

## Mısırdaki Toplam Fenolik ve Antosiyanin İçeriğinin Belirlenmesi için Geliştirilmiş NIRS (Yakın Kızıl Ötesi Spektroskopisi) Kalibrasyon Modelleri Üzerine Kemometrik Yöntemlerin Etkisi

Mehmet Şerment<sup>1</sup>\*, Fatih Kahrıman<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye

<sup>2</sup>Tarla Bitkileri Bölümü, Ziraat Fakültesi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye

### Makale Tarihiçesi

Gönderim: 20.02.2021

Kabul: 03.06.2021

Yayın: 20.09.2021

### Araştırma Makalesi

**Öz** –Bu çalışmada öğütülmüş mısır örneklerinde toplam antosiyanin ve fenolik içeriklerinin yakın kızıl ötesi (NIR) spektroskopisi ile tespitine yönelik geliştirilmiş kalibrasyon modellerinde, spektral ön işlem ve dalga boyu seçim yöntemlerinin tahmin başarısına etkisi araştırılmıştır. Araştırma materyali olarak 200 farklı mısır örneği kullanılmıştır. Çalışmada ön işlem olarak; birinci türev (FD), ikinci türev (SD), standart normal değişim (SNV) ve bu yöntemlerin birlikte kullanıldığı 2 farklı kombinasyon karşılaştırılmıştır. Spektral veriler 2 farklı dalga boyu seçim yöntemi (VIP ve SR) ile ayrı ayrı işleme alınmıştır. Ön işlem ve dalga boyu seçim yöntemlerinin uygulanmasından sonra hedef değişkenlerin tahmini için iki farklı model oluşturma tekniğinden (PLS ve SVMR) faydalanılmıştır. Böylelikle, çalışmada toplam fenolik ve toplam antosiyanin içeriği için 36'ar model kıyaslanmıştır. Oluşturulan modeller dış doğrulama işlemine tabi tutularak model güvenilirlikleri test edilmiştir. Çalışma sonucunda mısır tanesinde antosiyanin ve fenolik bileşen içeriğinin tespitinde kullanılan kemometrik yöntem, model başarısını artırdığı görülmüştür. Çalışmada karşılaştırılan modellerden antosiyanin içeriği için FD-SNV-SR kombinasyonu ile oluşturulan modelin (RMSE<sub>Cal</sub>=0.02, R<sup>2</sup><sub>Cal</sub>=0.96, RPD<sub>Cal</sub>=5.36, RMSE<sub>Val</sub>=0.03, R<sup>2</sup><sub>Val</sub>=0.90, RPD<sub>Val</sub>=3.14) tahmin başarısı yüksek bulunmuştur. Fenolik bileşen içeriği için ise PLS modelleme tekniği daha başarılı (RMSE<sub>Cal</sub>=0.06, R<sup>2</sup><sub>Cal</sub>=0.66, RPD<sub>Cal</sub>=1.71, RMSE<sub>Val</sub>=0.07, R<sup>2</sup><sub>Val</sub>=0.46, RPD<sub>Val</sub>=1.38) bulunmuştur. Sonuç olarak, uygulanan kemometrik yöntemlerin NIR ile sekonder bileşen tespitine katkı sunduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler** – Dalga boyu seçimi, regresyon, sekonder metabolitler, Zea mays

## The Effect of Chemometric Methods on NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy) Calibration Models for Determination of Total Phenolic and Anthocyanin Contents in Maize

### Article History

Received: 20.02.2021

Accepted: 03.06.2021

Published: 20.09.2021

### Research Article

**Abstract** –In this study, the effect of spectral pretreatment and wavelength selection method combinations for determination of total anthocyanin and phenolic contents by near infrared (NIR) spectroscopy on prediction success was investigated. Two hundred maize samples were used as experimental material. As a pre-treatment in the study; First derivative (FD), second derivative (SD), standard normal variate (SNV) were compared with 2 different combinations using these methods together. Spectral data were processed separately with the combination of 2 different wavelength selection methods (VIP and SR). After applying pretreatment and wavelength selection methods, two different model generation techniques (PLS and SVMR) were used to estimate the target variables. Thus, 36 different models each were compared for total anthocyanin and phenolic contents in the study. The model reliability was tested by subjecting the created models to external validation. Results showed that the chemometric method used to determine the anthocyanin and phenolic component content in corn grain increased the model success. Estimation of the model (RMSE<sub>Cal</sub> = 0.02, R<sup>2</sup><sub>Cal</sub> = 0.96, RPD<sub>Cal</sub> = 5.36, RMSE<sub>Val</sub> = 0.03, R<sup>2</sup><sub>Val</sub> = 0.90, RPD<sub>Val</sub> = 3.14) for anthocyanin content its success was found to be high. For the phenolic content, PLS modeling technique was found to be more successful (RMSE<sub>Cal</sub> = 0.06, R<sup>2</sup><sub>Cal</sub> = 0.66, RPD<sub>Cal</sub> = 1.71, RMSE<sub>Val</sub> = 0.07, R<sup>2</sup><sub>Val</sub> = 0.46, RPD<sub>Val</sub> = 1.38). As a result, it has been determined that chemometric method applications contribute to secondary component detection with NIR.

