

ORIGINAL ARTICLE/ORİJİNAL ÇALIŞMA

FULL PAPER

TAM MAKALE

MISIR YAĞINDA YAĞ ASİTLERİNİN UV-VIS SPEKTROSKOPİSİ VE KEMOMETRİK YÖNTEMLER YARDIMIYLA TESPİT EDİLMESİ

Fatih Kahrıman ORCID ID: [0000-0001-6944-0512](https://orcid.org/0000-0001-6944-0512)

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Çanakkale, Türkiye

Received: 26.12.2016

Accepted: 21.03.2017

Published online: 25.03.2017

Corresponding author:

Fatih KAHRIMAN, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Çanakkale, Türkiye

E-mail: fkahriman@hotmail.com

Öz:

Bu çalışmada ham mısır yağında bazı yağ asitlerinin UV-Vis spektroskopisi yöntemiyle tespitinde kemometrik tekniklerin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Araştırmada 50 farklı mısır genotipine ait yağ numunesinde oleik asit, linoleik asit, toplam tekli doymamış yağ asitleri ile toplam çoklu doymamış yağ asitleri belirlenmiştir. Aynı yağ örneklerinin absorbans değerleri (190-320 nm arası) UV-Vis spektrofotometre kullanılarak kayıt edilmiştir. Ham spektrumlar (200-300 nm arası) ve düzleştirme yapılmış spektral veri kullanılarak kısmi en küçük kareler regresyonu (PLS), ve çoklu doğrusal regresyon (MLR) metotlarına göre tahmin modelleri oluşturulmuştur. Bu modellerde PLS ile tam spektrum (200-300 nm arası), Ardışık Projeksiyon Algoritması-Çoklu Doğrusal Regresyon (SPA-MLR) ile seçilmiş dalga boyları ve Rekabetçi Uyarlamalı Yeniden Ağırlıklandırılmış Örnekleme-Kısmi En Küçük Kareler (CARS-PLS) ile seçilmiş dalga boyu aralıkları kullanılmıştır. Modelleme çalışmaları Matlab 7.0 programında libPLS ve SPA paketleri yardımıyla gerçekleştirilmiş ve her bir özellik için altışar ayrı model geliştirilmiştir. Araştırma sonuçları; oluşturulan modellerde dalga boyu seçimi ve spektral verinin düzleştirilmesi ile tahmin gücünün önemli şekilde arttığını göstermiştir. Sonuç olarak UV-Vis spektroskopisi kullanarak mısır yağında yağ asitleri içeriğinin etkili dalga boyu seçim yöntemleri kullanılarak güvenilir şekilde tespit edilebileceği anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Absorbans, Dalgaboyu, Spektral önışlem, Regresyon

Abstract:

DETERMINATION OF FATTY ACIDS IN MAIZE OIL USING UV-VIS SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRIC TECHNIQUES

In this study, it was aimed to investigate the effect of chemometric techniques on the detection of some fatty acids in crude maize oil by UV-Vis spectroscopy. In the study, oleic acid, linoleic acid, total polyunsaturated fatty acids and total polyunsaturated fatty acids were determined on the oil samples of 50 different maize genotypes. The absorbance values (190-320 nm) of the same oil samples were recorded using a UV-Vis spectrophotometer. Prediction models were constructed according to Partial Least Squares Regression (PLS), and Multiple Linear Regression (MLR) methods using raw and smoothed spectral data. In these models, full spectrum (between 200-300 nm), selected wavelengths with SPA-MLR and selected wavelengths with CARS-PLS were used. Modeling studies were performed using libPLS and SPA packages in Matlab 7.0 and six separate models were developed for each dependent variable. Results showed that the estimation power increases significantly with the selection of the effective wavelengths and smoothing the spectral data in the generated models. As a result, it has been understood that the content of fatty acids in maize oil can be reliably detected by using UV-Vis spectroscopy using effective wavelength selection methods.

Keywords: Absorbance, Wavelength, Spectral pretreatment, Regression

Giriş

Mısır yağlık bir bitki olmamasına karşın, gerek Dünya’da gerekse ülkemizde ham yağ üretimi ve tüketim değerleri bakımından önemli bir bitkidir. Temel olarak katbonhidrat kaynağı olan bu bitki, insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Pajic, 2007). Mısır yağı yüksek oranda doymamış yağ asitleri ve düşük oranda doymuş yağ asiti bulundurmaktadır (Zai ve Gao, 2001). Bu yönleriyle beslenme açısından istenilen özelliklere sahip bitkisel yağlar içerisinde yer almaktadır. Diğer taraftan yüksek E vitamini içeriği sağlık açısından da arzu edilen özelliklerinden birisidir. Mısır yağının Türkiye’de yağ açığını kapatmada önemli bir potansiyeli vardır (Öz ve Kapar, 2007). Mısır yağı aynı zamanda Türkiye’de tüketim sıralamasında ilk üç yağdan birisidir (Yayar ve Bal, 2007).

