



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

KEÇİBOYNUZU MEYVESİNİN KALİTE ÖZELLİKLERİNİN FTIR
SPEKTROSKOPİSİ İLE TAHMİN EDİLMESİ

SİBEL AYDIN
YÜKSEK LİSANS



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

KEÇİBOYNUZU MEYVESİNİN KALİTE ÖZELLİKLERİNİN FTIR
SPEKTROSKOPİSİ İLE TAHMİN EDİLMESİ

SİBEL AYDIN
YÜKSEK LİSANS

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Pınar KADİROĞLU KELEBEK

ADANA 2020

Bu tezde yer alan tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışa uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde bu çalışmaya özgün olmayan tüm bilgiler için atıf verdiğimi ve kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

[İmza]

Sibel AYDIN

ÖZET

KEÇİBOYNUZU MEYVESİNİN KALİTE ÖZELLİKLERİNİN FTIR SPEKTROSKOPİSİ İLE TAHMİN EDİLMESİ

Sibel AYDIN

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Pınar KADİROĞLU KELEBEK

Haziran 2020, 39 sayfa

Bu çalışma ile keçiboynuzu meyvesinin toplam fenolik madde miktarı, antioksidan kapasitesi, antimikrobiyal aktivitesi gibi kalite özelliklerinin belirlenerek FTIR spektroskopisi ile bazı kalite özelliklerinin tahmin edilmesi hedef alınmıştır. Bu amaçla çalışmada keçiboynuzu örnekleri alınarak su, etanol, metanol ve bunların hacimce %50 oranlarıyla ekstraktlar hazırlanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı en yüksek metanol ile ekstrakte edilen keçiboynuzu örneğinde ($1,56 \pm 0,09 \mu\text{g GA/g}$), onu takiben su ekstraktında tespit edilmiştir. En düşük antioksidan kapasitesi etanol ve metanol çözgenlerinin kullanıldığı örneklerde gözlenmiştir. En yüksek antioksidan kapasite su ile ekstrakte edilen keçiboynuzu örneğinde belirlenmiş, bu örneği %50 etanol ve %50 metanol ile ekstrakte edilen örnekler takip etmiştir. Çalışmada ayrıca farklı çözgenler kullanılarak ekstrakte edilen keçiboynuzu örneklerinin *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Su ve %50 etanol ekstraktı (ES) *Escherichia coli* bakterisine karşı antimikrobiyal etki gösterirken diğer bakteriler üzerine antimikrobiyal etki gözlenmemiştir. %50 metanol (MS) ekstraktı ise *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı antibakteriyel etki göstermiştir. FTIR spektroskopisi ile elde edilen veriler kullanılarak kısmi en küçük kareler (PLS) regresyon analiz yöntemi ile toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitesi değerleri tahmin edilmeye çalışılmış ve R^2 değerleri %97'den büyük bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Keçiboynuzu, FTIR spektroskopisi, kalite, PLS

ABSTRACT

PREDICTION OF QUALITY PROPERTIES OF THE CAROB FRUIT WITH THE FTIR SPECTROSCOPY

Sibel AYDIN

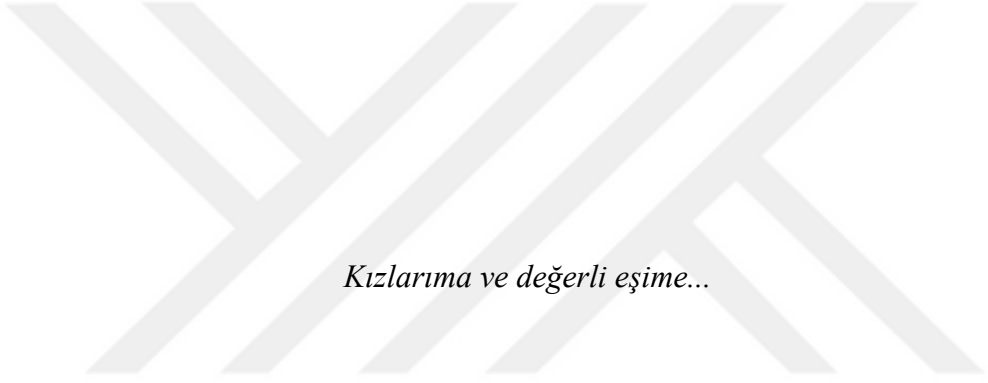
M.Sc., Department of Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Pınar KADİROĞLU KELEBEK

June 2020, 39 pages

In this study it was aimed to determine the quality properties such as the total phenolic content, antioxidant capacity and antimicrobial activity of the carob fruit and to predict some of these quality parameters using the FTIR spectroscopy. For this purpose, extracts were prepared from carob samples with water, ethanol, methanol and 50-50 v/v mixture of these. The total phenolic content was determined to be the highest in the methanol extract and the second highest in the water extract. The lowest antioxidant capacity was observed in the samples extracted with ethanol and methanol solvents, respectively. The highest antioxidant capacity was observed in the samples extracted with water, followed by 50-50 v/v ethanol and methanol extracts, respectively. In addition, the antimicrobial activity of carob samples extracted with different solvents on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* microorganisms was also investigated in this study. While the water and ethanol (50%) extract (EW) showed an antimicrobial effect on the *Escherichia coli* bacteria, no antimicrobial effect was observed on the other bacteria. Similarly, methanol (50%) extract (MW) showed an antimicrobial effect only on the *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Data obtained from the FTIR spectroscopy was analyzed with the partial least squares (PLS) regression analysis to predict total phenolic content and antioxidant capacity and R^2 values were found to be greater than 97%.

Keywords: Carob, FTIR spectroscopy, quality, PLS



Kızlarım ve değerli eşime...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca sabırla, anlayışla ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Pınar KADİROĞLU KELEBEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez savunma sınavı jüri üyeleri sayın Doç. Dr. Hande DEMİR ve Dr. Öğr. Üyesi Levent Yurdaer AYDEMİR'e tezime yaptıkları katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca kıymetli hocam Prof. Dr. Haşim KELEBEK'e yüksek lisans süresince vermiş olduğu destekten dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca motivasyon desteğini hep hissettiren, başarabileceğim konusunda destek veren Cihan ve Birgül YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında manevi desteğini esirgemeyen annem Fatima GÜNEŞ, babam Hamza GÜNEŞ, abim Hamdi GÜNEŞ'e sonsuz teşekkür ederim. Ders dönemim ve tez dönemim boyunca başaramayacağımı hissettiğim anlarda kendime tekrar inanmamı sağlayan, beni hep motive eden, evdeki eksikliğimi kızlarıma hissettirmeyen sevgili eşim Baran'a, ders çalışmama izin verdikleri için de kızlarım Neval ve Hazal'a teşekkür ederim.

Bu tez 17303007 projesi numarası ile ATÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
TABLOLAR LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. Keçiboynuzu.....	4
2.1.1. Ekolojik Özellikleri	4
2.1.2. Coğrafi Dağılım	5
2.1.3. Ekonomik Özellikleri	6
2.1.4. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	8
2.2. FTIR Spektroskopisi	12
2.3. Çok Değişkenli İstatistiksel Analizler	14
3. MALZEME VE YÖNTEM	16
3.1. Materyal	16
3.2. Yöntem	16
3.2.1. Hata! Yer işareti tanımlanmamış.Ekstraktların Hazırlanması	16
3.2.2. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	17
3.2.3. Antioksidan Kapasitesinin Analizleri	17
3.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	17
3.2.5. FTIR Analizleri	18
3.2.6. İstatistiksel Analizler	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	19
4.1. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	19
4.2. Antioksidan Kapasitesi Analizleri.....	21
4.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	23
4.4. FTIR Analizleri.....	24
5. SONUÇLAR	29
KAYNAKLAR.....	31
ÖZGEÇMİŞ	39

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Bölgelere göre keçiboynuzu üretim oranları	6
Şekil 2.2.	Keçiboynuzu meyvesi	7
Şekil 2.3.	Keçiboynuzu meyvesinin 2013-2017 yılları arasında Türkiye'deki hasat ve üretim miktarları.....	8
Şekil 2.4.	Keçiboynuzu meyvesinin önemli bölümleri.....	9
Şekil 2.5.	FTIR spektroskopisi	14
Şekil 3.1.	Ekstrakt hazırlama basamakları.....	16
Şekil 3.2.	Ekstraksiyon işlemleri	17
Şekil 4.1.	Farklı çözügenlerle ekstrakte edilen keçiboynuzu örneklerinin TFM miktarları...	20
Şekil 4.2.	Farklı çözügenlerle ekstrakte edilen keçiboynuzu örneklerinin antioksidan aktiviteleri.....	22
Şekil 4.3.	Sulu ekstraktın <i>Escherichia coli</i> bakterisine karşı etkisi.....	23
Şekil 4.4.	%50 etanol ekstraktın <i>Escherichia coli</i> bakterisine karşı etkisi	24
Şekil 4.5.	Keçiboynuzu ekstraktlarının FTIR spektrumu	25
Şekil 4.6.	FTIR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen antioksidan aktivite değerlerinin birbirine karşı grafiği	26
Şekil 4.7.	FTIR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen toplam fenolik madde miktarlarının birbirine karşı grafiği	27

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Keçiboynuzu meyvesinin bileşiminin oransal dağılımı	10
Tablo 4.1. Farklı çözenlerle ekstrakte edilen keçiboynuzu meyvelerinin TFM miktarları ...	19
Tablo 4.2. Keçiboynuzu örneklerinin antioksidan aktivite değerleri.	21
Tablo 4.3. Keçiboynuzu örneklerinin spektrasına karşılık gelen fonksiyonel gruplar	26



KISALTMALAR

MÖ	: Milattan Önce
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	: Ribo Nükleik Asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
PLS	: Kısmi En Küçük Kareler
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
TFM	: Toplam Fenolik Madde
TSA	: Triptik Soy Agar
MHA	: Muller Hinton Agar
MIR	: Orta Dalga Boylu Kızılötesi

1. GİRİŞ

Bilinçli tüketicilerin artmasıyla birlikte, gıda endüstrisinde hammaddenin tarladan sofraya kadar tüm aşamalarda insan sağlığına uygun olması için gıdanın güvenliği ve kalitesi önemli faktörlerden biridir. Tüketicilerin gıdalarda kalite ve güvenliği sorgulayıcı olması, seçici davranması üreticileri daha kaliteli ürünler üretme konusunda yönlendirmektedir. Tağşişin tespit edilebilmesi ve gıda kalite kontrollerinde daha hızlı ve pratik analiz yapabiliyor olma bu konuda önem arz etmektedir.

Dünya nüfusunun hızla artmasına rağmen, tarımsal alanlarda bunun aksine azalma meydana gelmektedir. Bu durum, mevcut alanlardan daha verimli bir şekilde faydalanılması gerektiğini göstermektedir. Verimin en üst seviyede sağlanması için tarım yapılmayan yerlerinde tarıma elverişli hale gelmesi sağlanmalıdır. Verimsiz toprakların zengin meyvesi olarak da bilinen keçiboynuzu meyvesi ve tohumu birçok farklı amaçla kullanılmaktadır (Gübbük vd., 2016).

Keçiboynuzu Leguminosae familyasından gelmektedir ve dünyanın birçok ılıman ve yarı ılıman bölgesinde yetişmektedir (Papagiannopoulos vd., 2004). Keçiboynuzunun anavatanı olarak kabul görülen ülkeler arasında Türkiye gelmektedir. Ekonomik açıdan önem taşıyan kısımları: tohumları, meyvesi ve ağacıdır. Meyve ve tohumunun sanayide kullanılması, ekonomik değerini daha çok arttıran etkenlerden biri olmuştur. Türkiye’de keçiboynuzu “Boynuz”, “Buynuz”, “Harnup”, “Harup” ve “Kerti” gibi farklı isimlerle bilinmektedir (Gübbük vd., 2016). “Etli”, “Sisam” ve “Yabani” olmak üzere üç farklı keçiboynuzu tipinin ülkemizde yetiştiği tespit edilmiştir (Pekmezci vd., 2008).

Keçiboynuzu meyvesi yüksek oranda şeker ve protein içermesine karşın yağ bakımından fakir bir meyvedir. Keçiboynuzu pulbu ağırlıklı olarak sakaroz, glikoz, fruktoz ve maltoz şekeri bakımından yüksek bir içeriğe sahiptir. A, B vitaminlerini ve çeşitli mineralleri içerir (Hajaji vd., 2010).

Ayaz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada elemental analiz cihazı kullanarak 100 g kuru ağırlıkta, $4,45 \pm 0,40$ g protein ve HPLC kullanarak 18 farklı amino asit saptamıştır. HPLC

kullanarak şeker ve organik asit içeriğine bakmışlardır. Sakkaroz (437,3 mg/g), glikoz (395,3 mg/g) ve fruktoz (42,3 mg/g) bakımından zengin olduğu tespit edilmiştir (Ayaz vd., 2007).