**Keywords** – Regression, seconder metabolites, wavelength selection, Zea mays

<sup>1</sup> mehmet\_serment@hotmail.com

<sup>2</sup> fkahrıman@hotmail.com

\*Corresponding Author

## 1. Giriş

Sekonder metabolitler diğer bitki türlerinde olduğu gibi mısırdaki da ürün kalitesini etkileyen önemli bileşenlerdir. Bu bileşenler içerisinde antioksidan etkiye sahip olan fenolik bileşikler ve antosiyaninler hem beslenme hem de sağlık açısından önemlidir. Flavonoid bileşiklerinin en önemli grubunu oluşturan antosiyaninler mısır tanesine renk vermektedir. Renkli mısır genotipleri ise çok uzun yıllardan beridir tatlandırıcı ve renklendirici olarak yetiştirilmekte ve tüketilmektedir (Jing vd., 2005). Fenolik bileşikler ise biyokimyasal olaylarda oksidatif etkileri azaltan ve bitkinin hayatsal faaliyetlerinde rolleri olan biyokimyasallardır. Yulaf, buğday ve prinç ile kıyaslandığında en yüksek antioksidan etki ve fenolik bileşen içeriği mısırdadır (Adom ve Liu, 2002). Mısırın beslenmedeki payı dikkate alındığında bu bileşenlerin artırılması arzu edilmektedir. Bu amaçla son yıllarda antioksidan kapasitesi yüksek mısır genotiplerinin geliştirilmesi için önemli bir çaba harcanmaktadır (Ji vd., 2010). Bu yönde yapılan araştırmalarda ise kullanılan örneklerde antosiyanin ve fenolik bileşenlerin analiz edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Antosiyanin analizlerinde genel olarak özütleme işleminin ardından farklı ölçüm cihazları ve yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin başında yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, ince tabaka kâğıt kromatografisi ve son yıllarda güncel hale gelen nükleer manyetik rezonans spektroskopisi gelmektedir (Keleş, 2015). Fenolik bileşenler de antosiyaninlere benzer şekilde özütleme sonrasında kromatografik ya da UV-görünür spektroskopik yöntemler kullanılarak analiz edilebilmektedir. Ancak bu analiz yöntemleri uzun zaman harcayan, yüksek emek ve iş gücü gerektiren, kimyasal sarfının yüksek işlemlere ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle antosiyanin ve fenolik bileşenlerin kısa sürede ve kimyasal harcanmayan çevreci analiz yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu konuda yakın kızıl ötesi spektroskopisi (NIR) önemli alternatiflerden birisidir. Zira NIR spektroskopisi tahıl ürünlerinde farklı biyokimyasal bileşenlerin tespitinde başarılı sonuçlar vermiştir. Bu kapsamda mısır ununda farklı biyokimyasal bileşenlerin tespiti (Baye vd., 2006; Egesel ve Kahrıman, 2012; Egesel vd., 2016; Kahrıman vd., 2019; Kahrıman vd., 2020) için NIR spektroskopisinin kullanıldığı çeşitli araştırmalar yürütülmüştür. Bu çalışmaların yanı sıra mısırdaki antosiyanin içeriğinin belirlenmesi amacıyla tahmin modellerinin geliştirilmesini konu edinen örnek çalışmalar yapılmıştır (Mangalvedhe vd., 2015). Ayrıca geliştirilen NIR kalibrasyon modellerinin farklı mısır genotipleri karakterize etmek amacıyla bazı araştırmalar yapılmıştır (Redaelli vd., 2016). Özellikle mısır tanesinde diğer biyokimyasal bileşenler üzerine çok sayıda araştırma yürütülmüş olmasına karşın, toplam fenolik ve antosiyanin içeriğinin NIR ile tespitini konu edinen sınırlı sayıda araştırmaya rastlanmıştır (Mangalvedhe vd., 2015; Meng vd., 2015; Redaelli vd., 2016). Bu araştırmaların büyük kısmı modelleme tekniği olarak klasik yaklaşımların kullanılmış olduğu araştırmalardır. Bunların yanı sıra antosiyanin ve fenolik içeriğinin tespitini konu edinen mevcut araştırmalarda kemometrik yöntemlerin çeşitliliğinin ve model başarısına etkisini kapsamlı olarak ele alınmamıştır.

Kemometrik uygulamalar, spektral verilerdeki düzensizliklerin giderilmesi, hedef değişkenle ilişkili dalga boylarının seçilmesi, seçilen dalga boyuna sahip tahmin modellerinin geliştirilmesi ve doğrulanması gibi üç temel adımı içermektedir (Kahrıman ve Egesel, 2018). Spektral verideki istenmeyen değişimlerin ortadan kaldırılması için uygulanan birinci adımda kullanılan tekniklerden bazıları, birinci türev (FD), ikinci türev (SD), Çoklu Saçılma Düzeltmesi (MSC), Standart Normal Değişim (SNV) ve farklı değişken seçim yöntemleri gibi çeşitli geleneksel yöntemlerdir (Yi vd., 2016). FD ve SD gibi türev alma işlemleri üst üste binen spektral piklerin düzeltilmesi ile sinyal düzeltilmesi sağlayan yöntemlerdir (Agelet ve Hurgburg Jr., 2010). MSC ve SNV ise reflektans ölçümlerinde ışık saçılımından kaynaklı bozulmaları gidermek amacıyla yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir (Agelet ve Hurgburg Jr., 2010). Kemometrik uygulamalar içerisinde değişken seçimi amacıyla yaygın olarak kullanılan yöntemler ise; Ardışık Projeksiyonlar Algoritması (SPA), Rekabetçi Uyarlanabilir Yeniden Ağırlıklandırılmış Örnekleme (CARS), Rassal Orman (RF), Değişken Önemlilik Projeksiyonları (VIP), Seçicilik Oranı (SR) yöntemleridir (Lao vd., 2020). Bunlar, spektral veride yer alan değişkenlerin

kalibrasyona konu olan değişkenlerle ilgili olanları veya ilişkisiz olanları belirlemeye imkân vermektedir. Değişken seçim yöntemlerinin kullanılması spektral veride hedef değişken ile en fazla ilişkili olan dalga boylarının modelde kullanılmasına ve daha doğru tahmin sonuçları alınmasına imkân vermektedir. Klasik yöntemler olan kabul edilen modelleme tekniklerinin başlıcaları ise Çoklu Doğrusal Regresyon (MLR) Temel Bileşen Regresyonu (PCR) ve Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu (PLSR) yöntemleridir ancak bu yöntemler ışık ile madde arasında doğrusal olmayan ilişkileri yeterince açıklayamamaktadır (Pasquini, 2003). Klasik yöntemlere alternatif olarak geliştirilen ve doğrusal olmayan modelleme teknikleri ise daha çok makine öğrenmesine dayalı yaklaşımlara dayanmaktadır ve ön öğrenmeli ya da ön öğrenmesiz olarak sınıflandırılır. Öğrenme tabanlı olmayan modeller, spektral verilerin genel yapısını anlamak için kullanılırken, öğrenme bazlı modeller önceden bilinen veri yapılarına dayanmaktadır (Yi vd., 2016). Bu yöntemler içerisinde Yapay Sinir Ağları (ANN), Destek Vektör Makineleri (DVM) gibi yöntemler spektral model geliştirme amacıyla yaygın kullanılan tekniklerdendir (Agelet ve Hurgburg Jr., 2010). Spektral model geliştirme adımlarında kemometrik yöntemlerin çeşitli kombinasyonlarının kullanımı, tarımsal ürünlerde biyokimyasal bileşenlerin analizinde NIR cihazlarından yararlanma imkânını artırmaktadır. Bu nedenle NIR tahmin modellerinde hedef değişkene göre uygun kemometrik uygulamaların belirlenmesi önem arz etmektedir.