Mısır yağının kalitesi yağın büyük kısmını oluşturan yağ asitleri kompozisyonu ile ilişkilidir. Gerek ıslah çalışmalarında gerekse rutin ürün kontrol analizlerinde bu yağ asitlerinin tespitine gerek duyulmaktadır. Bu analizler standart olarak gaz kromatografisi (GC) sisteminde analiz edilmektedir. Ancak bu cihazda analiz maliyetleri oldukça yüksektir. Bu nedenle hem yağ hem de diğer endüstriyel ürünlerin bileşimini pratik şekilde tespitine imkan veren yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Spektroskopik teknikler bu amaçla kullanılacak alternatif yöntemler içerisinde yer almaktadır. UV-Vis spektroskopisi hemen her laboratuvarındaki temel cihazlar içerisinde yer almaktadır. Bu cihaz kullanılarak farklı ürünlerde yağ asitleri, pigment içerikleri gibi kantitatif özelliklerin yanı sıra, örneklerin kalitatif ayrımını amaçlayan çeşitli araştırmalar yürütülmüştür. Zavadski vd. (2007) biyodizel örneklerinde karışım oranlarını UV-Vis spektroskopisi kullanarak belirlemiştir. Upstone (2010) UV-Vis spektroskopisi kullanarak 220-500 nm arasında alınan ölçümlerle ağırtabilme endeksi bozulması (DOBI) yanı sıra karoten içeriğinin ve diğer katkı maddelerinin de analiz edilebileceğini bildirmiştir. UV-Vis spektroskopisi zeytinyağında oksidasyon durumunun testi için K232 ve K270 dalga boylarındaki absorpsiyon değerlerinden yararlanılmaktadır. Kongbonga vd. (2011) farklı bitkisel yağların elde edilmiş biçimlerine göre (refine, soğuk ekstraksiyon, sıcak ekstraksiyon) sınıflandırma amacıyla floresans spektroskopisinden yararlanmıştır. Dumancas vd. (2011) Zeytinyağı ve ayçiçek yağında oleik, linoleik ve linolenik asitlerin asetil klorid/perklorik asit uygulamasının ardından

kemometrik yöntemler yardımıyla başarılı şekilde tespit edilebileceğini bildirmiştir.

Spektroskopik veriler kullanılarak yapılan araştırmalarda veri analizinde farklı yöntem ve tekniklerden yararlanılmaktadır. Önceleri spesifik bir dalga boyundaki değişimden yola çıkarak tahmin modeli oluşturmaya yönelik olan basit küre yöntemlerine alternatif olarak spektral verilerin analizinde çok değişkenli tahmin modellerinden yararlanılmaya başlanmıştır. Bu modellerden en yaygın olarak kullanılan teknikler çoklu doğrusal regresyon (MLR) ve en küçük kısmi kareler regresyonu (PLSR) teknikleridir (Fülöp ve Hancsok 2009, Egesel ve Kahrıman, 2012). MLR ile PLSR temel olarak benzer regresyon analiz teknikleridir. Ancak en önemli farkları PLSR’de tüm değişkenlerin modele tahminleyici olarak dâhil edilmesinin mümkün olması, MLR’de ise örnek sayısından daha az sayıda tahminleyici değişkenin modele dâhil edilebilmesidir. Bu teknikler uygulanmadan önce spektral veride bulunan gürültü ve baseline kaymaları gibi istenmeyen etkilerin ortadan kaldırılmasını içeren ön-işlemler (spectral pretreatment) uygulanmakta sonrasında bağımlı değişkeni en iyi şekilde tahminlemeye imkân veren dalga boyları seçilmektedir. Ön işlemlerden yaygın olarak kullanılan teknikler, düzleştirme (smoothing), offset düzeltme (offset correction), detrend (detrending), çarpımsal dağılım düzeltmesi (multiplicative scatter correction), standart normal değişim (standard normal variate), türev düzeltme (derivative correction), dalgaboyu dönüşümü (wavelet transformation), ortogonal sinyal düzeltmesi (orthogonal signal correction), net analit yeniden işleme (net analyte reprocessing) yöntemleridir (Wang vd., 2015). Söz konusu bu işlemlerin modele ait tahmin gücüne önemli bir etkisi vardır. Ön işlemlerin yanı sıra spektral tekniklerin kullanıldığı model geliştirme çalışmalarında kullanılmak üzere dalgaboyu seçimi için yeni yaklaşımlar geliştirilmiştir. Ardışık Projeksiyon Algoritması (Successive Projections Algorithm:SPA), Regresyon Katsayıları (RC), Yükleme Değerleri (Loading Weights:LA), Genetik Algoritmalar (Genetic Algorithms:GA), CARS, İlgisiz Değişken Eliminasyonu (Uninformative Variable Elimination:UVE) yaklaşımlarıdır (Wang vd., 2015). Bu yaklaşımlardan popüler olan iki teknik, Ardışık Projeksiyon Algoritması (SPA) ve Rekabetçi Uyarlamalı Yeniden Ağırlıklandırılmış Örneklem (CARS) yöntemleridir. Bu tekniklerin uygulamada yaptıkları iş aynı olsa da uygulamada