Hayvanlar için besin değeri yüksek ve lezzetli yem olarak da kullanılmaktadır. Keçiboynuzu çözülebilir lif bakımından zengin olduğundan kolesterol profilini de yükseltebilir (Vekiari vd., 2011).

Teknolojinin gelişmesiyle bilimsel araştırmalarda kullanılan geleneksel yöntemler yerini modern yöntemlere bırakmıştır. Saflık kontrolü, organik maddelerin kalitatif ve kantitatif analizi, makromoleküllerin yapısal analizi gibi birçok alanda FTIR spektroskopisi kullanılmaktadır. Çalışmalar şunu göstermiştir ki FTIR spektroskopisi gıda, tarım, tıp, kimya gibi birçok alanda kullanılabilir (Büyüksırt ve Kuleaşan, 2014).

Standart analiz yöntemlerindeki bazı eksiklikler nedeniyle gıdaların moleküler yapısının karakterize edildiği FTIR gibi hızlı ve güvenilir analiz yöntemleri öne çıkmıştır (Doğan vd., 2007) ve bu hızlı tekniklerle karakterizasyon işlemi üzerinde epey durulan bir konudur (Şenol vd., 2019). Son zamanlarda güvenilir olan FTIR yöntemi 1970'lerin başlarından beri araştırmalarda kullanılabilmektedir (Van de Voort., 1992). Gıdanın farklı formlarında bile analiz edilebiliyor olması bu metodun avantajlarından biridir. Sıvı, katı, kuru ve taze ürün çeşitlerinde kolayca uygulanabilen hızlı, hassas ve tahribatsız bir yöntemdir. FTIR spektroskopisi ile biyolojik hücre ve dokulardaki DNA, RNA, proteinler, karbonhidratlar ve yağlar gibi biyomoleküllerin yapı ve özelliklerindeki değişimleri belirlemek mümkündür (Doğan vd., 2007). Mikrobiyal hücrelerin tür, alt tür, fenotip, direnç gibi özelliklerinin tanımlanmasının yanında makromoleküler yapıdaki bileşiklerin özgünlük, miktar gibi özelliklerinin tespitinde de kullanılmaktadır (Büyüksırt ve Kuleaşan, 2014).

Gıdaların sınıflandırılmasında ve kalite kontrolünde FTIR yöntemiyle çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemleri birlikte kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda FTIR yöntemi gıdalarda hilenin tespit edildiği analizlerde (Vardin vd., 2008; Jaiswal vd., 2015), gıda kalite kontrol analizlerinde, balda şeker analizlerinde (Anjos vd., 2015), meyvelerin organik asit ve şeker içeriğinin belirlenmesinde (Bureau vd., 2009), zeytinyağı analizlerinde (Gürdeniz ve Özen, 2009; Mata vd., 2012; Hirri vd., 2016), meyvelerin polifenol içeriklerinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Park vd., 2015). Yağların sınıflandırılmasında FTIR

spektroskopisinin %98 başarılı olduğu tespit edilmiştir (Büyüksırt ve Kuleaşan, 2014). Titreşim spektroskopisi ile analiz etme hem kalite kontrolde hem de her bir maddenin kırmızı altı spektrumu birbirinden farklı olduğu için özgünlük analizleri içinde kullanılabilir (Bardakçı ve Seçilmiş, 2006).

Tüm dünyada insanların gıdalara daha bilinçli yaklaşımı ve buna bağılı olarak yetişmesi kolay, katkısız ve besin değeri yüksek gıdalara yönelim artmıştır. Kendi kendine yetişen keçiboynuzu meyvesiyle ilgili yapılmış olan araştırmalar çoğaltılmalı ve detaylandırılmalıdır. Gıda kalitesinin belirlenmesi kalite analizlerinin etkin yöntemlerle yapılmasını gerektirir. Bu tez çalışmasının amacı keçiboynuzu meyvesinin, geleneksel yöntemler yerine, tek tuşla kalibrasyon yapılabilen, herhangi bir ayar gerektirmeden, pahalı standart kimyasallar olmadan, örneğe zarar vermeden, daha ucuz ve hızlı bir şekilde sonuç alınabilen FTIR gibi modern bir yöntemle kalite özelliklerinin tahmin edilmesidir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Keçiboynuzu

Yeryüzünün en eski bitkileri arasında sayılan keçiboynuzunun geçmişi MÖ. 4000’li yıllara dayanmaktadır. Yakup Peygamberin susuz ve aç kaldığı bir zamanda keçiboynuzunun meyvesiyle hayatta kaldığına bazı kaynaklarda rastlanılmaktadır. Bu yüzden de Avrupa’da Hz. Yakup’un ekmeği olarak da bilinmektedir. Şeker oranının yüksek olması ve buna bağlı olarak iyi enerji kaynağı olarak görüldüğü için yiyecek bulma problemlerinin yaşandığı dönemlerde tercih edilmiştir (Şenay, 2009).

Keçiboynuzu ekiminden 5-10 yıl sonra meyve vermeye başlar ve 15 yıl sonra en üst verimine ulaşır. 300-400 yaşına kadar yaşayabilen ağacın yaşı ne kadar büyükse meyve verimi ve kalitesi o kadar yüksek olur. Bir ağaç yıllık ortalama 90-115 kg arasında meyve verebilir ve bu değer iklim, hasat zamanı, toprak koşullarına bağlı olarak 300 kg’a kadar çıkabilmektedir (Taşlıgil, 2011).

2019 yılları verilerine bakıldığında Türkiye’de meyve veren ağaç sayısı 342.427 adet iken, meyve vermeyen ağaç sayısı 58.064 adettir (TÜİK, 2020).

2.1.1. Ekolojik özellikleri

Keçiboynuzu kuraklığa karşı dayanıklı, dona hassas, sıcaklık ve ışık isteği yüksek olan bir bitkidir. Sıcaklık, yayılışında etkili olan önemli ekolojik bir etken olduğu için Akdeniz ikliminin görüldüğü bölgelerde yayılış göstermektedir (Günel, 1999). Toprak olarak fakir ve kalkerli topraklarda yetişebilmektedir (Gübbük vd., 2016).

Sıcak ortamlarda daha çok gelişme gösterebilen, özellikle 30-45°C arasında en iyi gelişimi sergiler. Ülkemizde en çok yayılış gösterdiği yerlerde Akdeniz ikliminin hâkim olduğu sıcaklıkların 20°C’nin altına düşmediği güney kesimleridir. Yüksek sıcaklığa karşı toleranslı, düşük sıcaklığa karşı duyarlıdır (Taşlıgil, 2011).

Yıllık ortalama 500-600 mm yağışta yeterli yaşama şansına sahipken, 100 mm’lik yağışla da gelişim gösterebilmektedir. Bitki 20-25 m derinlikte kök sistemine sahip olduğu için

kuraklığa karşı çok dayanıklıdır. Hiç yağışın olmadığı zamanlarda bile meyve verebilmektedir. Keçiboynuzu mineral bakımından fakir, asit düzeyi düşük topraklarda daha iyi gelişme gösterir (Taşlıgil, 2011). Keçiboynuzu ağacının meyveleri, Mayısta yetismeye başlayıp Haziran-Temmuz aylarına doğru olgunlaşmaya başlar. Meyveleri yeni oluştuğunda parlak yeşil iken olgunlaştıkça kahverengine dönüşür. Olgunlaştıktan sonra hasadı da Eylül'den Kasım'ın sonuna kadar devam eder. Keçiboynuzu ağacı sonbaharda yapraklarının bir bölümünü döker, iki yıllık periyotlar halinde de temmuz ayında kısmen yapraklarını döker (Taşlıgil, 2011; El Hajaji vd., 2010).

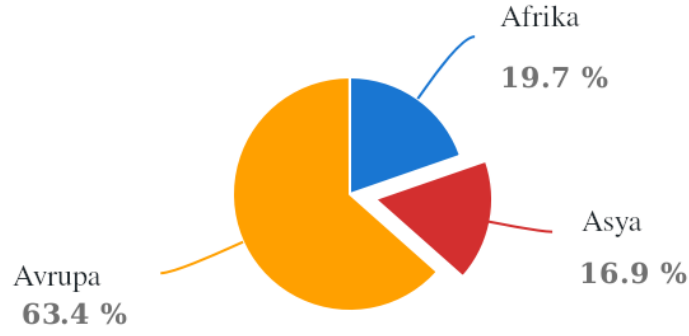
2.1.2. Coğrafi dağılım

Yeryüzünün en eski bitkilerinden olduğu varsayılan keçiboynuzunun Akdeniz'in yarı kurak doğu ve güney kıyı şeridi boyunca geniş yayılıma sahiptir (Karkacier ve Artık, 1995). Ülkemizde İzmir Urla'dan Hatay Samandağ'a kadar olan 1.750 km'lik sahil şeridinde, Kozan'da (Çukurova) kıyıdan 90 km ve Mersin dolayında 25 km kadar iç kısımlarda da doğal olarak yetiştirme alanı bulunduğu bilinmektedir (Turhan vd., 2007).

Dünyadaki yıllık üretimin yaklaşık 315 bin ton olduğu tahmin edilmektedir. Dünya üretimi sıralamasında pulpu ve çekirdek için ana üreticiler, sırasıyla İspanya (%36, %28), Fas (%10, %8), Yunanistan (%8, %6), Türkiye (%4, %6) ve Kıbrıs (%3, %2), (Batal vd., 2016). Dünya ithalatında ve ihracatında en büyük payı 29.275 ton ile İspanya almakta ve takiben ikinci olarak 9.267 ton ile İtalya almaktadır.

Türkiye'deki keçiboynuzu üretim miktarı 2017 yılında 15.016 ton, 2018 yılında 15.506 ton, 2019 yılında ise 16.256 ton olmuştur. 2019 yılı bitkisel üretim miktarlarına göre Türkiye'deki üretimin çoğu Mersin, Antalya, Muğla ve Adana illerinde gerçekleşmektedir. 2019 yılındaki üretim miktarının 6.941 tonu Mersin'de, 6.135 tonu Antalya'da, 760 tonu Muğla'da ve 2.055 tonu Adana'da gerçekleşmiştir. (TÜİK, 2020).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nın dünyadaki keçiboynuzu ile ilgili 2017 yılına ait verileri (Şekil 2.1) incelendiğinde, en çok üretimin Avrupa'da yapıldığı, en az üretimin Asya'da yapıldığı görülmektedir.



Şekil 2.1. Bölgelere göre keçiboynuzu üretim oranları (FAO, 2019).

2.1.3. Ekonomik özellikleri

Keçiboynuzunun bir meyvesinde yaklaşık 10-15 adet çekirdek vardır ve çekirdek ağırlıkları birbirine yakındır. Her tohumun ağırlığı birbirine yakın olması özelliğinden dolayı eski çağlarda ağırlık ölçüsü olarak hassas ölçüm gerektiren işlerde kullanılmıştır. Bugün pırlanta ağırlık birimi olan “karat” adını keçiboynuzundan almıştır (Şenay, 2009).

Çok çeşitli kullanım alanlarına sahiptir. Keçiboynuzu meyvesinin yaprağı, kökü, meyvesi, ağacı, çiçeği, gövde kabuğu gibi bütün kısımları (Şekil 2.2) gıdada, sağlık sektöründe, mobilya, arıcılık, hayvan beslenmesi, peyzaj alanlarında kullanılmaktadır (Gübbük vd., 2016). Tadı kakaoya yakın olduğu için unlu mamullerde geniş bir kullanım alanına sahiptir (Taşlıgil, 2011). Rengi de kakaoya yakın renk verdiği için dondurma, şeker, çikolata ve içecek sektöründe kullanılabileceği bildirilmiştir (Gübbük vd., 2016). Çekirdeğinin öğütülmesi ile elde edilen “gam (zamk)” ise jölede, ketçap ve salçada, balık konservelerinde, eritme/krem peynirlerde, mayonezde ve dondurulmuş gıdalarda kıvam arttırıcı olarak kullanılmaktadır (Taşlıgil, 2011).

İspanya ve İtalya keçiboynuzu tohumunu alıp çeşitli işlemlerden geçirip zamk üreten işletmelere sahip olduğu için keçiboynuzu üretimine yetişemediği zamanlarda, keçiboynuzunu ithal edip işleyip zamk üretip tekrar ihraç etmektedir. Zamkın endüstride birçok kullanım alanı bulması nedeniyle bu ülkeler hem üretimde hem ithalatta dünyada birinci sırada yer almaktadırlar (Gübbük vd., 2012).



Şekil 2.2. Keşiboynuzu meyvesi.

