyon tonun üzerindedir. Dünya ceviz üretiminde ilk sıralarda Çin, ABD ve İran yer almaktadır [1, 2]. Türkiye 180.000 tonluk üretimiyle diğer meyve türlerinde olduğu gibi cevizin de anavatanları arasında bulunmaktadır [2]. Ceviz sağlık ve beslenme bakımından çok önemli bir üründür. Ceviz ağacının yan ürünlerinin birçok uygulama alanı bulunmaktadır. Yeşil ceviz kabukları, çekirdekleri, iç kabuk ve yaprakları kozmetik ve ilaç sanayisinde kullanılmaktadır [3]. Ceviz yan ürünlerinin fenolik karakterizasyonu üzerine birçok çalışma bulunmaktadır [4, 5]. Fenolik bileşiklerden juglone bütün ceviz ve yan ürünlerinde bulunmaktadır ve antimikrobiyal etkisinin olduğu bilinmektedir [3]. Bitkisel yan ürünler antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılabilir [6, 7]. Tüketicilerin kimyasal koruyucuları kullanmayı tercih etmemeleri gibi nedenlerle doğal antimikrobiyal maddelerin kullanımına olan ilgi artmıştır. Bu nedenle, ceviz ve yan ürünlerinin ve atık ürünlerinin doğal antioksidan ve antimikrobiyal ajan olarak kullanımı artırılmalıdır ve önemi vurgulanmalıdır. Gıdalardan elde edilen maliyeti düşük atık ürünlerin tekrar kullanılmaları çevresel ve ekonomik yararları açısından önemlidir.

FT-IR spektroskopisi örneklerin makromoleküler yapısında bulunan fonksiyonel grupların titreşimlerinden kaynaklanan yapısal, kompozisyonel ve fonksiyonel farklılıkların belirlendiği bir yöntemdir. Spektral data, analiz edilerek kalitatif ve kantitatif olarak pik pozisyonlarındaki değişimler, bant genişliklerindeki ve bant yoğunluklarındaki değişimler incelenerek analiz edilen örnek hakkında yapısal bilgiler edinilmektedir. FTIR spektroskopisi, örnek yapısına zarar vermeden, hızlı, kolay uygulanabilen ve hassas bir yöntem olması bakımından avantajlıdır [8]. FT-IR biyolojik sistemlerin analizinde moleküler değişimleri izlemek için de kullanılan bir yöntemdir. Elde edilen veriler fonksiyonel gruplara yakın veya aynı seviyedeki yağlar, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi hücrel bileşiklerdeki değişimlerin belirlenmesi için kullanılabilir [9, 10]. FT-IR ile madde içerisindeki molekül ve atomların infrared ışığı absorpsiyonu ve spektral veri tabanları ile karşılaştırılması ile tanımlanan parmakizine benzer spektrumlar elde edilir [11]. FT-IR yönteminin çok değişkenli data analiz yöntemleri ile birlikte gıdaların sınıflandırılmasında ve kalite kontrolünde kullanılabilme potansiyeli bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda FT-IR yöntemi gıdalarda taşıyıcı analizlerinde [12, 13], meyvelerin organik asit ve şeker içeriğinin belirlenmesinde [14], zeytinyağı analizlerinde [15, 16, 17], meyvelerin polifenol içeriklerinin belirlenmesinde [18] kullanılmıştır. Ceviz yağının kullanıldığı bir çalışmada, FT-IR analizi ceviz yağının karakterizasyonunda ve soya yağı ilave edilerek taşıyıcının tespitinde kullanılmış ve FT-IR yöntemi ile %10 saptama limitinde soya yağı taşıyıcı tespit edilebilmiştir [19]. Ceviz atıklarının ya da yan ürünlerinin FT-IR ile analiz edildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, FT-IR yönteminin farklı çözümler kullanılarak elde edilen yeşil ceviz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi gibi biyoaktif özelliklerinin tahmin edilmesinde hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılma potansiyeli araştırılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Ekstraktların Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan 2016 yılı mahsulü olan yeşil cevizlerden (*Juglans regia* L.) elde edilen ceviz kabukları kuru olarak temin edilmiş, ekstraksiyon işleminden önce karıştırıcı yardımıyla öğütülmüştür. Sulu ekstraktın hazırlanması sırasında, 200 g'lık örnek içerisinden 5 g toz örnek tartılarak 250 mL kaynamış su içerisinde 45 dakika süresince karıştırılmış ve Whatman no:4 filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Metanol, etanol, aseton, metanol-su %50 (v/v), etanol-su %50 (v/v), ve aseton-su %50 (v/v) ekstraksiyonu için 1.5 g örnek tartılarak 25 mL çözümler içerisinde 45 dakika oda sıcaklığında karıştırılmış ve Whatman no:4 filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Çözümler vakum altında Büchi R-210 marka rotary evaporatör içerisinde 80°C'de uçurulmuş ve ekstraktlar su içerisinde 50 mg/mL son konsantrasyon olacak şekilde çözündürülmüş ve 4°C'de saklanmıştır. Ekstraksiyon işlemi 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir [20].

### Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarında toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi [21] tarafından bildirilen yöntemin değiştirilerek kullanılmasıyla belirlenmiştir. Farklı çözümler ile ekstrakte edilen örneklerden 1 mL alınarak üzerine 2 mL (%7,5 w/v) sodyum karbonat çözeltisi ve 1 mL %10'luk Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilmiş ve 90 dakika karanlık ortamda bekletildikten sonra çözümlerin absorbans değerleri 765 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazı (Cary 60, Agilent Technologies, Santa Clara, CA) ile ölçülmüştür. Standart çözelti için 0-100 mg/L arasında hazırlanan gallik asit çözümleri kullanılmıştır. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı standartlardan elde edilen kalibrasyon grafiği ( $R^2=0.99$ ) kullanılarak hesaplanan sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L olarak hesaplanmıştır [20].

### Antioksidan Aktivite Tayini

Kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarında antioksidan aktivite analizleri, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radikalinin mor renginin açılmasına dayanan yöntemle yürütülmüştür [22]. Analiz için 0.3 mL ekstrakt alınarak 2.7 mL metanol içerisinde hazırlanan DPPH çözeltisi ( $6 \times 10^{-5}$  M) içerisine eklenmiştir. Çözelti 60 dakika karanlık bir ortamda ve oda sıcaklığında bekletilmiş, inkübasyon sonunda 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri Cary 60 UV-Vis spektrofotometre cihazı (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) kullanılarak ölçülmüştür. Örneklerin antioksidan kapasitesi Trolox standardından elde edilen

kalibrasyon grafiği ( $R^2=0.99$ ) yardımıyla hesaplanarak sonuçlar  $\mu\text{mol Trolox eşdeğeri} (TE)/L$  olarak verilmiştir.

### Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Kurutulmuş yeşil ceviz kabuğu örneklerinin antimikrobiyal aktiviteleri agar difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Bakteriler triptik soy agar üzerinde  $35^\circ\text{C}$ 'da 18-24 saat inkübasyon sonunda aktifleştirilmiş ve bakteri çözeltilisinin bulanıklığı 0.5 McFarland birimi olacak şekilde steril tuzlu su çözeltisi kullanılarak ayarlanmıştır. 0.5 McFarland birimine denk olan koloni sayısı triptik soy agar besiyerine ekim yapılarak  $35^\circ\text{C}$ 'de 18-24 saat inkübasyon sonucunda belirlenmiştir. Bakteri kültürleri  $45-50^\circ\text{C}$ 'ye soğutulan Muller Hinton Agar içerisine %1 oranında inokule edilmiştir. Ceviz kabuğu ekstraktları  $0.22 \mu\text{m}$  gözenek çapındaki membran filtrelerden geçirilerek steril hale getirilmiştir. Besiyeri üzerinde açılan kuyucuklar içerisine hazırlanan ekstraktlar  $20 \mu\text{l}$  olacak şekilde eklenmiştir.  $35^\circ\text{C}$  for 18-24 saat inkübasyon sonunda zon çapları ölçülmüştür [23].