farklı seçim sonuçları verebilmektedir. Yapılan literatür taramasında farklı ön işlem ve kemometrik teknikleri karşılaştıran çeşitli araştırmalara rastlanmış (Araujo vd. 2001; Fernandes vd., 2011; Kong vd., 2012; Wójcicki vd., 2015), ancak mısırdaki yağ asitlerinin tespitinde UV-Vis spektroskopisinden elde edilen verilerle oluşturulan modellerde bu tekniklerin etkinliği hakkında bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu noktadan hareketle hem UV-Vis spektroskopisinde alınan ölçümlere dayalı çok değişkenli modellerde kullanılan spektral verinin ve kemometrik uygulamaların etkisinin ortaya konulmasının yararlı olacağı düşünülmüştür.

Bu çalışmanın amacı mısır yağında oleik asit, linoleik asit, toplam tekli doymamış yağ asitleri (Σ MUFA) ve toplam çoklu doymamış yağ asitlerinin (Σ PUFA) UV-Vis spektroskopisi ile tespitinin mümkün olup olmadığını araştırmak ve farklı kemometrik uygulamaların tahmin gücüne olan etkisini ortaya koymaktır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada materyal olarak 50 farklı mısır genotipine ait yağ örnekleri kullanılmıştır. Söz konusu genotipler Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış materyallerin yanı sıra Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri bölümündeyürütülen ıslah çalışmalarında oluşturulan deneysel hibritler ve ebeveynleri içermektedir.

Çalışmada kullanılan örnekler ilk olarak laboratuvar tipi değirmende (Fritsch pulverisette, Germany) 0.5 mm elek çapında öğütülmüştür. Öğütülen örnekler soğuk ekstraksiyona tabi tutularak ham yağları çıkarılmıştır. Bu amaçla yaklaşık her bir genotipten 50 gr öğütülmüş örnek erlene konularak 100 ml dietil eter eklenmiştir. Bir gece boyunca +4 °C'de tutulan örnekler whatman filtre kağıdından süzülerek eter+yağ karışımları elde edilmiştir. Her örneğin ham yağları döner evaporatörde 40 °C vakum altında çözücünden ayrılmıştır. Ham yağlar cam vialler içerisine alınarak çalışmanın diğer aşamalarında kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Ham yağ örneklerinden spektrum almak amacıyla ham yağ örneklerinden 16 µl örnek teflon kapaklı cam tüpe alınmış ve üzerine 10 ml n-heksan eklenmiştir. Birkaç saniye vorteksledikten sonra bu örnekten 3 ml kuvartz küvete konularak tek ışın yollu UV-Vis spektrofotometrede (PG Instruments, England) 190-1100 nm arası her bir nm'de

absorbans değeri kaydedilmiştir. Spektrum alınırken her örnekten önce saf n-heksan bulunduran kuvartz küvet ile baseline sıfırlaması yapılmıştır. Her örnekte absorbans ölçümü iki kez tekrara edilerek kayıt altına alınmıştır. Absorbans dosyalarının izlenmesi ve kaydı için UV-Vis spektroskopi cihazına bağlı bilgisayara kurulan UVWin 5.0 programından (PG Instruments, İngiltere) yararlanılmıştır. Bu program kullanılarak her bir örneğe ait spektrumda düzleştirme (smoothing) yapılmıştır. Ham absorbans dosyaları ve düzeltilmiş absorbans dosyaları ayrı gruplar halinde birleştirilerek Microsoft Office Excel 2010 programına aktarılmıştır. Birleştirilen veriler model geliştirme amacıyla kullanılmıştır. Model geliştirme çalışmalarında spektral veride yüksek salınım bulunan 190-200 nm arası ile 300 nm'den sonra pik bulunmaması sebebiyle yalnızca 200-300 nm arası veri kullanılmıştır.

Ham yağ örneklerinden yağ asiti metil esterlerin (FAME) oluşturulması amacıyla yaklaşık 75 mikrolitre yağ 10 ml n-hexan bulunan santrifüj tüpüne konulmuştur. Üzerine 0.5 ml 2 N KOH-Metanol çözeltisi eklendikten sonra hafifçe çalkalanmıştır. Örnekler bir saat süre ile oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Her örnekten 2 ml'lik üst faz kromatografi vialine alınarak analizlerde kullanılmıştır. Örneklerin bu değişkenler bakımından içerik tayinleri gaz kromatografisi-alev iyonizasyon dedektörü (GC-FID) (Shimadzu, Japonya) cihazında HP-88 (Agilent, USA) kolon kullanılarak tespit edilmiştir. Analizlerde enjektör bloğu sıcaklığı 250°C, dedektör sıcaklığı 280°C olarak ayarlanmıştır. Split modda (70:1) yapılan enjeksiyonda 1 mikrolitre örnek enjekte edilmiştir. Analiz programı; kolon başlangıç sıcaklığı 150°C, 10°C/dakika artışla 230°C ve bu sıcaklıkta 30 dk bekleme şeklinde uygulanmıştır. Analiz sonucunda örneklerden elde edilen kromatogramlardaki piklerin kalitatif ayrımı 37 bileşenlik FAMEMix (Supelco, America) standardının alıkonulma zamanlarına göre tespit edilmiştir. Örneklerin oleik ve linoleik asit içerikleri ilgili piklerin toplam pik alanına oranı şeklinde hesaplanırken, toplam MUFA ve toplam PUFA içeriği bu bileşenleri oluşturan yağ asiti metil esterlerine ait piklerin toplam pik alanı içerisindeki payı olarak hesaplanmıştır.