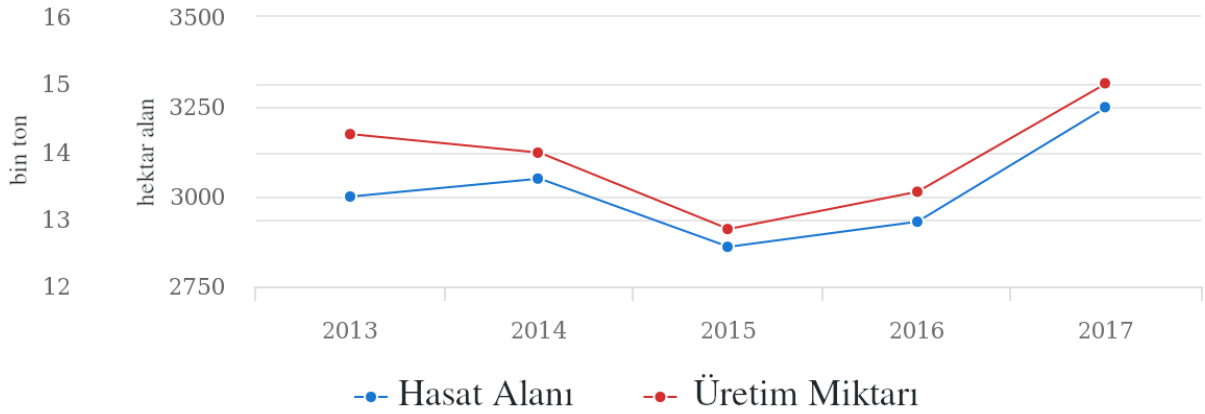
Keşiboynuzundan elde edilen farklı ürünlerin gıda endüstrisi dışında tekstil, kağıt, ilaç, kozmetik, boya, petrol ve alkol endüstrisinde de değerlendirildiği belirlenmiştir (Çürek vd., 2000).

Türkiye’de öğütülerek un, çeşitli işlemlerden geçirilerek pekmez, direk olarak çerez ve hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir. Son yıllarda çeşitli ürün varyasyonlarının üretimi için ucuz bir kaynak olduğu için keşiboynuzuna olan ilgi artmıştır (Makris ve Kefalas, 2004).

Buğday ununa karşı hassasiyeti olan çölyak hastalarının glutensiz ürün tüketmeleri gerektiği için keşiboynuzundan elde edilen unu kullanabilecekleri bildirilmiştir (Gübbük vd., 2016).

2013 yılı verilerine göre dünyadaki keşiboynuzu ekim alanı 82.261 ha olup bunun 3.000 ha Türkiye’de gerçekleşmiştir (Şekil 2.3). 3.000 hektarlık alanda 14.261 ton üretim yapılmıştır. 2017 yılına bakıldığında ekim alanı 3.250 ha olurken üretim miktarı 15.000 ton olmuştur (Gübbük vd., 2016).

Gıda endüstrisinde de keşiboynuzu zmkı (E410) olarak bilinen gıda katkı maddesi beyaz toz şeklinde olup koyulaştırıcı, dengeleyici ve tatlandırıcı amaçlı kullanılmaktadır (Nasar-Abbas vd., 2016). Bazı bölgelerde erkek türleri yerlere dökülüp kirliliğe sebep olmadığı için, sokaklarda süs ve peyzaj ve gölgelik amaçlı tercih edilmektedir. Bunun yanında hava kirliliğine dayanıklı, kuraklığa dayanıklı olmasına rağmen iri gövdeli ve sağlam köklerinden sokaklarda kullanımı sınırlı kalmıştır (Battle ve Tous, 1997). Yaprakları yangına karşı dayanıklı olduğu için orman alanlarında yangın koruma hatlarında değerlendirilmektedir (Gübbük vd., 2016).



Şekil 2.3. Keçiboynuzu meyvesinin 2013-2017 yılları arasında Türkiye’deki hasat ve üretim miktarları (FAO, 2020).

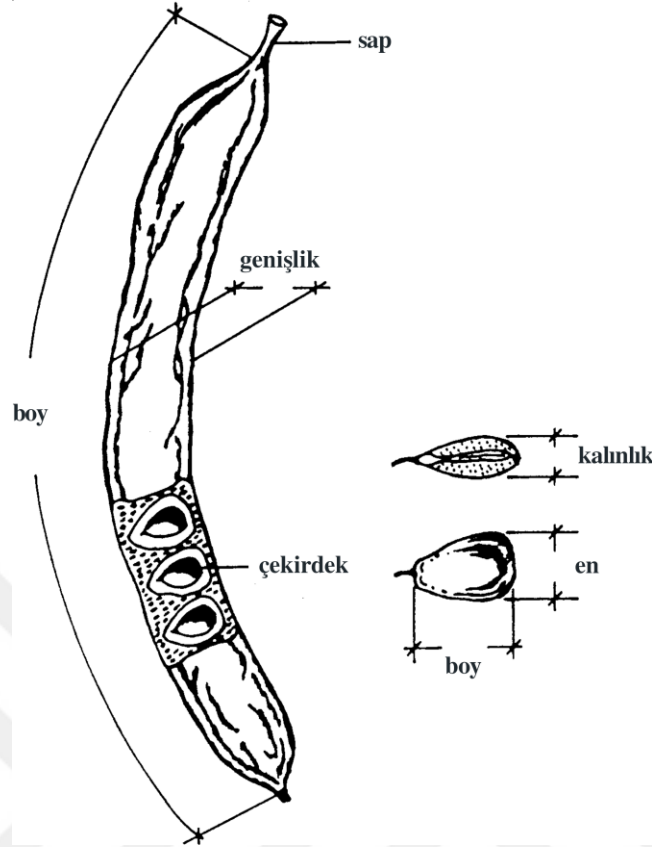
2.1.4. Fiziksel ve kimyasal özellikleri

Keçiboynuzu yaprakları geniş bir yapıya sahiptir ve sert iklim koşullarında mevsime uyum sağlayacak şekilde her zaman yeşil, sert ve tüylü bir yapıdadır. Yaprak uzunluğu 3-7 cm dolayında, sıralı ve tüylü yapıdadır. Ağacın çiçekleri çok küçük, göze çarpmayan fakat 50-60’lı gruplar halinde salkımlar oluşturmaktadır (Taşlıgil, 2011; Hajaji vd., 2010).

Meyvesinin rengi yabani ve kültür formuna göre değişerek açık kahverengiden koyu kahverengiye doğru değişim göstermektedir (Gübbük vd., 2016). Olgunlaşmış meyvesi koyu kahverenginde, boyu uzunca, düz veya hafif kavisli ve basık bir şekildeyken (Şekil 2.4), ham hali yeşil ve “nemlidir. Olgunlaşmış meyve tatlıyken ham meyve çok kekremsi bir tada sahiptir (Ayaz vd., 2007). Keçiboynuzu meyvesi şekil olarak eğri yapısından dolayı keçiboynuzuna benzetildiği için bu ismi almıştır (Günel, 1999).

Keçiboynuzu meyvesi parçalandığında kendine has kokuya sahiptir bu da %1,3 izobütrik asit içermesinden kaynaklıdır (Ayaz vd., 2007).

Çekirdekleri çıkartılmamış meyvenin kimyasal içeriği çeşidi, kökeni ve hasat zamanına bağlı olarak değişim göstermektedir (Batal vd., 2016; Hajaji vd., 2010). Keçiboynuzunun niteliğini ve niceliğini etkileyen parametreler: güneş ışığı alma süresi, rakım, mikro iklim, su kalitesi, toprak kalitesidir (Christou vd., 2017).



Şekil 2.4. Keçiboynuzu meyvesinin önemli bölümleri (Battle ve Tous, 1997).

Keçiboynuzu ağacı meyvesi yaklaşık %90 meyve eti ve %10 çekirdekten oluşmaktadır (Turhan vd., 2007; Christou vd., 2017). Keçiboynuzu meyvesi; %91-92 kuru madde, %62-67 toplam şeker, %4-6 protein, %0,2-0,4 ham yağ, %2-3 kül içerir (Tablo 2.1). Meyve kısmı yüksek miktarda şeker içerdiği için pekmez üretiminde ham madde olarak kullanılmaktadır (Turhan vd., 2007).

Keçiboynuzu çekirdeği %30-33 kabuk, %42-46 endosperm, %23-25 embriyodan oluşmaktadır. Çekirdeğin kabuğu antioksidan içerir (Hajaji vd., 2010). Galaktomannan bakımından zengin olduğu için keçiboynuzu zankı üretilmektedir. Gıda katkı maddesi olarak E410 koduna sahiptir. Bu gıdada koyulaştırıcı amacıyla kullanılmaktadır (Kumazawa vd., 2012).

Tablo 2.1. Keçiboynuzu meyvesinin bileşiminin oransal dağılımı (Turhan vd., 2007).

Bileşimi	Oran (%)
Toplam şeker	62-67
Sakaroz	34-42
Fruktoz	10-12
Glikoz	7-10
Protein	4-6
Ham Yağ	0,2-0,4
Kül	2-3

Keçiboynuzu meyvesi tamamen doğal yollarla yetiştirilir ve yüksek miktarda polifenol içeren minerallerce zengin bir meyvedir (Şenay, 2009; Pazır ve Alper, 2009). Ayrıca keçiboynuzu meyvesi antioksidan olarak bilinen polifenoller bakımından da zengin içeriğe sahiptir ve içeriğinde 24 çeşit fenolik bileşen bulunmaktadır. Fenolik maddelerden bazıları gallik asit (%41,76), metil gallat (%1,03), p-kumerik asit (%0,29), kuersetin (%0,31), kamferol ramnosit (%10,23) ve sinnamik asit (%1,25). Gallik asit ve kamferol ramnosit en çok bulunan fenolik maddelerdir (Şenay, 2009).

Keçiboynuzu meyvesinin insan sağlığı üzerine olumlu etkilerinin olduğu birçok araştırmayla ortaya konulmuştur. Kalp-damar, kanser ve diyabet üzerine etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Kalsiyum bakımından zengin içeriğinden dolayı osteoporoz rahatsızlarında, polifenol içeriğinin bulunmasından dolayı da depresyon rahatsızlıklarında etkili olabileceği belirlenmiştir (Gübbük vd., 2016).

Keçiboynuzu meyvesinde en bol bulunan mineraller kalsiyum, potasyum, magnezyum, sodyum, fosfor ve demirdir (Christou vd., 2017). Keçiboynuzu özlerinin bazı mantar ve bakteri çeşitlerine karşı çok güçlü bir antimikrobiyal etki sergiledikleri tespit edilmiştir (Quiles-Carrillo vd., 2019). Yakın zamanda yapılan hayvan ve insan denemeleri, keçiboynuzu lifi bakımından zengin bir keçiboynuzu pulb ürününün kolesterolü düşürdüğüne dair umut

verici sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte keçiboynuzunun etli kısmı ve keçiboynuzu lifinin sulu ekstraktları farklı in vitro testlerde yüksek antioksidan aktivite göstermiştir (Papagiannopoulos vd., 2004).

Çikolataya muadil olarak kullanılmasının sebeplerinden biri kafein içermemesidir (Khelifa vd., 2013). Bu doğal polisakkaritin özelliklerinden biri de su ile hazırlanan solüsyonlarında değişik sıcaklık ve pH değerlerinde yüksek vizkoziteye sahip olmasıdır. Keçiboynuzu toz haline getirilerek birçok gıda üretiminde, özellikle unlu mamüllerde diğer unlarla karıştırılarak kullanılır (Battle ve Tous, 2016).

Türkiye ve Yunanistan'da yetişen keçiboynuzlarının meyve gelişimi sırasında kalite özelliklerinin değişimiyle ilgili yapılan bir çalışmada, farklı evrelerde alınan numunelerde fenolikler, yağ asitleri ve şeker içeriği bakımından önemli farklılıklar bulunmuştur. Türkiye'de yetişen keçiboynuzu, Yunanistan'da yetişen keçiboynuzundan daha yüksek düzeyde toplam şeker, fruktoz ve sakaroz içeriği göstermiştir (Vekiari vd., 2011).

Üç keçiboynuzu türünün olgunlaşma aşamalarında antioksidan içeriği ve fitokimyasal içeriğindeki değişimlerin incelendiği bir çalışmada, toplam fenolik, toplam flavanoid ve askorbik asit içeriğinin en yüksek olduğu zaman diliminin meyvenin ham halinde olduğunu tespit edilmiştir (Benchikh vd., 2014).

Yedi farklı keçiboynuzu türünün çekirdek, ruşeym ve çekirdekleri ayrıldıktan sonraki kısmın öğütülmesiyle (etli kısım) kimyasal içeriklerinin bakıldığı bir çalışmada, nem, kül, protein, yağ ve karbonhidrat içerikleri karşılaştırılmıştır. En yüksek kül miktarı ruşeym tabakasında bulunurken, tohum zarfının en düşük yağ içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Ruşeym ve çekirdekteki protein oranları arasında pek bir fark yokken tohum zarfındaki protein oranı daha yüksektir (Avallone vd., 1997).

Yedi farklı Akdeniz ülkesinden alınan keçiboynuzlarının kökenlerinin sınıflandırılmasıyla ilgili yapılan bir çalışmada, FTIR yöntemi kullanılmış ve en iyi modelleme yönteminin PLS regresyonu olduğu, FTIR yönteminin keçiboynuzunun köken ve tipinin başarılı bir şekilde ayırt edilmesinde güçlü ve hızlı bir araç olduğu tespit edilmiştir (Christou vd., 2017).