### FT-IR Analizleri

FT-IR analizleri için örneklerden  $25 \mu\text{L}$  alınarak kristal ATR (Attenuated Total Reflectance) üzerine damlatılmıştır. FT-IR absorpsiyon spektrumu FT-IR spektrometresi (Perkin-Elmer Spectrum Two™, Waltham, MA, ABD) kullanılarak  $4,000$  ve  $450 \text{ cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında,  $0.5 \text{ cm}^{-1}$  spektral rezolusyonda ve 4 tarama sayısı sonucunda elde edilmiştir. Her bir örnek için en az 3 spektrum elde edilmiştir.

### Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler

Analiz sonuçları Minitab17 (Minitab Inc., State College, ABD) istatistik programı kullanılarak ANOVA testi ile örnekler arasındaki farklılıkların önem derecesi Fisher'in en küçük anlamlı fark (LSD) yöntemi ile  $P<0.05$  düzeyinde belirlenmiştir. PLS regresyon analizleri SIMCA paket programı (Umetrics, İsveç) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. FT-IR spektral datasının  $3000-950 \text{ cm}^{-1}$  arasında taranan tüm bölgeler analiz için kullanılmıştır. Spektral data kullanılan program ile otomatik olarak standardize edilmiş ve ortalama merkezleştirilmiştir.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

#### Örneklerin Biyoaktif ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Yapılan analiz sonuçlarına göre kurutulmuş yeşil ceviz kabuğu ekstraktlarında çözgen tipine göre toplam fenolik madde miktarı  $146.30 - 44.04 \text{ mg GAE/L}$  değişmektedir. Ceviz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri Tablo 1'de verilmiştir. Sonuçlara göre en yüksek toplam fenolik madde miktarı su ile elde edilen ekstraktlarda bulunmuştur. DPPH aktivite sonuçlarına göre en yüksek antioksidan aktivite aseton ile en düşük aktivite metanol ile yapılan ekstraktlarda elde edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı tayinine göre ise en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı su ile yapılan ekstraktlarda, en düşük toplam fenolik bileşik miktarı ise metanol ile yapılan ekstraktlarda elde edilmiştir. Çalışmamızda toplam fenolik madde miktarı ceviz kabuklarının su ekstraktlarında Fernandez Agulló ve ark. [20] tarafından bildirilen çalışmada bulunan sonuçlardan daha yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada bildirilen antioksidan aktivite sonuçlarına göre su ekstraktlarının DPPH aktivite sonuçları çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar ile paralellik göstermiş fakat etanol ve metanol ekstraktlarının sonuçları çalışmamızda daha düşük bulunmuştur. Genel olarak toplam fenolik bileşik miktarları ile antioksidan aktiviteleri ilişkili çıkmıştır. Antimikrobiyal aktivite analizleri sonucunda su ekstraktlarının diğer ekstraktlara göre daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. *S. aureus* bakterisinin test edilen diğer mikroorganizmalara göre antimikrobiyal aktivite değerlerine göre ceviz kabuğu ekstraktlarına karşı daha hassas olduğu tespit edilmiştir. Ajaiyeoba ve Fadare [24] yaptıkları çalışmada, Afrikan cevizinin kabuk, yaprak, iç kısmı gibi farklı kısımlarının metanol, hekzan, kloroform ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal etkilerini incelemişler ve Gram pozitif bakteriler üzerine antimikrobiyal etkinin daha fazla olduğunu ve konsantrasyona bağlı olarak antimikrobiyal etkinin değiştiğini bildirmişlerdir. Test edilen mikroorganizmalar üzerine en fazla antimikrobiyal etki yaprak ekstraktında bulunmuştur. Fernandez Agulló ve ark. [20] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, farklı çözgenlerin yeşil ceviz kabuklarının antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri üzerine durulmuştur. Su, metanol, etanol ve %50 metanol çözeltileri denenmiştir. Antioksidan özelliklerin konsantrasyona bağlı olarak değiştiği bildirilmiş, antimikrobiyal aktivitenin Gram pozitif bakteriler üzerine daha fazla olduğu sonucu elde edilmiştir. Çalışmamızın antimikrobiyal aktivite analizleri sonucunda bildirilen çalışma ile paralel olarak en yüksek aktivite *S. aureus* üzerine bulunmuştur. Pereira ve ark. [4] tarafından bildirilen bir çalışmada farklı çeşit ceviz yapraklarının fenolik bileşikleri, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir. Ceviz yapraklarının yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır. Yaprakların antimikrobiyal aktivite analizleri sonucunda Gram pozitif bakteriler üzerine antimikrobiyal etkilerinin yüksek olduğu ve en hassas olan bakterinin *Bacillus cereus* olduğu sonucu elde edilmiştir.