Bilimsel literatürdeki çalışmalar dikkate alındığında, antosiyanin ve fenolik bileşenler gibi sekonder metabolitlerin NIR ile tespitinde kemometrik yöntemlerin etkisinin yeteri düzeyde araştırılmadığı görülmüştür. Ülkemiz kaynaklı literatürde ise NIR ile toplam antosiyanin ve fenolik içeriğinin belirlenmesini konu edinen herhangi bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu araştırma öğütülmüş mısırlarda antosiyanin ve fenolik bileşenlerin NIR ile tespitinde farklı ön işlem (Ön işlemsiz, FD, SD, SNV, FD+SNV, SD+SNV), dalga boyu seçim yöntemleri (Tüm spektrum, VIP ve SR) ve modelleme tekniklerinin (PLS ve SVM) etkisini ortaya koymak amacıyla yürütülmüştür. Ayrıca bu çalışmada hedef değişkenler ile spektral veri toplanan bölgedeki dalga boylarının ilişkisi de incelenmiştir.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

Çalışmada toplam 200 farklı dane mısır örneği kullanılmıştır. Bu örneklerin tamamı Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nde 2019 yılında yürütülen mısır ıslah çalışmalarından elde edilmiştir. Kullanılan örnekler tane rengi bakımından farklı özelliklere (beyaz, sarı, turuncu, mor) sahip genotiplere ait olsa da büyük kısmı mısırdaki yaygın görülen tane rengi özelliklerini taşımaktadır. Mısır örnekleri, analize kadar laboratuvarında +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Analiz edilecek örnekler laboratuvar değirmeninde 0.5 mm'lik eleklerle öğütülmüştür.

### 2.2. Ölçümlenen Özellikler

**Toplam Antosiyanin İçeriği (mg/kg):** Örneklerin antosiyanin içerikleri Abdel-Aal ve Hucl (1999) tarafından önerilen yöntemle tespit edilmiştir. Bu amaçla 500 mg öğütülmüş numune 10 ml 1N metanolik HCl (%85:15) içerisinde 30 dk oda sıcaklığında çalkalanmıştır. Daha sonra örnekler 8000 g'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Her bir örneğin üst fazından 200 mikrolitre alınarak 96 kuyucuklu mikroyapıya konulmuş ve 535 nm ve 700 nm absorbans değerleri alınarak cyanidin 3-glucoside eşdeğeri cinsinden (mg/kg CGE) antosiyanin içerikleri belirlenmiştir.

**Toplam Fenolik Bileşen İçeriği (%):** Toplam fenolik bileşen analizlerinde Uluslararası Buğday ve Mısır Araştırmalar Merkezi (CIMMYT) tarafından geliştirilen metot kullanılmıştır (Galicia vd., 2009). Bu amaçla 20 mg öğütülmüş örnek üzerine 1.3 ml 1.2 M HCl-Metanol çözeltisi eklenerek 42°C'de 1100 rpm'de 30 dk çalkalanmıştır. Örnekler oda sıcaklığına geldikten sonra 14000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. 500 mikrolitre üst faz alınarak yeni bir ependorf tüpüne konulmuş ve evaporatörde kurutulmuştur. Kurutulmuş örnek

1.3 m metanol içerisinde çözülerek kolorimetrik reaksiyona tabi tutulmuştur. Bu amaçla, her bir örnekten 50 mikrolitre alınarak 96 gözenekli mikroplakaya konulmuştur. Örneklerin üzerine 40 mikrolitre %25'lik Folin-Ciocalteu solüsyonu eklenmiş, ardından 110 mikrolitre 400 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ilave edilmiştir. Mikroplaka 800 rpm'de 10 saniye çalkalandıktan sonra örnekler 42 °C'de 9 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur. Ardından örneklerin 765 nm'de absorbans değerleri alınarak gallik asit ile oluşturulan standart küre yardımıyla örneklerin fenolik bileşen içerikleri gallik asit eşdeğeri (%GAE) tespit edilmiştir.

### 2.3. Spektral Modellerin Geliştirilmesi ve Doğrulanması

Öğütülmüş örnekler masaüstü NIRS cihazının (Spectrastar 2400D, Unity Scientific, ABD) döner kap modu kullanılarak, 1200-2400 nm arasında her bir dalga boyuna ait spektral veri alınmıştır. Örneklerden spektral veri toplanırken toplam 48 farklı noktadan ölçüm yapılmış ve bu ölçümlerin ortalaması örnek spektrumu olarak kaydedilmiştir. Örnek spektrumları jdx formatında birleştirilerek kalibrasyon oluşturma çalışmalarında kullanılmak üzere metin (.txt) dosyalarına dönüştürülmüştür. Tahmin modelleri oluşturulmadan önce tüm veri seti kullanarak tip dışı örnekler uzaklaştırılmış ve kalan 200 adet örnek kalibrasyon (n=150) ve dış doğrulama seti (n=50) olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Bu ayırım işleminde Kennard-Stone algoritmasından yararlanılmıştır. Çalışmada 6 farklı ön işlem, 3 farklı seçim yöntemi ve 2 farklı modelleme tekniği kullanılmıştır (Tablo 1). Her ön işleme ait spektral veri her bir dalga boyu seçim yöntemi ile muamele edildikten sonra, her bir modelleme yöntemi ile ayrı ayrı analiz edilmiştir. Böylelikle incelenen her bir özellik için toplam 36 farklı model oluşturulmuş ve değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmada kullanılan ön işlemler spektral modelleme çalışmalarında yaygın kullanılan yöntemlerden seçilmiş olup, bu yöntemlerle ilgili bilgiler giriş bölümünde sunulmuştur.