Farklı pekmez türlerinin sınıflandırmasında FTIR yönteminin kullanıldığı bir çalışmada, FTIR spektroskopisinin kemometrik yöntemlerle birlikte kullanıldığında glikoz şurubuyla yapılan pekmezlerin ayırımında çok güçlü bir yöntem olduğu belirlenmiştir (Yaman ve Velioğlu, 2019).

Keçiboynuzu meyvesinin kimyasal bileşiminin ve morfolojisinin araştırıldığı bir çalışmada, en, boy, ağırlık, iç kalınlık gibi fiziksel ölçümleri yapılmıştır. Bu ölçüm sonunda fiziksel ölçümlerin dolaylı olarak keçiboynuzunun kalitesinin de bir göstergesi olduğu ortaya çıkmıştır. Meyve ne kadar kalınsa çekirdek ile meyve arasındaki mesafe büyüdükçe kalite o kadar yükselmektedir. Keçiboynuzu tohumlarının kimyasal içeriğine bakıldığında protein $2,74 \pm 0,03$, kül $3,0 \pm 0,03$, toplam şeker 83,7, süktroz $44,64 \pm 0,49$, fruktoz $7,2 \pm 0,2$, glukoz $2,2 \pm 0,2$ bulunmuştur (Khlifa vd., 2013).

Batı ve Güney Anadolu'da yetişmiş keçiboynuzlarının şeker, mineral, aminoasit, organik asit ve fenolik bileşiklerinin bakıldığı bir çalışmada, aynı renk, aynı miktar ve ölçülerde meyveler alınmıştır. Bulunan şekerlerden başlıcaları; 437,3 mg/g süktroz, 395,8 mg/g glikoz ve 42,3 mg/g fruktozdur. Yapılan mineral analizlerinde potasyum, kalsiyum, fosfor ve magnezyum önemli miktarda bulunurken; demir, manganez, bakır ve çinko eser miktarlarda bulunmuştur (Ayaz vd., 2007).

Keçiboynuzunun kalite özelliklerinin FTIR spektroskopisi ile tahminine dair herhangi bir araştırmaya rastlanılamamıştır. Fakat gül yağının kimyasal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, FTIR spektrometresi yardımıyla gül yağının tespit etmeye yarayan spesifik frekanslar belirlenmiştir. Kırmızı altı spektrumlar incelenerek hem daha hızlı hem daha ucuz gül yağı kalitesine dair bilgiler edinilmiştir (Bardakçı ve Seçilmiş, 2012).

Doğal ve sentetik reçellerde FTIR yöntemi uygulayarak kalite özelliklerinin belirlendiği bir çalışmada, meyveler %100 şeker, %50 şeker ve %100 glikoz şurubuyla hazırlanmıştır. Reçellerde katkı maddesi katılıp katılmadığı hızlı ve kolay bir biçimde tespit etmiştir. Katkı maddesi katılmış reçellerde ftir spektroskopisindeki piklerin yoğunluğu katkısız reçellere göre daha fazla çıkmıştır. Bu yöntemle reçel ve meyve suyu ürünlerinde her türlü taşışın tespit edilebileceği ortaya konmuştur (Mohamed vd., 2011).

2.2. FTIR Spektroskopisi

FTIR spektroskopisi katı, sıvı, gaz veya çözelti halinde bulunan organik bileşiklerin makromoleküler yapısında bulunan fonksiyonel grupların titreşimlerinden kaynaklanan karakteristik özellikleri, molekül içi bağlar üzerine kızılötesi ışınlar düşürülerek, bağların titreşim ve dönme hareketleri ile spektral veriler elde edilir. Bu veriler analiz edilerek nitel ve nicel olarak piklerde ve bantlardaki yoğunluk ve genişliklerdeki değişimler incelenerek analiz edilen örneğin sahip olduğu özellikler hakkında bilgiler edinilmektedir. İki bileşiğin aynı olup olmadığı, yapıdaki bağların durumu ve bağlanma yerleri hakkında bilgiler edinilebilir (Baran vd., 2013; Kumar vd., 2014).

Çoğunlukla orta dalga boylu kızılötesi (MIR, 400-4000 cm^{-1}) alanlarında kullanılmaktadır. Orta dalga boylu kızılötesi bölgesinde her bir molekülün fonksiyonel grubu farklı bir absorpsiyon üretir. Titreşim frekansları, gerilme, bükülme, büzülme, dönme modları kimyasal özellikleri hakkında bilgi edinilmesini sağlar. İnfrared bölgesindeki kimyasal bağların titreşimlerindeki değişimler spektral piklerin oluşumunu sağlar (Çağlar vd., 2019; Kılıç ve Arahana, 2010). İki ışık dizininin çakışması bu iki ışık dizininin aynı maddeye ait olduğunun bir göstergesidir (Kılıç ve Arahana, 2010). Katı sıvı ve gaz örneklerinde uygulanabilen ve çeşitli yöntemleri olan FTIR spektroskopisinde gıdanın kalitesi ve özgünlüğünü tespit etme amacıyla ATR yöntemi kullanılmaktadır (Çağlar vd., 2019).

FTIR spektroskopisi geleneksel yöntemlere karşı çok iyi bir alternatif olarak önerilmiştir ve kimyasal analizde standart bir çözümsel teknik haline gelmiştir (Polshin vd., 2011). FTIR maddenin içerisinde bulunan proteinler, yağlar, karbonhidratlar, polisakkaritler gibi kimyasal bileşimlerinin tespiti açısından en çok kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu yöntem patojenlerin tespiti ve gıda bozulmalarının araştırılması amacıyla da kullanılmaktadır (Büyüksırt ve Kuleaşan, 2014).

FTIR spektroskopisi (Şekil 2.5), örnek yapısını bozmadan, hızlı, basit ve hassas bir yöntem olması bakımından avantajlıdır. FTIR spektroskopisi ile moleküllerin fonksiyonel gruplarının belirlenmesi ile parmak izine benzer spektrumlar elde edilerek örnekler arasındaki farklılıklar ortaya konulmaktadır (Davis vd., 2010). FTIR ile bağlar arasındaki büzülme, gerilme gibi titreşim hareketleri hücre bileşiklerinin infrared ışığı absorpsiyonu sağlanır ve spektral veri

tabanları ile karşılaştırılması ile tanımlanan parmak izine benzer fonksiyonel grubun kendine özgü olan spektrumlar elde edilir (Wenning vd., 2014).



Şekil 2.5. FTIR spektroskopisi.

2.3. Çok Değişkenli İstatistiksel Analizler

Herman Wold tarafından 1960'lı yıllarda geliştirilen kısmi en küçük kareler (PLS) regresyonu kısmi en küçük kareler analizi ve çoklu doğrusal regresyon yöntemlerini içermektedir. Bu istatistiksel yöntem çoklu doğrusal bağlantı problemini çözmek için, değişkenlerin gözlem sayısından daha fazla olduğu veya benzer olduğu durumlarda veya gözlemlerin değişken sayısını geçtiği durumlarda kullanılabilir. Kısmi en küçük kareler yöntemindeki amaç sayıca fazla olan ve aralarında çoklu doğrusal bağlantı bulunan değişkenler, bağımlı ve açıklayıcı değişkendeki değişimi büyük ölçüde açıklayan daha az sayıda ve aralarında çoklu doğrusal bağlantı problemine sahip olmayan yeni bileşenlere indirgenmektedir. Ortaya çıkan yeni bileşenlere çoklu doğrusal regresyon analizi uygulanmasıyla regresyon modeli oluşturulmaktadır (Akyürek ve Akyol, 2018; Bulut ve Alın, 2009).

Şarapta sıralı enjeksiyon kullanarak FTIR spektroskopisi ile HPLC yönteminin karşılaştırıldığı bir çalışmada, FTIR spektroskopisinin şarap analizi gibi karmaşık problemlerde bile önemli nicel bilgiler sağlanmıştır. PLS yöntemi tek bir bileşenin konsantrasyonundaki artışı belirlemek için geliştirilmiştir (Schindler vd., 1998).

Yeşil ceviz kabuklarının biyoaktif özelliklerinin FTIR yöntemiyle tahmin edildiği bir çalışmada, kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarından farklı çözenler kullanılarak ekstraktlar elde edilmiştir. FTIR yönteminin hızlı ve güvenilir bir yöntem olduğu, FTIR spektroskopisi

kullanılarak tahmin edilen antioksidan aktivite değerleri ve toplam fenolik madde ile gerçekte ölçülen değerlerin PLS regresyon analizleri sonuçlarına bakılarak görülmüştür (Kadiroğlu ve Ekici, 2018).

Naturel zeytinyağında tağşşi tespit etmek için FTIR spektroskopisiyle PLS yönteminin kullanıldığı bir çalışmada, zeytinyağının soya fasulyesi ve ayçiçeği yağıyla seyreltilip seyreltilmediğine bakılmıştır. %1-24 ağırlık oran aralığındaki seyreltme konsantrasyonlarını, %3'ten daha az bağıl hata ile tespit edebildiği belirlenmiştir. PLS modeli ile zeytinyağına %1'den daha az miktarda başka yağ karıştırılrsa bile %100 tağşşin tespit edileceği belirlenmiştir (Oussama vd., 2012).

FTIR spektroskopisi ile bira kalitesinin izlendiği bir çalışmada, farklı bira çeşitlerinde gıda maddelerinde kalite ve tağşş tespitinde kullanılan ATR tekniğinin üç farklı ölçüm metodu ile kalite parametreleri değerlendirilmiştir. PLS yönteminin farklı değişkenlerdeki kombinasyon performansları araştırılmıştır. Metotlardaki değişken iki yöntemin biradaki şeker ve alkol içeriğini etkileyen parametrelerde benzer ve yüksek tahmin performansı göstermiştir. FTIR spektroskopisinin etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir (Polshin vd., 2011).

3. MALZEME VE YÖNTEM

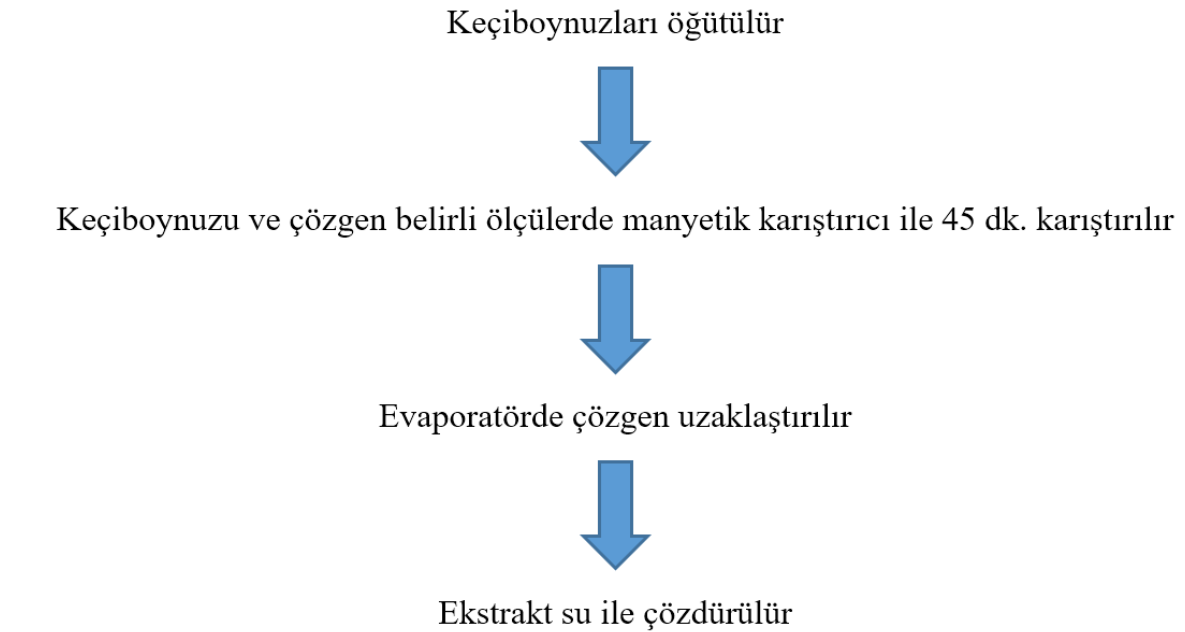
3.1. Malzeme

Bu çalışmada Mersin ilinde yetişen keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua L.*) meyveleri temin edilerek analizler için kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstraktların hazırlanması

Çalışmamızda ekstraksiyonlar için çözügen olarak su (S), etanol (E), metanol (M), %50 etanol (ES), %50 metanol (MS) kullanılmıştır. Bu çalışmada ekstrakte edilen keçiboynuzu örneklerinin çekirdekleri çıkartılmadan iyice öğütülmüştür. Su ekstraksiyonu için iyice öğütülen örnekten 5 g tartılarak 250 mL kaynamış su içerisinde 45 dakika (Şekil 3.1) iyice özdeşleşmesi sağlanır. Whatman no:4 filtre kâğıdı kullanılarak karışım filtre edilir (Şekil 3.2). Metanol, etanol, metanol-su %50 (v/v), etanol-su %50 (v/v) ekstraksiyonu için 1,5 g öğütülen örnek tartılarak 15 mL çözügen içerisinde 45 dakika oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra Whatman no:4 filtre kâğıdı kullanılarak filtre edilir. Çözügenler vakum altındaki Büchi R-210 marka rotary evaporatör içerisinde 80°C’de uçurulmuş ve elde edilen ekstraktlar su içerisinde 50 mg/mL son konsantrasyon olacak şekilde çözündürülüp, 4°C’de saklanmıştır. Ekstraksiyon işlemi iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir (Fernández-Agulló vd., 2013).