Tablo1. Ceviz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri

Çözgen Adı	Antioksidan Aktivite	Toplam Fenolik Madde Miktarı	Antimikrobiyel Aktivite [inhibisyon alanları (mm)]		
	DPPH (% inhibisyon)	(mg GAE/L)	<i>Staphylococcus aureus</i> *	<i>Escherichia coli</i> *	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> **
Su	69.57 <sup>e</sup>	146.30 <sup>a</sup>	+++	+	-
Etanol	1.74 <sup>f</sup>	70.56 <sup>d</sup>	-	-	-
Metanol	0.51 <sup>f</sup>	44.04 <sup>e</sup>	-	-	-
Aseton	83.28 <sup>a</sup>	122.53 <sup>c</sup>	++	-	-
Etanol-su (%50)	78.38 <sup>c</sup>	117.33 <sup>c</sup>	++	-	-
Metanol-su (%50)	79.88 <sup>b</sup>	123.92 <sup>c</sup>	+++	-	+
Aseton-su (%50)	77.12 <sup>d</sup>	137.54 <sup>b</sup>	++	-	-

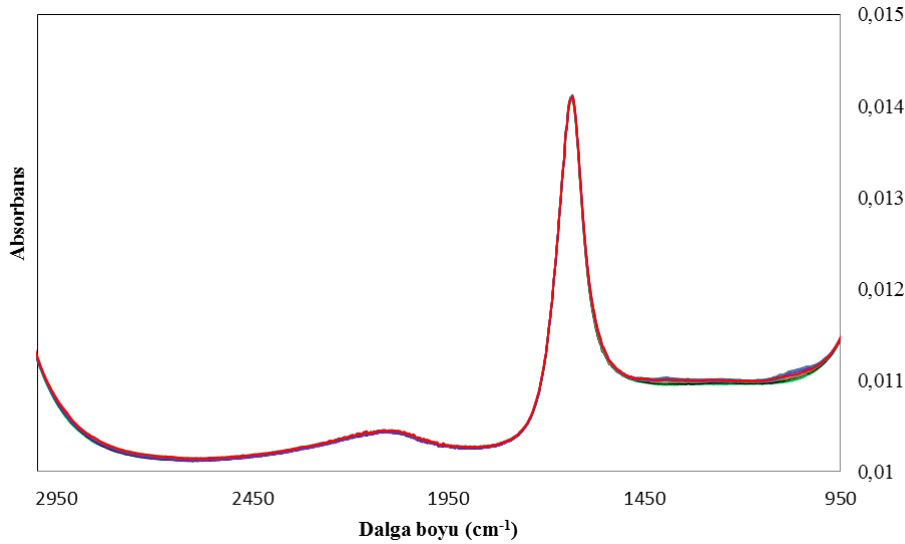
\*Antimikrobiyal aktivite için zon inhibisyon alanı >8,0 mm; (+), >10.00 mm; (++) ve >13.00 mm; (+++) ile gösterilmiştir.

<sup>a-f</sup> Aynı kolondaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli bir fark olduğunu göstermektedir ( $P<0.05$ ).