Tablo 1

Çalışmada kullanılan kemometrik teknikler ve modelleme yöntemleri

Ön İşlem	Dalga Boyu Seçim Yöntemi	Modelleme Tekniği
1) Ön İşlemsiz	1) Tüm Spektral Veri	1) Kısmi En Küçük Kareler Reg. (PLS)
2) Birinci Türev (FD)	2) Değişken Önemlilik Projeksiyon.	2) Destek Vektör Makin. (SVM)
3) İkinci Türev (SD)	3) Seçicilik Oranı (SR)	
4) Standart Normal Değişim (SNV)		
5) FD+SNV		
6) SD+SNV		

Ön işlemler ve modelleme çalışmalarında R programında (R Core Team, 2019) geliştirilen SelectWave web uygulaması (Kahrman ve Liland, 2021) kullanılmıştır. SelectWave uygulaması (<https://bafr.shinyapps.io/SelectWave/>) internet üzerinden farklı kemometrik uygulamalar ile tahmin modeli geliştirmeye imkân veren bir uygulamadır. Bu uygulamaya yüklenen spektral veri ve referans analiz sonuçlarından elde edilen modeller için kalibrasyon setine (n=150) ait RMSE<sub>Cal</sub>, R<sup>2</sup><sub>Cal</sub> ve RPD<sub>Cal</sub> değerleri ile kalibrasyon seti dışında (n=50) örneklerle yapılan dış doğrulama setinde RMSE<sub>Val</sub>, R<sup>2</sup><sub>Val</sub> ve RPD<sub>Val</sub> istatistikleri hesaplanmıştır. Oluşturulan modeller bu istatistiklere göre değerlendirilmiş olup, RMSE değeri düşük, R<sup>2</sup> ve RPD değerleri yüksek modeller başarılı tahmin veren modeller olarak kabul edilmiştir. RPD değerleri Sans vd. (2020) tarafından önerilen skalaya göre yapılmıştır. Bu skalada modeller iyi (RPD > 2), orta (1.4 < RPD < 2), zayıf (RPD < 1.4) olmak üzere üç sınıfa ayrılmıştır. Değerlendirme yapılırken önce kalibrasyon setine ve dış doğrulama setine ait istatistiklerin her ikisi için de yukarıdaki şartı sağlayan modeller başarılı kabul edilmiştir.

### 3. Bulgular ve Tartışma

#### 3.1. Antosiyanin ve Fenolik İçeriği Bakımından Örnek Setindeki Değişim

Bu çalışmada kalibrasyon ve dış doğrulama setinde bulunan istatistikler Tablo 2’de gösterilmiştir. Antosiyanin içeriği bakımından kalibrasyon setinde bulunan aralık (%0.02 CGE ve %0.47 CGE) değerlerine göre dış doğrulama setindeki örneklerin antosiyanin içeriği setine ait sınırlar içerisindedir. Antosiyaninler mısır tanesinde renk oluşumuna neden olan bileşenlerdir ve genellikle mor-kırmızı renk oluştururlar (Lago vd., 2014). Çalışmamızda kullanılan öğütülmüş mısır örneklerinin beyaz, sarı, turuncu, mor ve kırmızı tane renkli mısırlar bulunmaktadır. Bu durum antosiyanin içeriğine yönelik analiz sonuçlarını ve tanımlayıcı istatistikleri doğrudan etkilemiştir.

Fenolik bileşenler mısır ununda antioksidan etkiye sahip olan biyokimyasallardır. Kalibrasyon seti ve dış doğrulama setinde fenolik asit içeriğinin çok yakın ortalama sahip olduğu buna karşın dış doğrulama setindeki değişimin kalibrasyon setinden daha yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 2). Lopez-Martinez vd. (2009) mısır ununda ortalama fenolik asit içeriğini 343 mg GAE/100 g (%0.343) olarak rapor etmiştir. Çalışmamızda elde edilen ortalamanın bu değerin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bu durum çalışmamızda kullanılan genotip sayısının fazla olmasına ve kullanılan materyalde genetik çeşitlilik bakımından yüksek bir varyasyon bulundurmasına bağlanabilir. Nitekim az sayıda ve genetik çeşitlilik bakımından sınırlı değişim gösteren materyallerle yürütülen bir çalışmada toplam fenol içeriği 112.05- 244.90 µg GAE/g (%0.11-%0.25 GAE) arasında bulunmuştur (Sabancı, 2016).

Tablo 2

Antosiyanin ve fenolik bileşenler için örnek setlerinde tanımlayıcı istatistikler.

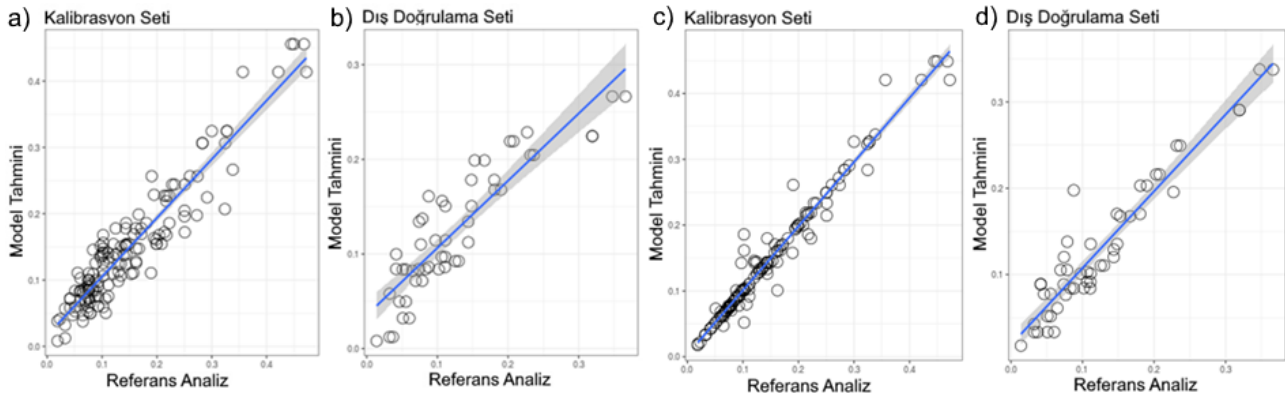
Örnek Seti	Antosiyanin (mg CGE/kg)		Fenolik Bileşen (% GAE)	
	Kalibrasyon	Dış Doğrulama	Kalibrasyon	Dış Doğrulama
N	150	50	150	50
Ortalama	0.14	0.12	0.67	0.67
S. Sapma	0.09	0.08	0.09	0.09
Minimum	0.02	0.01	0.41	0.52
Maksimum	0.47	0.37	0.96	0.91