Şekil 3.1. Ekstrakt hazırlama basamakları.



Şekil 3.2. Ekstraksiyon işlemleri.

3.2.2. Toplam Fenolik Madde Tayini

Keçiboynuzu ekstraktlarında toplam fenolik madde miktarı Singleton ve Rossi tarafından bildirilen yöntemin değiştirilerek kullanılmasıyla belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1995). Ekstrakte edilen örneklerden 0,2 mL alınır, üzerine 10 mL %10'luk Folin-Ciocalteu çözeltisi ve 1,8 mL saf su ilave edilerek çözeltiler 1 saat boyunca karanlık ortamda bekletilir. Daha sonra spektrofotometre ile absorbans değerleri 720 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Standart çözelti olarak 0-100 mg/L arasında hazırlanan gallik asit çözeltileri kullanılmıştır. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı, standartlardan elde edilen kalibrasyon grafiği kullanılarak mg gallik asit eşdeğeri (GAE/L) olarak hesaplanmıştır.

3.2.3. Antioksidan Kapasite Analizleri

Keçiboynuzu örneklerinin antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemde, serbest radikalleri önleme yeteneğini ölçebilen DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) kullanılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri Trolox (10–100 µmol/L) standart eğim çizelgesi ile hesaplanarak sonuçlar mM Trolox/L cinsinden ifade edilmiştir. Analizler, Shimadzu marka UV-Vis spektrofotometre (UV-Vis Shimadzu 1201, Kyoto-Japan) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Brand-Williams vd., 1995).

3.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal aktiviteleri belirlenen keçiboynuzu örneklerinde test mikroorganizması olarak *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* bakterileri kullanılmıştır. Bu bakteriler Triptik Soy Agar (TSA) besiyeri üzerinde 35°C'de 18-24 saat inkübasyon sonunda aktifleştirilmiştir. Daha sonra bakteri çözeltilisinin bulanıklığı 0,5 McFarland birimi olacak şekilde, steril tuzlu su çözeltisi

kullanılarak ayarlanmıştır. 0,5 McFarland birimine denk olan *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* sayısı TSA besiyerine ekim yapılarak 35°C’de 18-24 saat inkübasyon sonunda belirlenmiştir. Bakteri kültürleri Muller Hinton Agar (MHA) besiyeri içerisine inokule edilerek ve steril plakalar içerisine dökülmüştür. Keçiboynuzu örnekleri gözenek çapı 0,22 µm olan membran filtrelerden geçirilerek steril hale getirilip, 20 µl alınarak steril boş diskler üzerine damlatılmış ve çözeltinin emdirilmesi sağlanarak diskler agar üzerine yerleştirilmiştir. 35°C’de 18-24 saat inkübasyon süresi sonunda zon çapları ölçülmüştür (Öztürk vd., 2015).

3.2.5. FTIR Analizleri

FTIR analizleri için keçiboynuzu numunelerinden 25 µl alınarak damla halinde ATR aksesuarı üzerine konulmuştur. FTIR absorpsiyon spektraları FTIR spektroskopisi (Perkin-Elmer Spectrum Two™, Waltham, MA, ABD) kullanılarak 4000 ve 450 cm⁻¹ dalga boyu aralığında, 0,5 cm⁻¹ spektral rezolusyonda ve 4 tarama sayısı sonucunda elde edilmiştir. Her bir örnek için en az iki spektra elde edilmiştir. Her örnekten önce arka plan spektrası alınarak örneklerin spektralarından çıkarılıp analize devam edilmiştir.

3.2.6. İstatistiksel Analizler

Toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite analizlerinde örnekler arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiş ve örneklerin analiz sonuçlarının ortalamaları arasındaki farklılıklar Fisher’ın en küçük anlamlı farklar yöntemine P<0.05 düzeyine göre belirlenmiştir. İstatistiksel analizler SIMCA 10.5 yazılımı kullanılarak yapılmıştır (Umetrics, İsveç). FTIR spektral datasının 4000-450 cm⁻¹ arasında taranan tüm bölgeler analiz için kullanılmıştır. Spektral data kullanılan program ile otomatik olarak standardize edilmiş ve ortalama merkezleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Farklı çözümler kullanılarak ekstrakte edilen keçiboynuzu örneklerine uygulanan toplam fenolik madde (TFM), antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite tayini ile FTIR analizlerinin sonuçları ve verilerin istatistiksel yöntemlerle analizi sonucunda elde edilen bulgular açıklanmıştır.

4.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

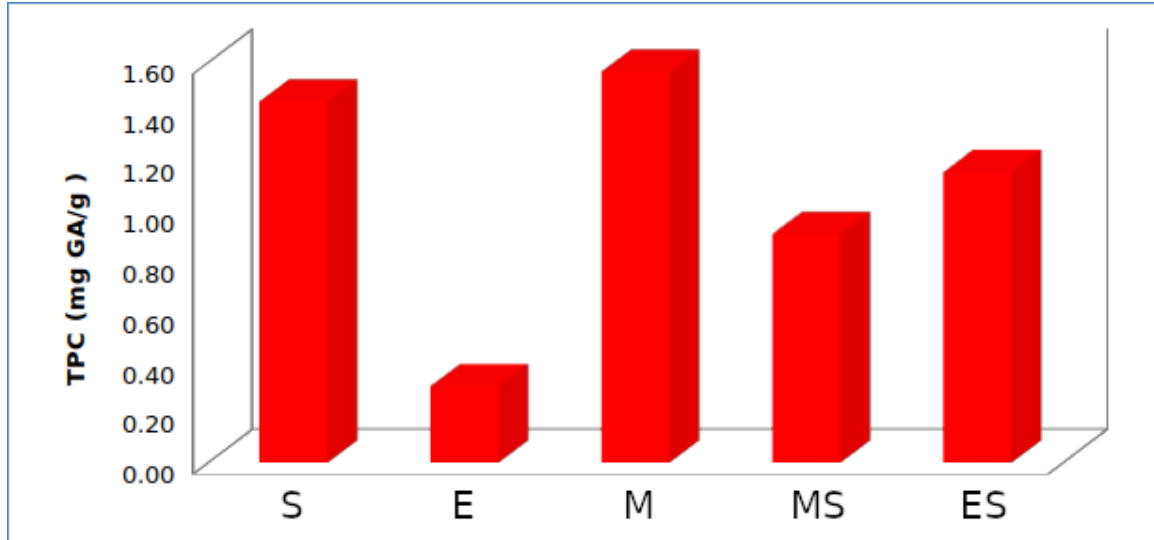
Toplam fenolik madde içeriği analizi sonucunda, keçiboynuzu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak verilmiştir. Bu amaçla ilk olarak gallik asit kalibrasyon eğrisi çizilip örnek konsantrasyonlarının absorbansı bu kalibrasyon eğrisinin içinde okunacak şekilde belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı gallik asit kalibrasyon denkleminde yararlanılarak hesaplanmıştır. Deneyler iki paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve ortalama alınmıştır. Toplam fenolik madde miktarı en yüksek metanol ekstraktında (1,56 µg GA/g), onu takiben su ekstraktında (1,44 µg GA/g) belirlenmiştir (Tablo 4.1). Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde örneklerin TFM miktarları arasında anlamlı bir fark bulunduğu ($P<0,05$) belirlenmiş ve örnekler arasındaki farklılıklar Fisher'in en küçük anlamlı farklar yöntemine göre değerlendirilerek harflendirme yapılmıştır.

Tablo 4.1. Farklı çözümlerle ekstrakte edilen keçiboynuzu örneklerinin TFM miktarları.

Çözümler	TFM (µg GA/g)
Su (S)	1,44±0,05 ^a
Etanol (E)	0,30±0,01 ^d
Metanol (M)	1,56±0,09 ^a
%50 Etanol (ES)	1,16±0,04 ^b
%50 Metanol (MS)	0,91±0,31 ^c

^{a-d}Üst simge olarak gösterilen farklı harfler örnekler arasında önemli bir fark olduğunu göstermektedir ($P<0,05$)

Mısır püskülünün dokuz farklı çözenle ekstrakte edildiği bir çalışmada, en yüksek toplam fenolik madde içeriğinin bulunduğu çözen etanol (% 0,1575), takiben metanol (% 0,1125) ve daha sonra su (% 0,0737) gelmektedir. Aseton, bütanol ve kloroform gibi daha düşük polariteye sahip çözenler fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda polar çözenlere göre daha etkili olarak bulunmuştur (Mohsen ve Ammar, 2009).



Şekil 4.1. Farklı çözenlerle ekstrakte edilen keçiyoynuzu örneklerinin TFM miktarları (Soldan sağa S:Su, E:Etanol, M:Metanol, MS:Metanol %50, ES:Etanol %50).

Farklı çözenlerin kullanıldığı kurutulmuş yeşil ceviz kabuklarında toplam fenolik madde tayini sonuçlarına göre toplam fenolik madde miktarı 146,30-44,04 mg GAE/L değişmektedir. Toplam fenolik madde miktarı en çok suda (146,30 mg GAE/L), daha sonra aseton %50 (137,54 mg GAE/L), en düşük metanolde (44,04 mg GAE/L) belirlenmiştir (Kadiroğlu ve Ekici, 2018).

Yapılan çalışmalardan birinde, farklı konsantrasyonlarındaki çözenlerle ekstrakte edilen 3 tropikal meyvenin toplam fenolik madde miktarı incelendiğinde, meyvelerden ananasta TFM miktarı %70 etanol ekstraktında 54,7 mg GAE/100 g ve aseton %50 de 54,1 mg GAE/100 g bulunmuştur ve ikisi arasında kayda değer bir fark gözlenmemiştir. Aseton diğer çözenlerle karşılaştırıldığında en yüksek verimi (72,2 mg GAE/100 g) %90 konsantrasyonuyla muzda göstermiştir. Guava meyvesinde yine en yüksek TFM %90 aseton ve %90 etanolde göstermiştir (Allothman vd., 2009).

Yağından arındırılmış buğday ruşeyminde farklı konsantrasyonlarda etanol ve bunların sulu ekstraksiyonlarının kullanıldığı bir çalışmada, örneklerin %30, %50, %70, %100 etanol ve sulu ekstraktları hazırlanmıştır. Ekstraktların toplam fenolik madde değerleri 13,98-16,75 mg GAE/g arasında değişmektedir. En yüksek toplam fenolik madde içeriği (16,75 mg GAE/g) %70 etanolde iken, en düşük (13,98 mg GAE/g) %30 etanol ekstraktında çıkmıştır. Genel olarak toplam fenolik madde içeriği ekstraktlarda birbirine yakın çıkmıştır (Zhu vd., 2011).

4.2. Antioksidan Kapasite Analizleri

Antioksidan kapasite analizleri sonucunda en düşük antioksidan aktivite etanol ve metanol çözümlerinin %100 oranında kullanıldığı örneklerde gözlemlenmiştir. En yüksek antioksidan aktivite su ile ekstrakte edilen keçiyoynuzu örneğinde gözlemlenmiş (Tablo 4.2) ve bunu %50 etanol ve %50 metanol ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin takip ettiği belirlenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde örneklerin antioksidan kapasiteleri arasında önemli bir fark bulunduğu ($P<0,05$) belirlenmiş ve örnekler arasındaki farklılıklar Fisher'ın en küçük anlamlı farklar yöntemine göre değerlendirilerek harflendirme yapılmıştır.

Tablo 4.2. Keçiyoynuzu örneklerinin antioksidan aktivite değerleri.