Model geliştirme ve doğrulama işlemleri Matlab 7.0 programında gerçekleştirilmiştir. Model geliştirme amacıyla her bir özellik için 6 ayrı veri işleme+model geliştirme kombinasyonu denenmiş-

tir. Daha önce Excel dosyası olarak hazırlanan absorbans verileri ham (Şekil 1a) ve düzleştirilmiş (Şekil 1b) olarak 200-300 nm arası tüm verinin kullanıldığı kısmi en küçük kareler regresyonu (PLS) kullanılarak temen modellerin yanı sıra, PLS yöntemi ile birleştirilmiş Rekabetçi Uyarlamalı Yeniden Ağırlıklandırılmış Örnekleme (PLS-CARS) ve çoklu doğrusal regresyon (MLR) ile birleştirilmiş Ardışık Projeksiyon Algoritması (SPA-MLR) yöntemlerinden yararlanılmıştır. Matlab programında model geliştirme ve doğrulama için CARS-PLS yöntemi lipPLS paketi (Li vd., 2014), SPA-MLR yöntemi ise (Galvão vd., 2007) tarafından MLR-SPA paketi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan yöntemlerle ilgili detaylı bilgiler paketlere atfedilen çalışmalarda mevcuttur. Örnek sayısı düşük olduğundan iç doğrulama ile geliştirilen modellerin güvenilirlikleri değerlendirilmiş ve kalibrasyon ve doğrulama setinden elde edilen R^2 , tahmine ait hata kareler ortalaması (RMSEP), r değerleri dikkate alınarak model güvenilirlikleri karşılaştırılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

İncelenen özellikler bakımından örnekler için tanımlayıcı istatistikler Tablo 1'de sunulmuştur. Araştırmaya materyal teşkil eden örneklerin oleik asit ortalamaları %30.87, linoleik asit ortalaması %52.66, toplam MUFA ortalaması %31.22 ve toplam PUFA ortalaması %54.27 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan örneklerin oleik asit %29.14 ile %32.60, linoleik asit içerikleri %49.38 ile %55.60, toplam MUFA %29.85 ile %32.60, toplam PUFA %51.50 ile %57.05 arasında değişim göstermiştir. Söz konusu değerler farklı mısır genotiplerinin yağ asidi içeriklerinin ele alındığı çalışmalarda belirtilen sınır değerler içerisinde (Dunlap vd., 1995; Egesel vd., 2011). Bununla birlikte örnekler için yağ asidi değişimlerinin nispeten düşük olduğu söylenebilir (Tablo 1).

Araştırmada veri ön işleme ve kemometrik yöntem kombinasyonlarına göre oluşturulan tahmin modellerine ilişkin RMSEP ve R^2 değerleri Tablo 2'de sunulmuştur. Çalışmada yağ asitleri için oluşturulan modeller içerisinde gerek tahmin gücü gerekse tahmin sapması bakımından en güvenilir modellerin düzleştirilmiş absorbans verileri kullanılarak SPA-MLR yöntemi ile geliştirilen modeller olduğu görülmektedir (Tablo 2). Öyle ki oleik asit için bu yöntemde referans ve tahmin değerleri arasındaki R^2 değer, 0.99 bulunmuş ve diğer kombinasyonlardan daha düşük sapma (RMSEP=0.235) gözlemlenmiştir. Benzer şekilde linolenik asit ($R^2=0.90$, RMSEP=1.613), toplam MUFA içeriği ($R^2=0.99$, RMSEP=0.444) ve toplam PUFA içeriğinde de ($R^2=0.96$, RMSEP=0.941) düzleştirilmiş absorbans verileri ile SPA-MLR yöntemi kullanılarak geliştirilen modellerin daha başarılı sonuçlar verdiği dikkat çekmektedir (Şekil 2a, Şekil 2b, Şekil 2c, Şekil 2d). Diğer ön işleme ve kemometrik yöntem kombinasyonlarından elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, 200-300 nm arasında tüm dalga boylarının modele dâhil edilmesi durumunda dahi SPA-MLR yöntemi ile seçilen dalga boyları ile kurulan modellere göre başarılı tahminleme yapılamayacağı görülmektedir. Diğer taraftan CARS metoduna dayalı olarak dalga boyu seçimi yapılması halinde özellikle ham absorbans verileri kullanılarak oluşturulacak modellerde tahmin güçlerinin dikkate değer şekilde düştüğü gözlemlenmiştir (Tablo 2). Bu bulgular dalga boyu seçim yöntemlerinde kullanılan algoritmaların farklı sonuçlar verdiğini ortaya koymaktadır. Elde ettiğimiz bulgular dalga boyu seçim yöntemlerinin etkinliği bakımından önceki araştırma bulgularına (Fernandes vd., 2011) benzerlik göstermektedir.