## FT-IR Analizleri

Bu çalışmada FT-IR yöntemi farklı çözümler kullanılarak ekstrakte edilen kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarının toplam fenolik madde miktarını, antioksidan

kapasitesini belirlemede hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Çalışmamızda elde edilen ekstraktların FT-IR spektrumu Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Ekstraktların FT-IR spektrumu

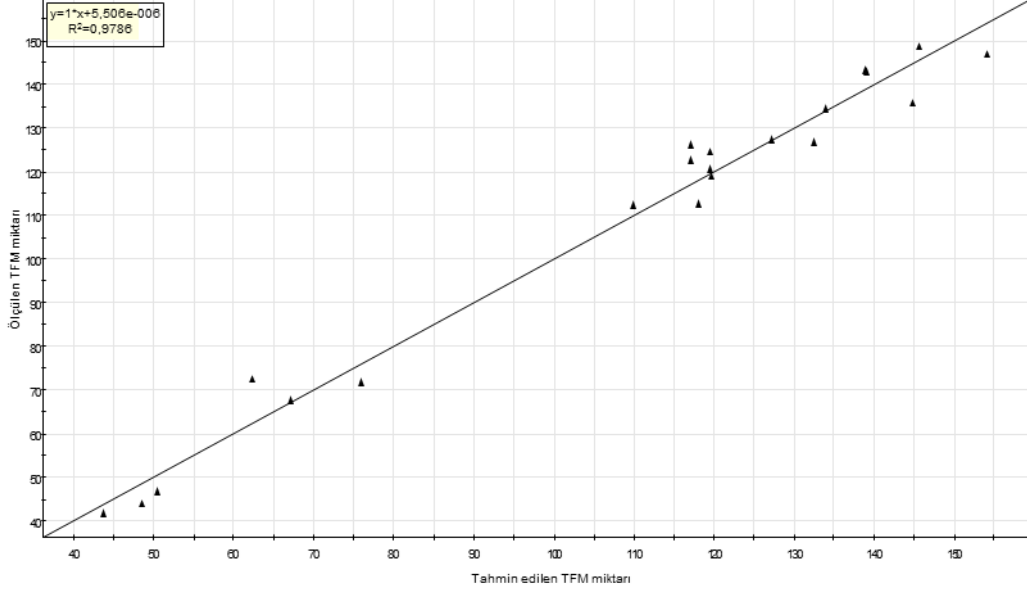
Ekstraktların FT-IR spektroskopisi ile analizi sonucunda elde edilen spektrumda sudan gelen pik 4000 ile 3000  $\text{cm}^{-1}$  dalgaboyu arasında tespit edildiğinden bu dalgaboyu aralığı istatistiksel analizlerden çıkarılmış ve 3000 ile 950  $\text{cm}^{-1}$  dalgaboyu arasındaki bölge incelenmiştir. Spektrum incelendiğinde 1630  $\text{cm}^{-1}$  dalgaboyunda görülen keskin pik benzen halkası olarak tayin edilmekte [25], 1405  $\text{cm}^{-1}$ 'deki pik  $\text{CH}_3$  asimetric deformasyonu nedeniyle oluşmaktadır [26]. 1200 ile 950  $\text{cm}^{-1}$  dalgaboyu arasındaki bölge karbonhidratlardan kaynaklı fonksiyonel grupları içermektedir [27].  $\text{C}\equiv\text{C}$  üçlü bağları 2100 ile 2260  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde absorpsiyon piki vermektedir [28].