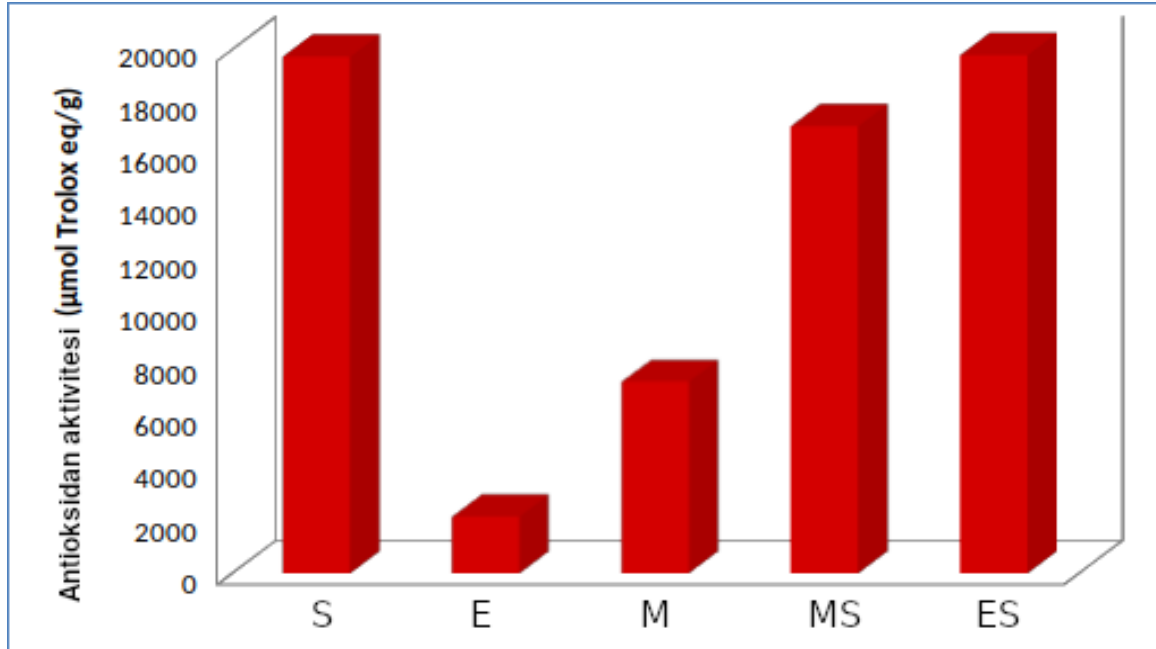
Çözgen	Antioksidan Aktivitesi ($\mu\text{mol Trolox/g}$)
Su (S)	19731,08 $\pm$ 0,86 ^a
Etanol (E)	2171,51 $\pm$ 0,20 ^d
Metanol (M)	7323,08 $\pm$ 0,37 ^c
%50 Etanol (ES)	19785,06 $\pm$ 1,20 ^a
%50 Metanol (MS)	17076,37 $\pm$ 1,86 ^b

^{a-d} Üst simge olarak gösterilen farklı harfler örnekler arasında önemli bir fark olduğunu göstermektedir ($P<0,05$)

İki farklı buğday kepeği türünün farklı çözümler kullanılarak ekstrakte edildiği ve farklı yöntemlerle antioksidan kapasitelerinin belirlendiği bir çalışmada akron buğdayının en yüksek antioksidan kapasitesi (% 41,43 kalan DPPH yüzdesi) etanolde, en düşük antioksidan kapasitesi (% 16,87 kalan DPPH yüzdesi) %70 metanol ekstraktında bulunmuştur. Diğer bir

türü olan trego buğdayında da en yüksek (% 53,85 kalan DPPH yüzdesi) etanolde, en düşük yine (% 24,60 kalan DPPH yüzdesi) %70 metanolde bulunmuştur (Zhou ve Yu, 2004).

Çiğ ve işlenmiş baklagillerin farklı çözügenler kullanılarak ekstraksiyon işleminin gerçekleştiği bir çalışmada, %80 metanol ve %70 aseton kullanılmıştır. Genel olarak çiğ baklagillerde daha kuvvetli antioksidan kapasitesi bulunmuştur. Çeşitli işleme yöntemlerinin (kuru ısıtma, otoklavlama, ıslatma ve otoklavlama) antioksidan kapasitesini değiştirdiği tespit edilmiştir. Metanolle ekstrakte edilen işlenmiş baklagillerin antioksidan aktivitesi asetonla ekstrakte edilenlere göre daha yüksek çıkmıştır (Nithiyanantham vd., 2012).



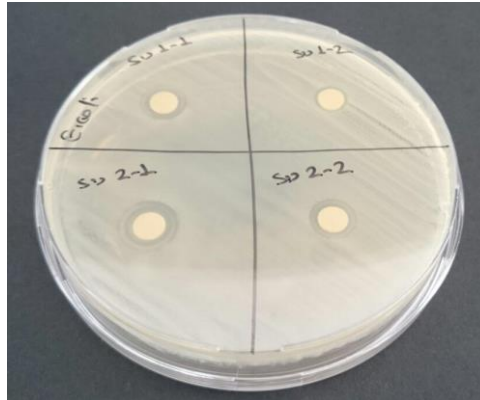
Şekil 4.2. Farklı çözügenlerle ekstrakte edilen keçiyoynuzu örneklerinin antioksidan aktiviteleri (Soldan sağa S:Su, E:Etanol, M:Metanol, MS:Metanol %50, ES:Etanol %50).

Beyaz ve yeşil çayda iki farklı çözügenin ve farklı ekstraksiyon sürelerinin uygulandığı bir çalışmada, antioksidan kapasitesi ve fenolik içerikleri arasında yüksek korelasyon hesaplanmıştır. Çalışmada çözügen olarak su, su ve limon suyu, farklı konsantrasyonlarda (%10, %40, %70) etanol, beyaz ve yeşil çay yaprakları ile ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyonun 5., 15. ve 30. dakikalarda antioksidan kapasiteleri ölçülmüştür. Genel olarak yeşil çay yapraklarının antioksidan kapasitesi daha yüksek çıkmıştır. En yüksek antioksidan aktivitesi 30 dakika ekstraksiyon yapılan %40 etanol (14,5 mg trolox/L) ekstraktında bulunurken, en düşük aktivite 5 dakika %70 etanolde ekstraksiyon yapılan (3,45 mg trolox/L) örnekte bulunmuştur (Rusak vd., 2008).

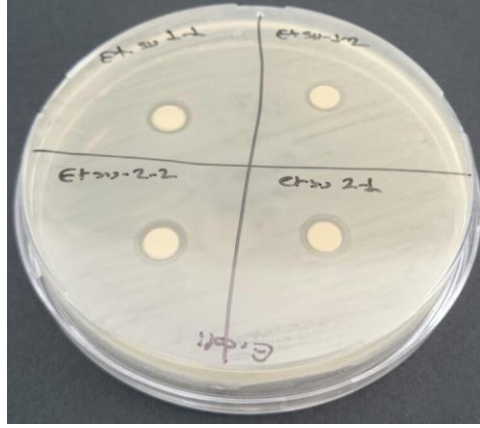
4.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Çalışmamızda farklı çözenler kullanılarak ekstrakte edilen keçiboynuzu örneklerinin *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. *Escherichia coli* bakterisine karşı su ve %50 etanol ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi olduğu bulunurken, diğer çözenlerin antimikrobiyal etkisi belirlenmemiştir. %50 metanol ekstraktının (MS) *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı antimikrobiyal etkisi bulunurken diğer çözenlerin etkisi bulunmamıştır. Metanolde çözen miktarı 15 mL den 25 mL ve 50 mL'ye çıkartıldığında da herhangi bir antimikrobiyal etki görülmemiştir. Bununla birlikte su, etanol, metanol ve bunların sulu çözeltilerinin hiçbirinde *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı antimikrobiyal etki gözlemlenmemiştir.

Keçiboynuzu örneklerinin sulu ekstraktları *Escherichia coli* bakterisine karşı en yüksek antimikrobiyal etkiye sahipken (Şekil 4.3), çözen miktarını yarıyarıya indirdiğimizde herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. %100 etanol ekstraktında hiçbir etki gözlenmezken, %50 etanol ekstraktında 9,44 mm (Şekil 4.4) ortalama zon çapı ölçülmüştür.



Şekil 4.3. Sulu ekstraktın *Escherichia coli* bakterisine karşı etkisi.



Şekil 4.4. % 50 etanol ekstraktının *Escherichia coli* bakterisine karşı etkisi.

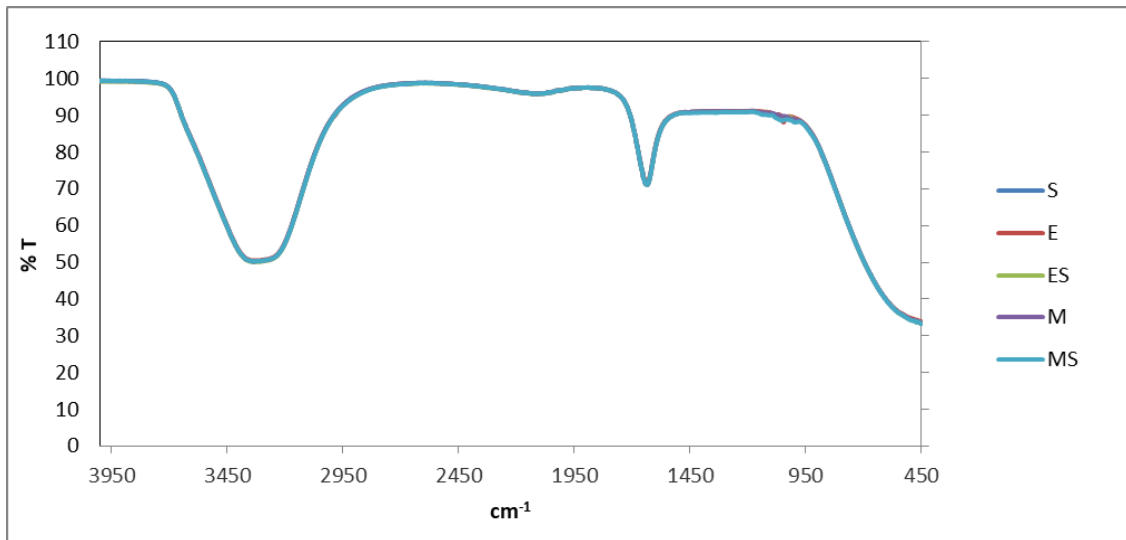
Antep fıstığı kabuğu, ceviz yaprağı, nar kabuğu ve portakal kabuğunun 5 farklı çözügen ile hazırlanan ekstraktlarında antimikrobiyal aktivitenin araştırıldığı bir çalışmada, çözügen olarak aseton, metanol, etanol, kloroform ve etil asetat kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin en yüksek çıktığı bakteri *Bacillus brevis* (8-16 mm arasında) olmuştur. Metanol ile hazırlanan bitki ekstraktlarında antep fıstığı kabuğu, ceviz yaprağı ve nar kabuğu ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı 8-14 mm arasında değişen inhibisyon zonları oluşturduğu görülmüştür. Antep fıstığı kabuğu kloroform ekstraktları *B. brevis*'te 16 mm'lik inhibisyon zonu oluştururken *Escherichia coli*'de herhangi bir zon oluşturmamıştır. Çalışmada kullanılan farklı bitki ekstraktlarının aynı mikroorganizmaya karşı farklı oranda antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır (Zoral ve Turgay, 2014).

Farklı çözügenler ile ekstrakte edilen yeşil ceviz kabuklarının ve yaprağının antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, metanol ve su çözügenleri kullanılmıştır. Örneklerin *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, bazı *Candida albicans* ve diğer *Candida* türlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Çözügenler arasında bakterilerin suya karşı daha dirençli oldukları metanollü ekstraktların daha fazla antimikrobiyal etki gösterdikleri tespit edilmiştir (Yiğit vd., 2009).

4.4. FTIR Analizleri

Bu çalışmada FTIR yönteminin istatistiksel analizler ile birleştirilerek, farklı çözügenler kullanılarak ekstrakte edilen keçiyoynuzu meyvesinin toplam fenolik madde miktarı, antioksidan kapasitesi gibi kalite parametrelerini tahmin etmede hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Ayrıca FTIR spektrumu incelenerek örnekler arasındaki makromoleküler farklılıklar da ortaya konulmuştur.

FTIR spektroskopisi ile analiz sonucunda elde edilen spektrumda 4000 ile 450 cm^{-1} dalgaboyu arasındaki bölge (MIR) aralığında, su, etanol, etanol/su, metanol ve metanol/su olmak üzere beş farklı çözücü ile elde edilen keçiyoynuzu meyvesinin ekstraktlarının değerlendirilmesi yapılmış ve FTIR spektrumu Şekil 4.5'te, spektrumlarına karşılık gelen fonksiyonel gruplar Tablo 4.3'te verilmiştir. Grafik incelendiğinde, keçiyoynuzu meyvesinin farklı çözücü tipleri için benzer spektrumlar verdiği görülmüştür. Elde edilen spektrum incelendiğinde en belirgin piklerin; 3332, 1653 ve 1087 cm^{-1} dalga boylarındaki pikler olduğu görülmüştür. Hidrojen bağlarında ve moleküller arası H bağında meydana gelen O–H gerilme titreşimleri ve proteinlerin N–H gerilme (Amid A) titreşimleri 3550-3200 cm^{-1} 'deki pikler için polisakkarit ve proteinlerin amid bölgesi olarak belirlenmiştir (Doğan vd., 2007). Çalışmada elde edilen 3332 cm^{-1} 'deki dalga boyundaki pik de bu fonksiyonel gruplardaki bileşikler olarak yorumlanmıştır. 1653 cm^{-1} 'de elde edilen pikin yapısal proteinlerin amid I titreşimlerine karşılık geldiği şeklinde belirlenmiştir. Amid I bölgesinin esas olarak protein amid C=O gerilme titreşimleri ile ilişkilidir. Bu titreşim pozisyonu protein konformasyonuna duyarlıdır (Doğan vd., 2007). Ayrıca çalışmada 1087 cm^{-1} dalga boyunda elde edilen pik; 1111-1097 cm^{-1} dalga boyları arasında meydana gelen fonksiyonel grupların –CH eğilme ve –CH titreşim deformasyonu olarak belirlenmiştir. Bu dalga boyunda belirlenen pik yağ asitleri bölgesi olarak tanımlanmıştır (Rohman ve Che Man, 2010; Christou vd., 2018).