Tablo 1. İncelenen yağ asitleri (%) bakımından örnek setine ait tanımlayıcı istatistikler.

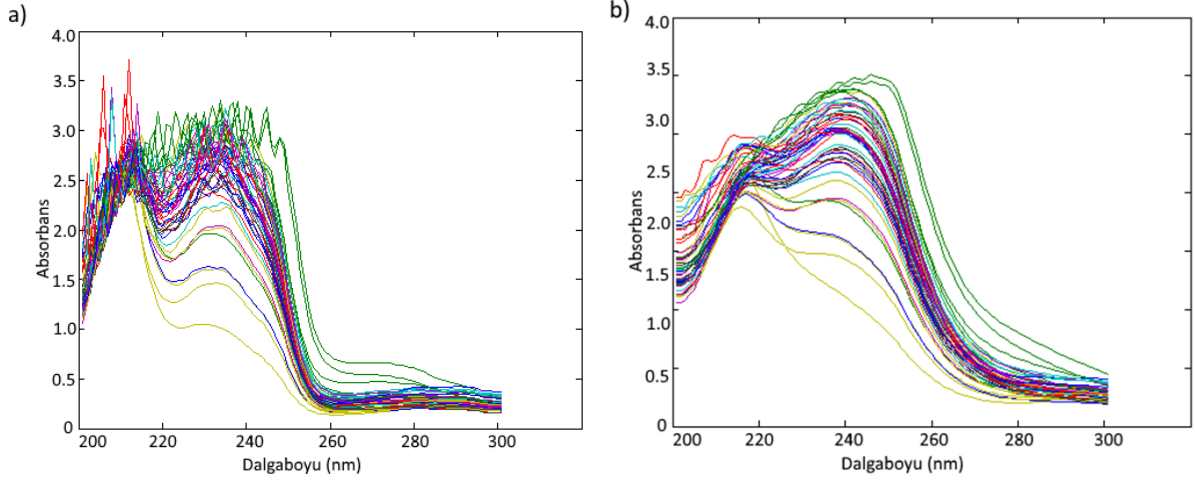
Table 1. Descriptive statistics of sample set for fatty acids (%) studied

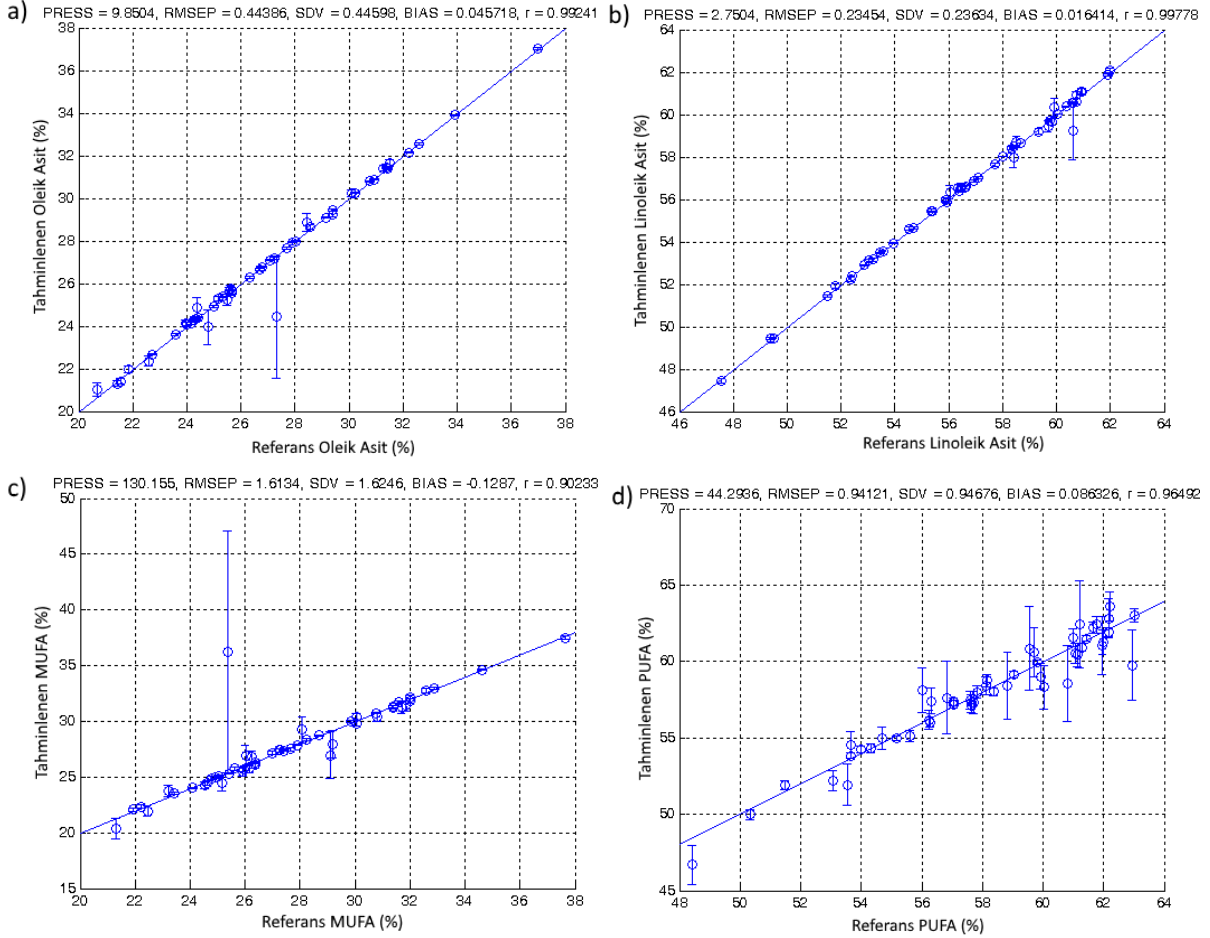
Yağ Asidi	Ortalama Yağ Asidi Miktarı	En Düşük Değer	En Yüksek Değer	Standart Sapma
Oleik Asit	30.87	29.14	32.60	3.59
Linoleik Asit	52.66	49.38	55.94	3.55
MUFA	31.22	29.85	32.60	3.55
PUFA	54.27	51.50	57.05	3.48