#### 3.2. Kalibrasyon Modellerinin Değerlendirilmesi

Antosiyanin içeriğine yönelik oluşturulan PLS tahmin modelleri için bulunan değerler Tablo 3’de, SVM model değerlendirme sonuçları ise Tablo 4’de gösterilmiştir. PLS yönteminde, FD+SNV önışlemi ve VIP dalga boyu kombinasyonundan (RMSE<sub>Cal</sub>=0.03, R<sup>2</sup><sub>Cal</sub>=0.87, RPD<sub>Cal</sub> =2.88, RMSE<sub>Val</sub>=0.05, R<sup>2</sup><sub>Val</sub>=0.74, RPD<sub>Val</sub>=1.97) diğer veri seti kombinasyonlarından daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. SVM modelleri içinde FD+SNV+SR kombinasyonu ile oluşturulan modelin diğer modellerden daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Düşük hata ve yüksek R<sup>2</sup> ve RPD değeri veren bu modelin (RMSE<sub>Cal</sub>=0.02, R<sup>2</sup><sub>Cal</sub>=0.96, RPD<sub>Cal</sub>=5.36, RMSE<sub>Val</sub>=0.03, R<sup>2</sup><sub>Val</sub>=0.90, RPD<sub>Val</sub>=3.14) antosiyanin içeriğinin belirlenmesinde kullanılabileceği saptanmıştır (Tablo 3, Şekil 1). Tüm spektral verinin herhangi bir ön işlem uygulanmadan kullanıldığı PLS modeli (R<sup>2</sup><sub>Cal</sub>=0.15, R<sup>2</sup><sub>Val</sub>=0.10) ile bu modelin R<sup>2</sup> değerleri kıyaslandığında (R<sup>2</sup><sub>Cal</sub>=0.96, R<sup>2</sup><sub>Val</sub>=0.90), spektral veriden yararlanılarak antosiyanin içeriğinin açıklanabilmesi bakımından kalibrasyon setinde yaklaşık 6 kat, dış doğrulama setinde ise 9 kat daha artış olduğunu söylemek mümkündür (Tablo 3). Tüm spektral veriye önışlem uygulanmasının tahmin başarısını dikkate değer şekilde artırdığı görülse de, dalga boyu seçim yöntemi uygulanması halinde modele ilişkin tahmin gücünün yükseldiği görülmektedir.

Antosiyanin içeriğinin mısır tanesinde NIR spektroskopisi tespitine yönelik bir araştırmada (Mangalvedhe vd., 2015) oluşturulan kalibrasyon modeline ait R<sup>2</sup> değeri 0.72 dış doğrulama setine ilişkin R<sup>2</sup> ise 0.93 olarak

hesaplanmıştır. Araştırmamızda geliştirilen modellerden kalibrasyon seti için benzer sonuçlara ulaşılmış ancak dış doğrulamaya ilişkin  $R^2$  değerleri bu çalışmadan daha düşük bulunmuştur. Bu durumun başlıca nedeni kullanılan örneklerdeki antosiyanin miktarındaki değişimler ve kullanılan spektroskopi cihazlarındaki farklılıklardır. Mangalvedhe vd. (2015) tarafından yürütülen araştırmada 0-900 mg/kg'lık geniş bir varyasyon var iken, kullanılan cihaz ise 900-1650 nm arası taramaktadır. Araştırmamızda ise antosiyanin içeriğine ilişkin varyasyon daha düşük olmakla birlikte kullanılan cihazın tarama aralığı (2100-2400 nm) daha geniştir. Antosiyanin içeriği için spektral veriye ön işlem uygulanması halinde ölçüm başarısının arttığı gözlemlenmiştir. Kemometrik yöntem uygulamalarının spektral model başarısına olumlu yönde etki ettiğini gösteren farklı çalışmalar vardır (Alfieri vd. 2019; Kahrman, 2017). Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar da bu bulguları doğrular niteliktedir.



Şekil 1. Antosiyanin içeriği için PLS yönteminde (a, b) ve SVM yönteminde (c, d) en iyi tahmin sonucu veren kalibrasyon ve dış doğrulama setlerine ait tahmin grafikleri

Tablo 3.

Toplam antosiyanin içeriğine yönelik NIR tahmin modellerine ait değerlendirme istatistikleri

Önişlem	Seçim Yöntemi	RM	RMSE <sub>Cal</sub>	$R^2_{Cal}$	RPD <sub>Cal</sub>	RMSE <sub>Val</sub>	$R^2_{Val}$	RPD <sub>Val</sub>
Ön İşlemsiz	Tüm Spektrum	PLS	0.09	0.15	1.09	0.09	0.10	1.06
FD	Tüm Spektrum	PLS	0.04	0.85	2.66	0.05	0.70	1.85
SD	Tüm Spektrum	PLS	0.04	0.82	2.37	0.06	0.65	1.71
SNV	Tüm Spektrum	PLS	0.03	0.88	2.92	0.05	0.69	1.83
FD+SNV	Tüm Spektrum	PLS	0.06	0.58	1.55	0.07	0.48	1.40
SD+SNV	Tüm Spektrum	PLS	0.04	0.82	2.38	0.06	0.64	1.68
Ön İşlemsiz	VIP	PLS	0.09	0.15	1.09	0.09	0.10	1.06
FD	VIP	PLS	0.04	0.85	2.61	0.05	0.72	1.91
SD	VIP	PLS	0.04	0.82	2.37	0.05	0.68	1.79
SNV	VIP	PLS	0.03	0.87	2.88	0.05	0.74	1.97
FD+SNV	VIP	PLS	0.03	0.86	2.72	0.05	0.71	1.88
SD+SNV	VIP	PLS	0.05	0.75	2.03	0.06	0.62	1.64
Ön İşlemsiz	SR	PLS	0.09	0.15	1.09	0.09	0.10	1.06
FD	SR	PLS	0.04	0.85	2.65	0.05	0.70	1.83

FD: Birinci türev; SD: İkinci türev; SNV: Standart normal değişim; RM: Regresyon metodu; VIP: Değişken önemlilik projeksiyonu; SR: Seçicilik oranı.