PLS regresyon analizinden faydalanılarak FT-IR analiz sonuçları ile ekstraktların antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik madde miktarları tahmin edilmeye çalışılmıştır. Regresyon analizinde oluşturulan denklemin ne derece iyi bir tahminleyici olduğunu belirleyen oran belirlilik katsayısı olarak ifade edilir ve  $R^2$  ile gösterilir. Ölçülen toplam fenolik madde miktarı ile FT-IR verisi kullanılarak elde edilen tahmini toplam

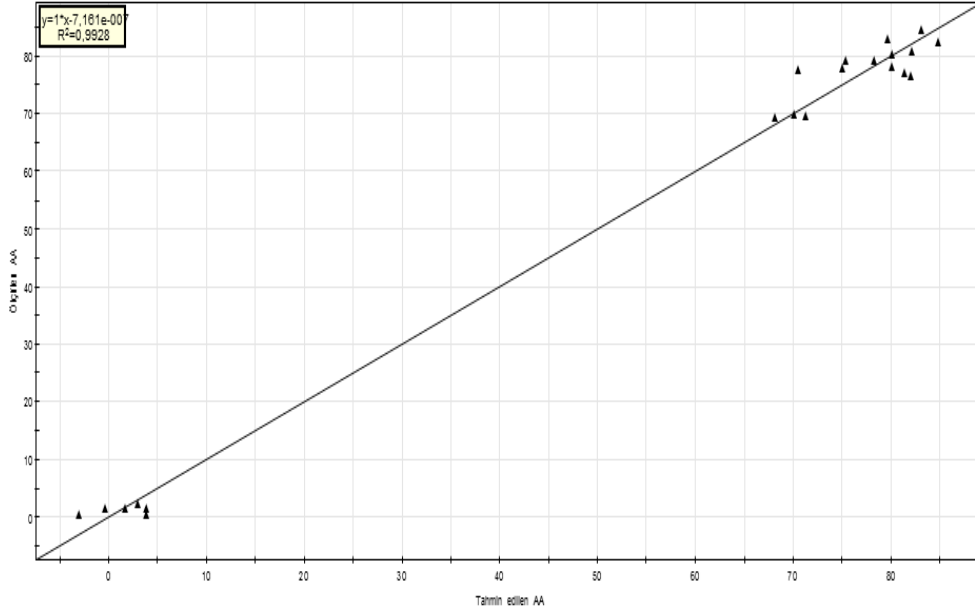
fenolik madde miktarları birbirine karşı grafiksel olarak gösterildiğinde elde edilen regresyon eğrisinin  $R^2$  değeri 0.979 bulunmuştur. FT-IR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen toplam fenolik madde miktarlarının birbirine karşı grafiği Şekil 2'de verilmiştir. PLS modeli 5 bileşenle oluşturulmuştur.  $R^2$  değeri 1'e yakın olduğu için modelin iyi bir tahminleyici olduğu söylenebilmektedir. RMSECV değeri 5.35 olarak hesaplanmıştır. RMSEC değeri 5.21 bulunmuştur. Bu iki değer arasındaki fark küçük olmalıdır ve 0'a yakın olmalıdır. Bu çalışmada bu iki değer arasındaki fark 0.14 olarak hesaplanmıştır. Ölçülen antioksidan aktivite değerleri ile FT-IR verisi kullanılarak elde edilen tahmin edilen antioksidan aktiviteleri birbirine karşı grafiksel olarak gösterildiğinde elde edilen regresyon eğrisinin  $R^2$  değeri 0.993 bulunmuştur. FT-IR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen antioksidan aktivite değerlerinin birbirine karşı grafiği Şekil 3'de verilmiştir. PLS modeli 5 bileşenle oluşturulmuş, RMSEC değeri 3.03, RMSECV değeri 3.10 olarak bulunmuştur. Bu iki değer arasındaki fark 0.07 olarak

hesaplanmıştır. Antioksidan aktivite değerleri için de  $R^2$  değerleri 1'e yakın olduğu için oluşturulan modelin iyi bir tahminleyici olduğu sonucuna varılmaktadır. FT-IR yöntemi ceviz yağında taşışın belirlenmesi amacıyla kemometrik yöntemler ile birlikte uygulanmış, soya yağının ceviz yağındaki taşış oranı %5 limitte belirlenebilmiştir [19]. Lu ve ark. [25] tarafından bildirilen bir çalışmada soğan çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri FT-IR spektroskopisi

ile tahmin edilmeye çalışılmış  $R^2$  değeri 0.95'den yüksek, kalibrasyonun standart hata değeri 0.45 bulunmuştur. Diğer bir çalışmada FT-IR spektroskopisi minimum işlenmiş ve depolanmış nar örneklerinin mikrobiyolojik kalitesini tahmin etmek amacıyla kullanılmıştır. PLS regresyon analizi sonucunda  $R^2$  değeri 0.85'den büyük bulunmuştur. RMSE değerleri toplam canlı sayımı için 0.7, maya ve küf sayımı için 1.117 bulunmuştur [29].