Tablo 2. İncelenen yağ asitleri için geliştirilen tahmin modellerine ait R² ve RMSEP değerleri**Table 2.** The R² and RMSEP values of prediction models developed for the fatty acids studied

Önişlem	Kemometrik Yöntem	Oleik Asit (%)		Linoleik Asit (%)	
		R ²	RMSEP	R ²	RMSEP
Ham Abs	PLS-Tüm	0.81	1.539	0.79	1.623
Düz. Abs	PLS-Tüm	0.76	1.749	0.72	1.874
Ham Abs	PLS-CARS	0.54	2.404	0.68	1.994
Düz. Abs	PLS-CARS	0.70	1.958	0.80	1.559
Ham Abs	SPA-MLR	0.96	1.233	0.55	2.946
Düz. Abs	SPA-MLR	0.99	0.235	0.90	1.613
Önişlem	Kemometrik Yöntem	Toplam MUFA (%)		Toplam PUFA (%)	
		R ²	RMSEP	R ²	RMSEP
Ham Abs	PLS-Tüm	0.81	1.511	0.80	1.554
Düz. Abs	PLS-Tüm	0.76	1.726	0.72	1.813
Ham Abs	PLS-CARS	0.46	2.593	0.55	2.301
Düz. Abs	PLS-CARS	0.80	1.558	0.77	1.645
Ham Abs	SPA-MLR	0.91	1.778	0.60	2.771
Düz. Abs	SPA-MLR	0.99	0.444	0.96	0.941

Düz.Abs: Düzleştirilmiş absorbanlar.

**Şekil 1.** UV-Vis spektroskopide 200-300 nm arasında alınan ham (a) ve düzleştirilmiş (b) absorbanlar**Figure 1.** The raw (a) and smoothed (b) absorbance values taken between 200-300 nm with a UV-Vis spectroscopy



Şekil 2. Oleik asit (a), linoleik asit (b), toplam MUFA (c) ve toplam PUFA (d) için düzleştirilmiş spektrumlar ve SPA-MLR yöntemi ile geliştirilen modellerin iç doğrulama sonuçları

Figure 2. The internal validation results of the models developed by the smoothed spectra and SPA-MLR method for oleic acid (a), linoleic acid (b), total MUFA (c) and total PUFA (d)

Çalışmada uygulanan ön işlem ve kemometrik metot kombinasyonlarına göre oluşturulan modellerde kullanılan dalga boyu sayıları Tablo 3'te sunulmuştur. Tüm dalga boylarının kullanıldığı modellerde toplam 101 dalga boyu bağımsız değişken olarak modellere dâhil edilmiştir. Hem CARS-PLS hem de SPA-MLR kombinasyonlarında seçilen dalga boyu sayısı düzleştirilmiş absorpsiyon verileri ile oluşturulan modellerin hemen hepsinde ham absorpsiyon verileri ile oluşturulan modellerden daha yüksektir (Tablo 3). Yalnızca toplam MUFA içeriği için SPA-MLR kombinasyonunda değişken sayısı ham ve düzleştirilmiş verilerle oluşturulan modelde eşit bulunmuştur. Bu bulgular düzleştirme uygulamasının modele dâhil edilen etkili dalga boyu sayısının artmasına neden olduğuna işaret etmektedir. Ham absorpsiyon verilerinde gürültü ve diğer nedenlerle etkisi maskelenen dalga boylarının düzleştirme sonrasında net şekilde tespit edilebildiği de söylenebilir. Diğer taraftan