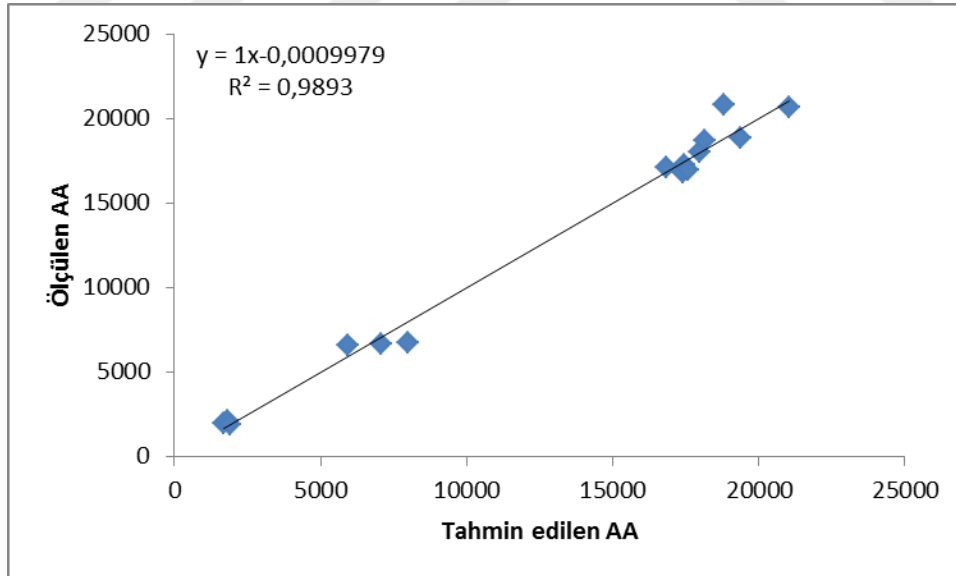


Şekil 4.5. Keçiyoynuzu ekstraktlarının FTIR spektrası.

Tablo 4.3. Keçiboynuzu meyvesinin spektrasına karşılık gelen fonksiyonel gruplar (Doğan vd., 2007; Rohman ve Che Man, 2010).

Dalga boyu (cm ⁻¹)	Dalga boyuna karşı gelen fonksiyonel grup	Fonksiyonel gruba karşılık gelen organik bileşik
3386-3326	O–H and N–H grubu	Polisakkaritler, protein
1653	C=O bağı	Protein
1111-1097	–CH, –CH	Yağ asitleri

PLS regresyon analizi sonuçlarıyla keçiboynuzu meyvesinin antioksidan aktivitesi tahmin edilmeye çalışılmıştır. Analiz sonucu elde edilen antioksidan aktivite sonucuyla FTIR spektroskopisi ile elde edilen verilerin PLS analizi sayesinde tahmin edilen antioksidan aktivitesi birbirlerine karşı grafiksel olarak gösterildiğinde elde edilen R² değeri 0,9893 (Şekil 4.6) olarak bulunmuştur. Bu değer 1'e yakın olması modelin iyi bir tahminleyici olduğunu göstermektedir.

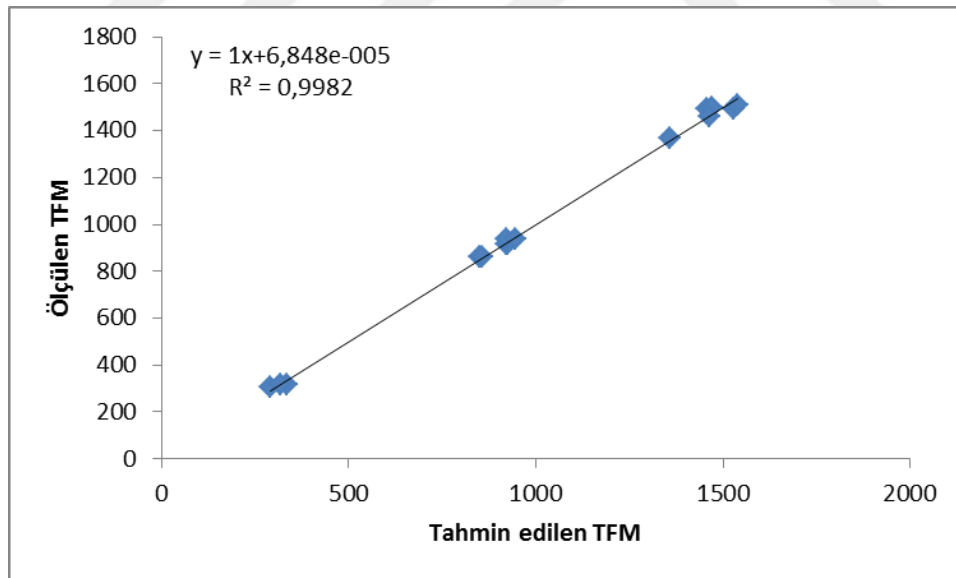


Şekil 4.6. FTIR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen antioksidan aktivite değerlerinin birbirine karşı grafiği.

PLS regresyon analizi sonuçlarıyla keçiboynuzu meyvesinin toplam fenolik madde miktarı tahmin edilmeye çalışılmıştır. Analiz sonucunda çıkan toplam fenolik madde miktarı ile FTIR spektroskopisi ile elde edilen verilerin PLS analizi sayesinde çıkan tahmini toplam fenolik

madde miktarı birbirlerine karşı grafiksel olarak gösterildiğinde elde edilen R^2 değeri 0,9982 (Şekil 4.7) olarak bulunmuştur. Bu değer 1'e yakın olması modelin iyi bir tahminleyici olduğu sonucunu çıkarmaktadır.

Yeşil ceviz kabuklarında biyoaktif özelliklerin FTIR spektroskopisi yöntemiyle tahmin edildiği bir çalışmada, altı farklı çözügen kullanılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal özellikleri belirlendikten sonra ekstraktların FTIR spektral verileri karşılaştırılmıştır. PLS regresyon analizi yardımıyla FTIR analiz sonuçları karşılaştırılarak toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitesi tahmin edilmeye çalışılmıştır. Ölçülen toplam fenolik madde miktarı ile FTIR verisi ile elde edilen tahmini toplam fenolik madde miktarı birbirine karşı grafiksel olarak gösterildiğinde R^2 değeri 0,979 çıkmıştır. Aynı şekilde antioksidan aktivitesi için R^2 değeri 0,993 çıkmıştır. Bu değer 1'e yakın olması modelin tahmin yeteneğinin iyi olduğunu göstermektedir. FTIR yönteminin hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak başarılı bir şekilde uygulanabilir olduğu belirlenmiştir (Kadiroğlu ve Ekici, 2018).



Şekil 4.7. FTIR spektral verisinin PLS ile analizi sonucunda elde edilen tahmini ve ölçülen toplam fenolik madde miktarlarının birbirine karşı grafiği.

Keçiboynuzunun orjini FTIR spektroskopisi ve kemometrik yöntemlerle sınıflandırıldığı bir çalışmada, 7 farklı ülkeden elde edilen keçiboynuzu meyveleri analiz edilmiştir. Kıbrıs, Yunanistan, İtalya, İspanya, Türkiye, Ürdün ve Filistin'den alınan örneklerin tohum ve etli kısımları incelenmiştir. PLS regresyon modeli ile genel olarak en doğru sınıflandırma

yapılabilmiştir. Kemometrik yöntemlerle keçiboynuzu meyvesinin kökenine ve türlerine göre ayırım yapılabilmektedir (Christou vd., 2017).

Keçiboynuzunun orjininin FTIR spektroskopisi ve kemometrik yöntemlerle tespit etmeye çalışılan bir çalışmada, Fas bölgesindeki çeşitli keçiboynuzu ağaçlarından elde edilen meyvelerin tohum ve etli kısımları alınarak analiz edilmiştir. Aynı şartlarda ve aynı miktardaki örnekler alınmıştır. Sonuçlar şunu göstermiştir ki spektroskopik ve kemometrik yöntemlerin birlikte kullanılması keçiboynuzu kökenini ve alt sınıfını belirlemede yeterlidir (Alabdi vd., 2011).

Keçiboynuzu, dut ve üzüm pekmezlerinin taşımasının tespitinin araştırıldığı bir çalışmada, FTIR spektroskopisi yöntemiyle çok değişkenli yöntemler kombine edilmiştir. Malatya'dan 52 adet geleneksel yöntemlerle üretilmiş doğal pekmez alınmıştır. Birde laboratuvar koşullarında glikoz şurubu ile bilinen pekmez örnekleri belli şartlar altında karıştırılarak kuru maddesi %50'ye getirilmiştir. Ayrıca test örneği olması açısından da altı adet gerçek karıştırılmış keçiboynuzu pekmez örneği pekmez üretim yerlerinden temin edilmiştir. PLS modeli ile saf ve katkılı pekmez ürünlerini ayırt etmek için örnekler kalibre edilmiştir. Gerçek ve glikoz şurubu ile karıştırılmış örneklerin ayrı ayrı FTIR analizi yapılmıştır ve spektral veriler PLS yöntemiyle analiz edilmiştir. Örnekler 600-4000 cm^{-1} dalga boylarında ayırt edilmiştir. R^2 değeri üzüm pekmezi için 0,988, keçiboynuzu pekmezi için 0,998, dut pekmezi için 0,996 bulunmuştur. PLS verilerinin sonuçlarına göre üç pekmez türünden de en üst seviyede hassas, randımanlı ve özgün değerler alınmıştır. İki yöntemin pekmez örneklerinin ayırımında birlikte kullanıldığında çok randımanlı olduğu belirlenmiştir (Yaman ve Velioğlu, 2019).

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada farklı çözümler kullanılarak ekstrakte edilen keçiyoynuzu meyvesinin antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde miktarı ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş ve antioksidan kapasitesi ile toplam fenolik madde miktarı parametreleri FTIR spektroskopisi verilerinin PLS regresyon yöntemi ile analiz edilmesi ile tahmin edilmeye çalışılmıştır.

Çalışma boyunca elde edilen veriler şu şekilde özetlenebilir:

- Toplam fenolik madde miktarı en yüksek metanol (M) ekstraktında, onu takiben su (S) ekstraktında belirlenmiştir.
- Antioksidan kapasitesi en düşük etanol (E) ve metanol (M) çözümlerinin kullanıldığı keçiyoynuzu örneklerinde gözlemlenmiştir. En yüksek antioksidan aktivite su ile ekstrakte edilen keçiyoynuzunda gözlemlenmiştir. Daha sonra %50 etanol ve %50 metanolde yüksek antioksidan aktivite bulunmuştur. En düşük antioksidan aktivite etanol çözümü ile ekstrakte edilen örnekte bulunmuştur.
- Çalışmada farklı çözümler kullanılarak ekstrakte edilen keçiyoynuzu örneklerinin *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Su ve %50 etanol ve %50 metanol de antimikrobiyal etki bulunurken etanol ve metanolde hiçbir etki görülmemiştir. *Escherichia coli* bakterisine karşı su ve %50 etanol de antimikrobiyal etki bulunurken, diğer bakterilerde bir etki görülmemiştir. %50 Metanol de *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı antimikrobiyal etki bulunurken diğer çözümlerde etki bulunamamıştır. Metanolde çözgen miktarı 15 mL den 25 mL'e ve 50 mL'e çıkartıldığında da herhangi bir etki görülmemiştir. Bununla birlikte su, etanol, metanol ve bunların sulu çözeltilerinin hiçbirinde *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı antimikrobiyal etki gözlemlenmemiştir. Sulu ekstraktlar en yüksek antimikrobiyal etkiye sahipken çözgen miktarını yarıyarıya indirdiğimizde de herhangi bir aktivite gözlenmemiştir. %100 Etanol ekstraktında hiçbir etki gözlenmezken, %50 etanol ekstraktında 9,44 mm ortalama zon çapı ölçülmüştür.
- FTIR spektrumlarına karşılık gelen fonksiyonel gruplar incelendiğinde, keçiyoynuzu meyvesinin farklı çözümler için benzer spektrumlar verdiği görülmüştür.
- PLS regresyon analizi sonucunda ölçülen antioksidan aktivite değerleriyle FTIR spektroskopisi ile tahmin edilen antioksidan aktivitesi değerleri incelendiğinde R^2 değeri

0,9893 olarak bulunmuştur.