Şekil 2. FT-IR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen toplam fenolik madde miktarlarının birbirine karşı grafiği



Şekil 3. FT-IR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen antioksidan aktivite değerlerinin birbirine karşı grafiği

## SONUÇ

Bu çalışmada kullanılan farklı çözgen çeşitlerinin (su, etanol, metanol, aseton ve etanol, metanol, asetonun %50 sulu ekstraktlarının) kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarının toplam fenolik madde içeriği, antioksidan

kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Aynı zamanda FT-IR yönteminin hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, çözgen tipi değiştiğinde ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri, antioksidan aktivitelerinde istatistiksel olarak

önemli bir fark ( $P<0.05$ ) belirlenmiştir. Bununla birlikte ceviz kabuklarının su ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri daha yüksek bulunmuştur. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre su, aseton ve etanol, metanol ve asetonun %50 sulu ekstraktları *S. aureus* bakterisi üzerine daha fazla antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. FT-IR spektroskopisi kullanılarak tahmin edilen toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri ile ölçülen değerlerin PLS regresyon analizleri sonuçları FT-IR yönteminin hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak başarılı bir şekilde uygulanabilir olduğunu göstermektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 16103016 proje numarası ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Amini, M., Ghoranneviss, M., 2016. Effects of cold plasma treatment on antioxidants activity, phenolic contents and shelf life of fresh and dried walnut (*Juglans regia* L.) cultivars during storage. *LWT - Food Science and Technology* 73: 178-184.
- [2] Akça, Y., 2005. Ceviz Yetiştiriciliği. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı Matbaası, Ankara.
- [3] Stampar, F., Solar, A., Hudina, M., Veberic, R., Colaric, M., 2006. Traditional walnut liqueur – cocktail of phenolics. *Food Chemistry* 95: 627–631.
- [4] Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, A., Valentão P., Andrade, P.B., Ferreira, I.C.F.R., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R., Estevinhoa, L., 2007. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology* 45(11): 2287–2295.
- [5] Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wua, J., Wang, Z., 2009. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food Chemistry* 113: 160–165.
- [6] Kavak, D.D., Altiok, E., Bayraktar, O., Ülkü, S., 2010. Pistacia terebinthus extract: as a potential antioxidant, antimicrobial and possible glucuronidase inhibitor. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 64: 167–171.
- [7] Zivković, J., Zeković, Z., Mujčić, I., Vidović, S., Cvetković, D., Lepojević, Z., Nikolić, G., Trutić, N., 2010. Scavenging capacity of superoxide radical and screening of antimicrobial activity of *Castanea sativa* Mill. extracts. *Czech Journal of Food Science* 28(1): 61–68.
- [8] Davis, R., Mauer, L.J., 2010. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy: A rapid tool for detection and analysis of foodborne pathogenic bacteria. *Applied Microbiology* 1: 1582-1594.
- [9] Baran, Y., Ceylan, C., Camgoz, A., 2013. The roles of macromolecules in imatinib resistance of chronic myeloid leukemia cells by Fourier transform infrared spectroscopy. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 67: 221-227.
- [10] [1] Lahlali, R., Jiang, Y., Kumar, S., Karunakaran, C., Liu, X., Borondics, F., Hallin, E., Bueckert R., 2014. ATR–FTIR spectroscopy reveals involvement of lipids and proteins of intact pea pollen grains to heat stress tolerance. *Frontiers in Plant Science* 5: 747-757.
- [11] Wenning, M., Breitenwieser, F., Konrad R., Huber, I., Busch U., Scherer S., 2014. Identification and differentiation of food-related bacteria: A comparison of FTIR spectroscopy and MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Microbiological Methods* 103: 44-52.
- [12] Vardin, H., Tay, A., Ozen, B., Mauer, L., 2008. Authentication of pomegranate juice concentrate using FTIR spectroscopy and chemometrics. *Food Chemistry* 108: 742–748.
- [13] Jaiswal, P., Narayan Jha, S., Borah, A., Gautam, A., Grewal, M.K., Jindal, G., 2015. Detection and quantification of soymilk in cow–buffalo milk using attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 168: 41–47.
- [14] Bureau, S., Ruiz, D., Reich, M., Gouble, B., Bertrand, D., Audergon, J.M., Renard, C.M.G.C., 2009. Application of ATR-FTIR for a rapid and simultaneous determination of sugars and organic acids in apricot fruit. *Food Chemistry* 115: 1133–1140.
- [15] Gürdeniz, G., Özen, B., 2009. Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data. *Food Chemistry* 116: 519–525.
- [16] Mata, P., Dominguez-Vidal, A., Bosque-Sendra, J.M., Ruiz-Medina, A., Cuadros-Rodríguez, L., Ayora-Cañada, M. J., 2012. Olive oil assessment in edible oil blends by means of ATR-FTIR and chemometrics. *Food Control* 23: 449-455.
- [17] Hirri, A., Bassbasi, M., Platikanov, S., Tauler, R., Oussama, A., 2016. FTIR Spectroscopy and PLS-DA classification and prediction of four commercial grade virgin olive oils from Morocco. *Food Analytical Methods* 9: 974–981.
- [18] Park, Y.S., Cvikrová, M., Martincová, O., Ham, K.S., Kang, S.G., Park, Y.K., Namiesnik, J., Rombolà, A.D., Jastrzebskif, Z., Gorinstein, S., 2015. In vitro antioxidative and binding properties of phenolics in traditional, citrus and exotic fruits. *Food Research International* 74: 37–47.
- [19] Li, B., Wang, H., Zhao, Q., Ouyang J., Wu Y., 2015. Rapid detection of authenticity and adulteration of walnut oil by FTIR and fluorescence spectroscopy: A comparative study. *Food Chemistry* 181: 25–30.
- [20] Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M.S., Valentão, P., Andrade, P.B., González-Álvarez, J., Pereira, J.A., 2013. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. *Industrial Crops and Products* 42: 126–132.
- [21] Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144–158.
- [22] Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T., 1988. Two new flavonoids and other constituents in