SPA-MLR yönteminin düzleştirilmiş verilere uygulanması ile seçilen dalga boyu sayısının CARS-PLS kombinasyonundan yüksek olduğu dikkat çekmiştir. SPA-MLR yönteminde oleik asit, linoleik asit ve toplam MUFA içeriği için 48, toplam PUFA içeriği için 47 dalga boyu bağımsız değişken olarak modellere dâhil edilirken, CARS-PLS yönteminde aynı özellikler için sırasıyla 20, 25, 20 ve 14 dalga boyu modellere dâhil edilmiştir. Bu sonuçtan anlaşılacağı üzere etkili dalga boyu seçiminde kullanılan algoritmanın modele dâhil edilen değişken sayısına önemli bir etkisi vardır. Her ne kadar bu araştırma modellerdeki dalga boylarının incelenen yağ asitleri ile ilişkisine odaklanılmamış olsa da, düzleştirilmiş spektral veride 220 nm ile 240-260 nm arasındaki bölgelerde bazı piklerin varlığı dikkat çekmektedir (Şekil 1b). Dumancas vd. (2011) asetil klorid / perklorik asit karışımı ile muamele ettikleri yağ örneklerinden aldıkları spektrumlarda oleik asitin 368 ve 442 nm'deki

piklerle, linoleik asitin 376 ve 426 nm'deki piklerle karakterize edilebileceğini belirtmiştir. Çalışmamızda bu alanlardaki spektral veride pik elde edilememiştir. Temel nedeni ise söz konusu araştırmada kimyasal ön işlem uygulanması ve yağ asitlerinin bu nedenle yapısal değişimlere maruz kalması olabilir. Nitekim farklı ham yağ örneklerinden alınan sepktrumlarda absorpsiyon 245-385

nm arasında yoğun bir absorpsiyon olduğu ve bu durumun $-C=O$ ve $-C=C$ fonksiyonel gruplarıyla ilişkili olan $n \rightarrow \pi^*$ ve $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişleri nedeniyle bu piklerin oluştuğu bildirilmiştir (Meghea vd., 2006). Söz konusu ilişkilerin daha detaylı çalışmalarla araştırılmasında yarar vardır.

Tablo 3. İncelenen yağ asitleri ilgili oluşturulan modellerde tahminleyici değişken olarak kullanılan dalga boyu sayıları

Table 3. The number of wavelengths used as predictor variables in the related models of fatty acids studied

Önişlem	Model	Oleik Asit	Linoleik Asit	Toplam MUFA	Toplam PUFA
Ham Abs	PLS-Tüm	101	101	101	101
Düz. Abs	PLS-Tüm	101	101	101	101
Ham Abs	PLS-CARS	6	15	6	9
Düz. Abs	PLS-CARS	20	25	20	14
Ham Abs	SPA-MLR	47	2	48	2
Düz. Abs	SPA-MLR	48	48	48	47

Düz. Abs: Düzleştirilmiş absorpsiyon.

Sonuç

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, mısır yağında bir kısım yağ asitlerinin UV-Vis spektroskopisi ve uygun kemometrik yöntem kullanılarak tahmin edilebileceği anlaşılmıştır. Kemometrik yöntemlerden elde edilen sonuçlara göre, SPA ile etkin dalga boylarının seçimi ve basit doğrusal regresyon yöntemi ile modelleme yöntemlerinin birlikte kullanılması durumunda mısır yağında oleik asit, linoleik asit, toplam tekli doymamış yağ asitleri ve toplam çoklu doymamış yağ asitlerinin oransal miktarlarının başarılı şekilde tespit edilebildiği görülmüştür. Çalışmada tüm dalga boylarının (200-300 nm arası) modele dâhil edilmesinin oluşturulan modellerde tahmin başarısını olumsuz etkilediği görülmüştür. Bu durum etkisiz ya da incelenen özellikle ilişkili olmayan dalga boylarının model performansına olumsuz etki ettiğini göstermiştir.

Araştırmanın materyal ve ekipman yönünden bazı sınırlılıkları mevcuttur. Çalışma 50 farklı genotipe ait yağ örnekleri ile yürütüldüğü için oluşturulan modellerin dış doğrulaması yapılamamıştır. Diğer taraftan çalışmada tek ışın yollu bir spektrofotometre kullanılmıştır. İleriki çalışmalarda bu çalışmanın sınırlılıklarını ortadan kaldırabilecek müdahalelerin yapılması ile daha başarılı sonuçlar elde edilebilir. Bu konuda yapılacak çalışmalarda örnek sayısının artırılması ve dış doğrulama ile oluşturulan modellerin değerlendirilmesinin yanı sıra

çift ışık yollu cihazların kullanılması daha hassas sonuçlar elde edilmesine imkan verebilir. Ayrıca yağ örneklerine çeşitli önlemler (kimyasal uygulama gibi) yapılarak ışık ile örneğin etkileşimini artırmak yağ asiti metil esterlerinin tespitinde daha başarılı sonuçlar sunabilir.