- PLS regresyon analizi sonuçlarıyla keçiboynuzu meyvesinin TFM miktarı tahmin edilmeye çalışılmıştır. Analiz sonucunda çıkan TFM miktarı ile FTIR spektroskopisi ile elde edilen veriler kullanılarak PLS regresyon analizi sonucunda elde edilen grafik incelendiğinde R^2 değeri 0,9982 olarak bulunmuştur.



KAYNAKLAR

Akyürek, S., Akkol, S. (2018). Yumurta iç kalite özelliklerinin kısmi en küçük kareler regresyonu kullanılarak tahmin edilmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilim Dergisi, 28(4), 473–481.

Alothman, M., Bhat, R., Karim, A. A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. Food Chemistry, 115, 785–788.

Alabdi, F., Elharfi, N., Balouki, A., Kzaiber, F., Oussama, A. (2011). Carob origin classification by FTIR spectroscopy and chemometrics. Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 5, 1020–1029.

Amir, R. M., Anjum, F. M., Khan, M. I., Khan, M. R., Pasha, I., Nadeem, M. (2013). Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy for the identification of wheat varieties. Journal of Food Science Technology, 50(5), 1018–1023.

Anjos, O., Campos, M.G., Ruiz, P.C., Antunes, P. (2015). Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey. Food Chemistry, 169, 218–223.

Avallone, R., Plessi, M., Baraldi, M., Monzani, A. (1997). Determination of chemical composition of arob (*Ceratonia siliqua*): Protein, fat, carbohydrates, and tannins. Journal of Food Composition and Values, 10, 166–172.

Ayaz, F. A., Torun, H., Ayaz, S., Correia, P. J., Alaiz, M., San, z C., Gruz, J., Strnad, M. (2007). Determination of chemical composition of anatolian carop pod (*Ceratonia Siliqua* L.): sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. Journal of Food Quality, 30, 1040–1055.

Bardakçı, B., Seçilmiş, H. (2006). Isparta bölgesindeki gül yağının kimyasal içeriğinin GC-MS ve FTIR spektroskopisi tekniği ile incelenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi, 1(1-2), 64–69.

Batal, H. E., Hasib, A., Ouattmane, A., Dehbi, F., Jaouad, A., Boulli, A. (2016). Sugar composition and yield of syrup production from the pulp of Moroccan carob pods (*Ceratonia siliqua* L.). *Arabian Journal of Chemistry*, 9, 955–959.

Battle, I., Tous, J. (1997). Carob tree *Ceratonia siliqua* L. promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Benchikh, Y., Louaileche, H., George, B., Merlin, A. (2014). Changes in bioactive phytochemical content and in vitro antioxidant activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) as influenced by fruit ripening. *Industrial Crops and Products*, 60, 298–303.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT*, 28, 25-30.

Bulut, E., Alın, A. (2009). Kısmi en küçük kareler regresyon yöntemi algoritmalarından Nipals ve PLS – Kernel algoritmalarının karşılaştırılması ve bir uygulama. *Dokuz Eylül Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 24(2), 127–138.

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.

Büyüksırt, T., Kuleaşan, H. (2014). Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve gıda analizlerinde kullanımı. *Gıda*, 39(4), 235–241.

Christou, C., Agapiou, A., Kokkinofa, R. (2018). Use of FTIR spectroscopy and chemometrics for the classification of carobs origin. *Journal of Advanced Research*, 10, 1–8.

Çağlar, M. Y., Demirci, M., Şahiner, A., Çakır, B., Çağlar, A. F. (2019). Gıda analizlerinde kullanılan spektroskopik teknikler. *Akademik Gıda*, 17(1), 121–130.

Çürek, M., Işık, M., Özen, N. (2000). Feeding value of carob (*Ceratonia siliqua* L.) beans. Book of Abstracts of the 62nd Annual Meeting of the European Federation of Animal Science, Stavanger, Norway (p 381).

Doğan, A., Siyakus, G., Severcan, F. (2007). FTIR spectroscopic characterization of irradiated hazelnut (*Corylus avellana* L.). Food Chemistry, 100, 1106–1114.

Hajaji, H. E., Lachkar, N., Alaoui, K., Cherrah, Y., Farah, A., Ennabili, A., Bali, B. E., Lachkar M. (2010). Antioxidant properties and total phenolic content of three varieties of carob tree leaves from Morocco. Records of Natural Products, 4(4), 193–204.

Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freirea, 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.

Gübbük, H., Güneş, E., Güven, D., Adak, N. (2012). Keçiboynuzu tohumlarının kontrollü koşullarda çimlendirilmesi üzerinde araştırmalar. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 29(2), 1–10.

Gübbük, H., Tozlu, İ., Doğan, A., Balkıç, R. (2016). Çevre, endüstriyel kullanım ve insan sağlığı yönleriyle keçiboynuzu. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(2), 207–215.

Günel, N. (1999). Keçiboynuzunun (*Ceratonia Siliqua* L.) Türkiye’deki coğrafi yayılışı ekolojik ve floristik özellikleri. Marmara Üniversitesi, Atatürk Eğitim Fakültesi, Coğrafya Eğitimi Anabilim Dalı.

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.

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.

Jaiswal, P., Jha, S. N., 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 (ATR–FTIR). *Food Chemistry*, 168, 41–47.

Kadiroğlu, P., Ekici, H. (2018). Yeşil ceviz kabuklarının biyoaktif özelliklerinin FT-IR spektroskopisi yöntemiyle tahmin edilmesi. *Akademik Gıda*, 16(1), 20–26.

Kadiroğlu, P., Aydemir, L. Y., Akçakaya, F. G. (2018). Prediction of functional properties of registered chickpea samples using FTIR spectroscopy and chemometrics. *Food Science and Technology*, 93, 463–469.

Karkacier M., Artık M. (1995). Keçiboynuzunun (*Ceratonia siliqua* L.) fiziksel özellikleri, kimyasal bileşimi ve ekstraksiyon koşulları. *Gıda*, 1995.

Kelebek, H., Jourdes, M., Selli, S., Teissedre, P. L. (2013). Comparative evaluation of the phenolic content and antioxidant capacity of sun-dried raisins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 2963–2972.

Khelifa, M., A. Bahloul, A., S. Kitane, S. (2013). Determination of chemical composition of carob pod (*Ceratonia Siliqua* L) and its morphological study. *Journal and Materials and Environmental Sciences*, 4(3), 348–343.

Kılıç, G. B., Arahana, A. G. (2010). Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi ve laktik asit bakterilerinin tanısında kullanılması. *Gıda*, 35(6), 445–452.

Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M., Nakayama, T. (2002). Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *Journal of Food Agricultural and Food Chemistry*, 50, 373–377.

Makris, D. P., Kefalas, P. (2004). Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Technology and Biotechnology*, 42(2), 105–108.

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(2), 449–455.

Mohamed, G. F., Shaheen, M. S., Khalil, S. K. H., Hussein, A. M. S., Kamil, M. M. (2011). Application of FT-IR spectroscopy for rapid and simultaneous quality determination of some fruit products. *Nature and Science*, 9(11), 21–31.

Mohsen, S. M., Ammar, A.S.M., (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, 112, 595–598.

Nasar-Abbas, S. M., Huma, Z., Vu, T. H., Khan, M. K., Esbenshade, H., Jayasena, V. (2016). Carob kibble: A bioactive-rich food ingredient. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 63–72.

Nithiyanantham, S., Selvakumar, S., Siddhuraju, P. (2012). Total phenolic content and antioxidant activity of two different solvent extracts from raw and processed legumes, *Cicer arietinum* L. and *Pisum sativum* L. *Food Chemistry*, 27, 52–60.

Oussama, A., Elabadi, F., Platikanov, S., Kzaiber, F., Tauler, R. (2012). Detection of olive oil adulteration using FT-IR spectroscopy and PLS with Variable Importance of Projection (VIP) scores. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 89, 1807–1812.

Öztürk, I., Çalışkan, O., Törnük, F., Özcan N., Yalçın H., Baslar M., Sağdıç O. (2015). Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *Food Science and Technology*, 63, 144–151.

Park, Y.-S., Cvikrová, M., Martincová, O., Ham, K. S. Kang, S. G. Park, Y. K. Namiesnik, J., Rombolà, A. D., Jastrzebski, Z., Gorinstein, S. (2015). In vitro antioxidative and binding properties of phenolics in traditional, citrus and exotic fruits. *Food Research International*, 74, 37–47.

Papagiannopoulos, M., Wollseifen, H. R., Mellenthin, A., Haber, B., Galensa, R. (2004). Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (*Ceratonia siliqua* L.) and derived products by HPLC-UV-ESI/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3784–3791.

Pazır, F., Alper, Y. (2009). Keçiboynuzu meyvesi (*Ceratonia siliqua* L.) ve sağlık. *Akademik Gıda*, 14(3), 302–306.

Pekmezci, M., Gübbük, H., Eti, S., Erkan, M., Onus, N., Karaşahin, I., Biner, B., Adak, N. (2008). Batı Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde yabani ve kültür formunda yetişen keçiboynuzu tiplerinin seleksiyonu. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(2), 145–153.

Polshin, E., Aernouts, B., Saeys, W., Delvaux F. R., Saison, D., Hertog, M., Nicolaï, B. M., Lammertyn, J. (2011). Beer quality screening by FT-IR spectrometry: Impact of measurement strategies, data pre-processings and variable selection algorithms. *Journal of Food Engineering*, 106, 188–198.

Rohman, A., Che Man, Y.B. (2010). Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. *Food Research International*, 43, 886–892.

Quiles-Carrillo, L., Mellinas, C., Garrigos, M. C., Balart, R., Torres-Giner, S. (2019). Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic compounds with antioxidant activity from carob pods. *Food Analytical Methods*, 12(11), 2480–2490.

Rusak, G., Komes, D., Likić, S., Horžić, D., Kovač, M. (2008). Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry*, 110, 852–858.

Schindler, R., Vonach, R., Lendl, B., Kellner, R. (1998). A rapid automated method for wine analysis based upon sequential injection (SI)-FTIR spectrometry. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 362, 130–136.

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.

Şenay, F. (2009). Keçiboynuzundan sıvı şeker üretimi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

Şenol, E., Uğur, H., Kaynar, K., Güven, Ş. H., Durak, M. Z. (2019). Farklı yörelerden toplanan geleneksel fermente ürünlerin (Turşu suyu, tarhana ve ekşi hamur laktik asit bakterisi içeriğinin Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre (FTIR) ile belirlenmesi. *İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(3), 9–13.

Taşlıgil, N. (2011). Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.)’nun coğrafi yayılışı ve ekonomik özellikleri. *ODÜ Sosyal Bilimler Enstitüsü Sosyal Bilimler Aratırmaları Dergisi*, 2(3), 252–266.

Turhan, İ., Tetik, N., Karhan, M. (2007). Keçiboynuzu pekmezinin bileşimi ve üretim aşamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, 39–44.

van de Vort, F. R. (1992). Fourier transform infrared spectroscopy applied to food analysis. *Food Research International*, 25, 397–403.

Vardin, H., Tay, A., Ozn, B., Mauer, L. (2008). Authentication of pomegranate juice concentrate using FTIR spectroscopy and chemometrics. *Food Chemistry*, 108, 742–48.

Vekiari, S., A., Ouzounidou, G., Öztürk, M., Görk, G. (2011). Variation of quality characteristics in Greek and Turkish carob pods during fruit development. *Procedia Social and Behavioral Sciences*, 19, 750–755.

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.

Yaman, N., Velioğlu, S. D. (2019). Use of Attenuated Total Reflectance–Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy in combination with multivariate methods for the rapid determination of the adulteration of grape, carob and mulberry pekmez. *Foods*, 8, 231.

Yiğit, D., Yiğit, N., Aktaş, E., Özgen, U. (2009). Ceviz (*Juglans regia* L.)’in antimikrobiyal aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 39(1-2), 7–11.

Yücesoy, D., Özen, B. (2013). Authentication of a Turkish traditional aniseed flavoured distilled spirit, raki. *Food Chemistry*, 141, 1461–1465.

Zhou, K., Yu, L. (2004). Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 37, 717–721.

Zhu, K. X., Lian, C. X., Guo, X.G., Peng, W., Zhou, H. M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, 126, 1122–1126.

Zoral, F. B., Turgay, Ö. (2014). Çeşitli gıda atıklarının toplam fenolik madde içeriğinin, antioksidan ve antimikrobiyel aktivitelerinin araştırılması. *KSÜ Doğal Bilimleri Dergisi*, 17(2), 24–33.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında İstanbul Üsküdar’da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Kocaeli’de tamamladım. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde 2002 yılında başladığım lisans öğrenimimi 2006 yılında tamamladım. Aynı yıl Gebze’de üretim sorumlusu olarak çalışmaya başladığım yemek firmasında 2 yıl süreyle görev yaptım. 2008-2012 yılları arasında ise İstanbul ve Antalya’da iki farklı bakliyat firmasında üretim müdürü olarak çalıştım. 2016 yılında Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimime başlamış olup halen devam etmekteyim. Aynı zamanda, 2017’den beri şekerleme, helva, reçel, tahin üretimi yapmakta olan bir firmada üretim sorumlusu olarak çalışmaktayım.