Tablo 3 (devamı).

## Toplam antosiyanin içeriğine yönelik NIR tahmin modellerine ait değerlendirme istatistikleri

Önişlem	Seçim Yöntemi	RM	RMSE <sub>Cal</sub>	R <sup>2</sup> <sub>Cal</sub>	RPD <sub>Cal</sub>	RMSE <sub>Val</sub>	R <sup>2</sup> <sub>Val</sub>	RPD <sub>Val</sub>
SD	SR	PLS	0.04	0.82	2.37	0.06	0.65	1.71
SNV	SR	PLS	0.07	0.51	1.43	0.07	0.40	1.30
FD+SNV	SR	PLS	0.06	0.57	1.53	0.07	0.47	1.39
SD+SNV	SR	PLS	0.04	0.81	2.36	0.06	0.63	1.66
Ön işlemsiz	Tüm Spektrum	SVM	0.04	0.82	2.39	0.05	0.64	1.69
FD	Tüm Spektrum	SVM	0.02	0.97	5.47	0.03	0.88	2.93
SD	Tüm Spektrum	SVM	0.02	0.96	5.27	0.03	0.88	2.93
SNV	Tüm Spektrum	SVM	0.02	0.96	5.16	0.03	0.88	2.92
FD+SNV	Tüm Spektrum	SVM	0.02	0.97	5.39	0.03	0.88	2.92
SD+SNV	Tüm Spektrum	SVM	0.02	0.96	5.21	0.03	0.88	2.94
Ön İşlemsiz	VIP	SVM	0.10	0.10	0.96	0.08	0.20	1.00
FD	VIP	SVM	0.02	0.97	5.37	0.03	0.89	3.09
SD	VIP	SVM	0.02	0.97	5.50	0.03	0.89	3.11
SNV	VIP	SVM	0.03	0.89	2.99	0.04	0.72	1.92
FD+SNV	VIP	SVM	0.02	0.96	4.85	0.03	0.89	3.09
SD+SNV	VIP	SVM	0.02	0.97	5.46	0.03	0.90	3.13
Ön İşlemsiz	SR	SVM	0.10	0.10	0.96	0.08	0.20	1.00
FD	SR	SVM	0.02	0.97	5.54	0.03	0.89	3.10
SD	SR	SVM	0.02	0.97	5.48	0.03	0.89	3.12
SNV	SR	SVM	0.03	0.90	3.12	0.04	0.80	2.25
FD+SNV	SR	SVM	0.02	0.96	5.36	0.03	0.90	3.14
SD+SNV	SR	SVM	0.02	0.97	5.42	0.03	0.90	3.13

FD: Birinci türev; SD: İkinci türev; SNV: Standart normal değişim; RM: Regresyon metodu; VIP: Değişken önemlilik projeksiyonu; SR: Seçicilik oranı.

Toplam fenolik içeriği için oluşturulan PLS ve SVM model değerlendirme sonuçları ise Tablo 4'de gösterilmiştir. Kullanılan her iki modelleme tekniğinde de ön işlemsiz spektral verinin VIP dalga boyu seçim yöntemine uygulanması ile oluşturulan modellerin, diğerlerinden daha başarılı sonuç verdiği gözlenmiştir. Bu modellere ait değerlendirme istatistikleri birbiri ile kıyaslandığında ise PLS tekniğinde başarılı bulunan ve ön işlem uygulanmadan VIP dalga boyu seçimi yapılan modelin (RMSE<sub>Cal</sub>=0.05, R<sup>2</sup><sub>Cal</sub>=0.71, RPD<sub>Cal</sub>=1.87, RMSE<sub>Val</sub>=0.06, R<sup>2</sup><sub>Val</sub>=0.66, RPD<sub>Val</sub>=1.72) SVM tekniğinde başarılı bulunan ve ön işlem uygulanmadan VIP dalga boyu seçimi yapılan modelden (RMSE<sub>Cal</sub>=0.06, R<sup>2</sup><sub>Cal</sub>=0.66, RPD<sub>Cal</sub>=1.71, RMSE<sub>Val</sub>=0.07, R<sup>2</sup><sub>Val</sub>=0.46, RPD<sub>Val</sub>=1.38) nispeten daha başarılı sonuç verdiği izlenmektedir (Tablo 4, Şekil 2). Ancak toplam fenolik içeriği için oluşturulan bu modellerin RPD değerlerine göre modellerin orta düzeyde (1.4 < RPD < 2) güvenilirliğe sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Meng vd. (2015) öğütülmemiş ve öğütülmüş mısır tanesi numunelerinde fenolik bileşen tespitine yönelik geliştirdikleri NIR kalibrasyon modellerinde R<sup>2</sup> değeri %90'ın üzerinde olan modellerin olduğunu bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada geliştirilmiş modellerin R<sup>2</sup> değerleri Meng vd (2015) tarafından çalışmada geliştirilmiş modellerden düşük bulunmuştur. Bu durumun başlıca nedenlerinden birisi kullanılan örnek setinin fenolik madde içeriği bakımından çok büyük bir değişime sahip olmasıdır. Araştırmamızda bu biyokimyasal

bileşen için tespit edilen sınır değerler nispeten dar bulunmuştur. Bu durum geliştirilen kalibrasyon modellerinin değerlendirme istatistiklerine yansımıştır.

Tablo 4.