- licorice root: their relative astringency and scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 36: 2090–2097.
- [23] Ozturk, I., Caliskan, O., Tornuk, F., Ozcan, N., Yalcin, H., 2015. Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *LWT - Food Science and Technology* 63: 144–151.
- [24] Ajaiyeoba, E.O., Fadare, D.A., 2006. Antimicrobial potential of extracts and fractions of the African walnut – *Tetracarpidium conophorum*. *African Journal of Biotechnology* 5(22): 2322-2325.
- [25] Schulz, H., Baranska, M. 2007. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy* 43(1): 13-25.
- [26] Agarwal R., Tandon P., Gupta V.D., 2006. Phonon dispersion in poly (dimethylsilane). *Journal of Organometallic Chemistry* 691(13): 2902-2908.
- [27] Lu, X., Wang J., Al-Qadiri, H.M., Ross, C.F., Powers, J.R., Tang, J., Rasco, B.A. Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 129(2): 637-644.
- [28] Graham Solomon, T.W., Craig Fryhle, S.S., 2014. Families of Carbon Compounds. In *Organic Chemistry* (p. 86–98). John Wiley & Sons Singapore Pte. Ltd. ISBN 978- 975-8431-87-8.
- [29] Adiani, V., Gupta, S., Ambolikara, R., Variyar, P.S., 2018. Development of rapid method to assess microbial quality of minimally processed pomegranate arils using FTIR. *Sensors and Actuators B: Chemical* 260: 800-807.
- 
-