Kaynaklar

- Araujo, M.C.U., Saldanha, T.C.B., Galvao, R.K.H., Yoneyama, T., Chame, H.C. & Visani, V. (2001). The successive projections algorithm for variable selection in spectroscopic multicomponent analysis. *Chemometrics & Intelligent Laboratory Systems*, 57, 65–73.
- Dumancas, G.G., Muriuki, M., Purdie, N. & Reilly, L. (2011). Simultaneous spectrophotometric and chemometric determination of oleic, linoleic, and linolenic fatty acids in vegetable oils, Proceedings of the World Congress on Engineering 2011 Vol III WCE 2011, July 6 - 8, 2011, London, U.K.
- Dunlap, F.G., White, P.J., Pollak, L.M. & Brummd, T.J. (1995). Fatty acid composition of oil from adapted, elite corn breeding materials. *AOCS*, 72, 981-987.
- Egesel, C.O., Kahrıman, F. & Gül, M.K. (2011). Discrimination of maize inbreds for kernel quality traits and fatty acid composition by

- a multivariate technique. *Acta Scientiarum Agronomy Maringá*, 33, 613-620.
- Egesel C.Ö. & Kahrıman F. (2012). Determination of quality parameters in maize by NIR reflectance spectroscopy. *Journal of Agricultural Sciences*, 18, 43-53.
- Fernandes, D.D.S., Gomes, A.A., da Costa, G.B., da Silva, G.W.B. & Véras, G. (2011). Determination of biodiesel content in biodiesel/diesel blends using NIR and visible spectroscopy with variable selection. *Talanta*, 87, 30-34.
- Fülöp, A. & Hancsok, J. (2009). Comparison of calibration models based on near infrared spectroscopy data for the determination of plant oil properties. *Chemical Engineering Transactions*, 17, 445-450.
- Galvão, R.K.H., Araújo, M.C.U., Silva, E.C., José, G.E., Soares, S.F.C. & Paiva, H.M. (2007). On the use of Cross-validation for the selection of spectral variables using the successive projections algorithm, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18, 1580-1584.
- Kong, W., Zhao, Y., Liu, F., He, Y., Tian, T. & Zhou, W. (2012). Fast analysis of superoxide dismutase (SOD) activity in barley using visible and near infrared spectroscopy, *Sensors*, 12, 10871-10880.
- Kongbonga, Y.G.M., Ghalila, Onana, M.B., Majdi, Y., Lakhdar, Z.B., Mezlini, H. & Sevestre-Ghalila, S. (2011). Characterization of vegetable oils by fluorescence spectroscopy, *Food and Nutrition Sciences*, 2, 692-699.
- Li H.-D., Xu Q.-S. & Liang Y.-Z. (2014). libPLS: An integrated library for partial least squares regression and discriminant analysis. Peer J PrePrints 2:e190v1, source codes available at www.libpls.net.
- Meghea, A., Borlescu, C., Badea, N. & Demetrescu, I., (2006). Skin protective materials for human operators working in industrial environment, World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2006 Volume 14 of the series IFMBE Proceedings pp 3322-3325.
- Öz, A. & Kapar, H. (2007). Mısırın yağ içeriği ve yağ sanayi açısından önemi. 1.Ulusal Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Biyodizel Sempozyumu, 28-31 Mayıs 2007, Samsun, 388-391.
- Pajic, Z. (2007). Breeding of maize types with specific traits at the Maize Research Institute, Zemun polje. *Genetika*, 39, 169-180.
- Upstone S., (2010). Measurement of quality of crude palm oils used in margarine production by UV/Visible Spectroscopy, Perkin Elmer.
- Wang, H., Peng, J., Xie, C., Bao, Y. & He, Y. (2015). Fruit quality evaluation using spectroscopy technology: A Review, *Sensors*, 15: 11889-11927.
- Wójcicki, K., Khmelinskii, I., Sikorski, M., Caponio, F. & Paradiso, V. M. (2015). Spectroscopic techniques and chemometrics in analysis of blends of extra virgin with refined and mild deodorized olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117, 92-102.
- Yayar, R. & Bal, H.S.G. 2007. Forecasting of corn oil price in Turkey. *Journal of Applied Science Research*, 3, 706-712.
- Zai, S.W. & Gao, J. (2001). Nutritional value and developing prospect of high-oil corn. *Cereal Feed Ind.* 6, 41- 42.
- Zawadzki, A., Shrestha, D.S. & He, B. (2007). Biodiesel blend level detection using ultraviolet absorption spectra. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 50, 1349-1353.