Toplam fenolik içeriğine yönelik NIR tahmin modellerine ait değerlendirme istatistikleri

Ön İşlem	Seçim Yöntemi	RM	RMSE <sub>Cal</sub>	R <sup>2</sup> <sub>Cal</sub>	RPD <sub>Cal</sub>	RMSE <sub>Val</sub>	R <sup>2</sup> <sub>Val</sub>	RPD <sub>Val</sub>
Ön İşlemsiz	Tüm Spektrum	PLS	0.05	0.71	1.87	0.06	0.65	1.71
FD	Tüm Spektrum	PLS	0.06	0.67	1.75	0.06	0.60	1.60
SD	Tüm Spektrum	PLS	0.05	0.72	1.91	0.07	0.48	1.40
SNV	Tüm Spektrum	PLS	0.06	0.67	1.77	0.06	0.60	1.60
FD+SNV	Tüm Spektrum	PLS	0.06	0.66	1.73	0.06	0.60	1.59
SD+SNV	Tüm Spektrum	PLS	0.06	0.62	1.64	0.07	0.45	1.36
Ön İşlemsiz	VIP	PLS	0.05	0.71	1.87	0.06	0.66	1.72
FD	VIP	PLS	0.06	0.67	1.75	0.06	0.60	1.61
SD	VIP	PLS	0.04	0.83	2.45	0.07	0.55	1.50
SNV	VIP	PLS	0.06	0.68	1.78	0.06	0.61	1.62
FD+SNV	VIP	PLS	0.06	0.66	1.74	0.06	0.60	1.61
SD+SNV	VIP	PLS	0.04	0.80	2.25	0.07	0.53	1.48
Ön İşlemsiz	SR	PLS	0.05	0.71	1.87	0.06	0.65	1.71
FD	SR	PLS	0.06	0.67	1.75	0.06	0.60	1.60
SD	SR	PLS	0.05	0.72	1.91	0.07	0.47	1.39
SNV	SR	PLS	0.06	0.67	1.77	0.06	0.60	1.60
FD+SNV	SR	PLS	0.06	0.66	1.73	0.06	0.60	1.59
SD+SNV	SR	PLS	0.06	0.62	1.64	0.07	0.45	1.36
Ön İşlemsiz	Tüm Spektrum	SVM	0.04	0.83	2.44	0.09	0.34	1.25
FD	Tüm Spektrum	SVM	0.01	0.99	12.21	0.09	0.43	1.34
SD	Tüm Spektrum	SVM	0.01	0.99	10.95	0.09	0.43	1.34
SNV	Tüm Spektrum	SVM	0.01	0.99	11.59	0.09	0.43	1.34
FD+SNV	Tüm Spektrum	SVM	0.01	0.99	13.92	0.09	0.43	1.34
SD+SNV	Tüm Spektrum	SVM	0.01	0.99	12.21	0.09	0.43	1.34
Ön İşlemsiz	VIP	SVM	0.06	0.66	1.71	0.07	0.46	1.38
FD	VIP	SVM	0.02	0.95	4.41	0.08	0.31	1.22
SD	VIP	SVM	0.01	0.99	12.54	0.09	0.22	1.14
SNV	VIP	SVM	0.05	0.79	2.19	0.07	0.45	1.37
FD+SNV	VIP	SVM	0.03	0.88	2.89	0.07	0.43	1.34
SD+SNV	VIP	SVM	0.01	0.99	9.36	0.09	0.22	1.15

FD: Birinci türev; SD: İkinci türev; SNV: Standart normal değişim; RM: Regresyon metodu; VIP: Değişken önemlilik projeksiyonu; SR: Seçicilik oranı.

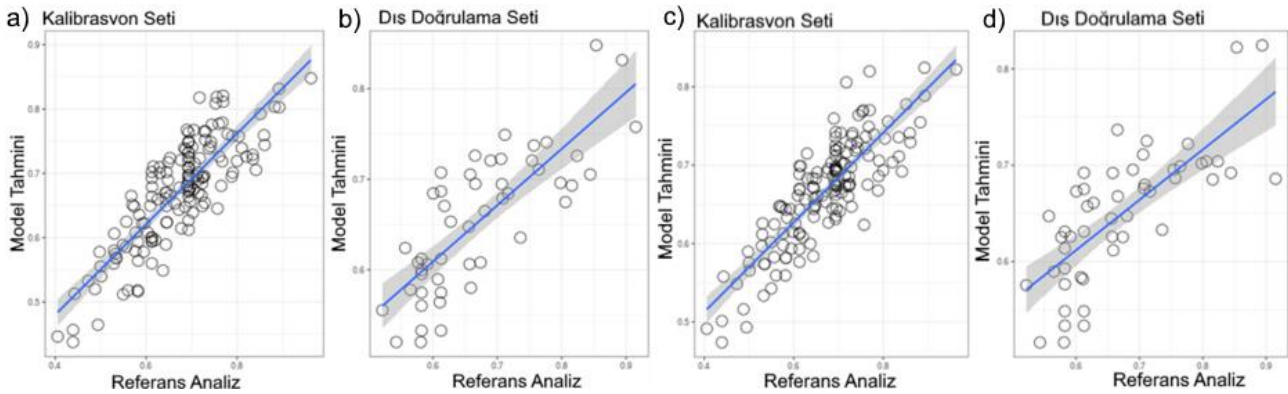


Tablo 4 (devamı).

Toplam fenolik içeriğine yönelik NIR tahmin modellerine ait değerlendirme istatistikleri

Ön İşlem	Seçim Yöntemi	RM	RMSE <sub>Cal</sub>	R <sup>2</sup> <sub>Cal</sub>	RPD <sub>Cal</sub>	RMSE <sub>Val</sub>	R <sup>2</sup> <sub>Val</sub>	RPD <sub>Val</sub>
Ön İşlemsiz	SR	SVM	0.10	0.20	1.00	0.10	0.10	1.00
FD	SR	SVM	0.01	0.99	8.55	0.08	0.28	1.19
SD	SR	SVM	0.01	0.99	10.99	0.09	0.22	1.15
SNV	SR	SVM	0.04	0.83	2.43	0.07	0.43	1.33
FD+SNV	SR	SVM	0.02	0.98	6.36	0.08	0.33	1.23
SD+SNV	SR	SVM	0.01	0.99	11.84	0.09	0.22	1.14

FD: Birinci türev; SD: İkinci türev; SNV: Standart normal değişim; RM: Regresyon metodu; VIP: Değişken önemlilik projeksiyonu; SR: Seçicilik oranı.



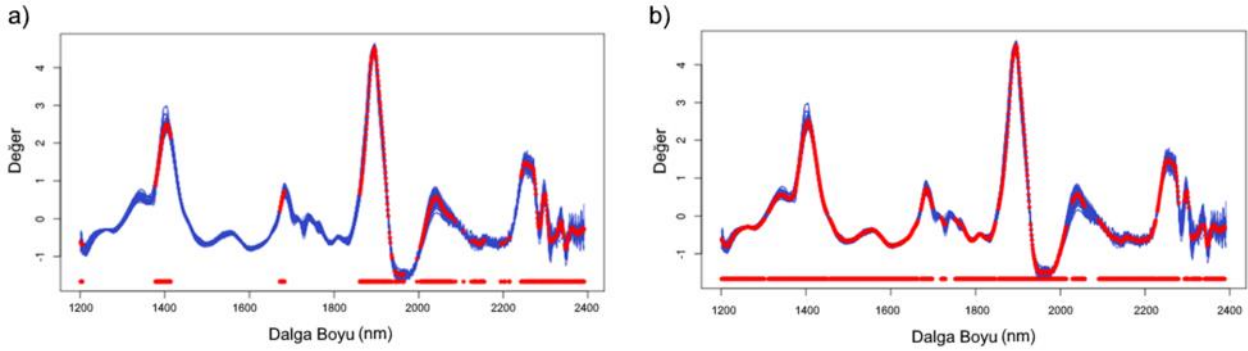
Şekil 2. Fenolik bileşen içeriği için PLS yönteminde (a, b) ve SVM yönteminde (c, d) en iyi tahmin sonucu veren kalibrasyon ve dış doğrulama setlerine ait tahmin grafikleri

### 3.3. Modellerde Etkili Dalga Boyları

Elektromanyetik spektrumda NIR bölgesindeki dalga boylarının ışık enerjisi ile etkileşimi komplike bir yapıdadır. Maddelerin yapısında bulunan C-H, O-H, N-H ve S-H gibi kimyasal bağların ışık ile etkileşimi sonucunda bu bağlar esneme, bükülme gibi hareketler yapmaktadır (Pasquini, 2003). NIR spektroskopisinde, elektromanyetik spektrumda temel yakın kızıl ötesi bölgesi (750-2500) ile organik bileşenlerin yapısındaki alifatik ve aromatik (C-H), karboksil (C-O), hidroksil (O-H) ve amin-amid (N-H) bağlarının enerji düzeylerindeki değişimin ölçülmesine dayanmaktadır (Williams ve Norris, 1987). Fenolik bileşenler ve antosiyaninler temel olarak C-H, O-H bağları bulunduran biyokimyasal bileşenlerdir. Bu bağ yapıları genel olarak fenolik maddelerle ilişkilendirilmektedir (Nicolai vd., 2007).

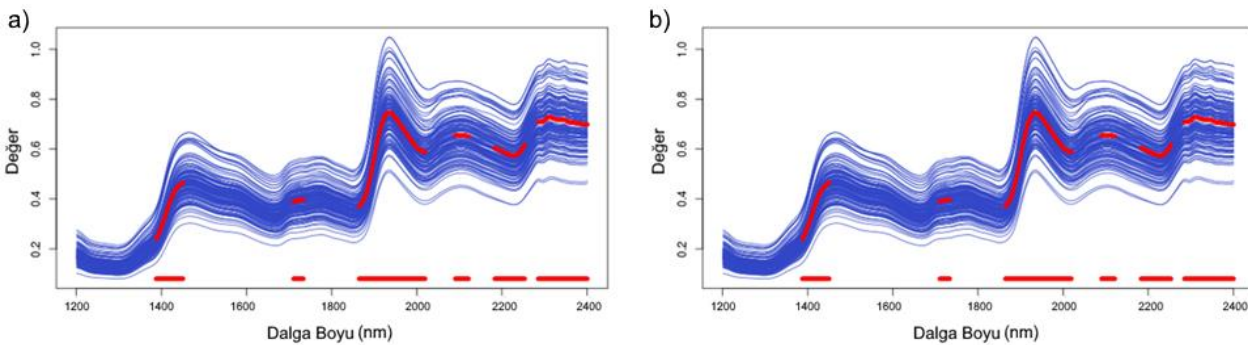
Antosiyanin içeriği için oluşturulan PLS ve SVM modellerinde etkili bulunan dalga boylarını gösteren grafik Şekil 3'te gösterilmiştir. Modelleme tekniğine göre etkili bulunan dalga boylarının değişim gösterdiği anlaşılmaktadır. PLS modelinde etkili bulunan dalga boyu sayısı SVM modelinden daha az sayıdadır. PLS modelinde etkili dalga boyları 1200 nm, 1400 nm, 1700 nm ve 1900-2400 nm arasındaki bölgelerde yer almıştır (Şekil 3a). SVM modelinde 1750 nm ve 2050 nm'ye yakın bölgeler dışında kalan bölgelerdeki dalga boylarının tahminleyici olarak yer aldığı görülmektedir (Şekil 3b). Mariani vd. (2015) bitkisel örneklerde antosiyanin içeriğinin NIR spektral bölgesinde yer alan 1232-1279 nm, 1319-1522 nm, 1792-2009 nm ve 2245-2387 nm dalga boylarında oluştuğunu bildirmişlerdir. Antosiyaninlerin kimyasal yapısı dikkate alındığında hidroksil grubun birinci overton bölgesi 1400-1600 nm arası bölge ile etkileşimde olduğu, C-O ve O-H bağlarının deformasyon bölgesi olan 2100 nm ve O-H, C-C bağlarının kombinasyon bant bölgesi olan 2276 nm'ye yakın bölgeler de antosiyaninlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Noah vd., 1997). Antosiyaninler suda çözünebilir bileşenlerdir bu sebeple örnek içerisindeki nem içeriği ile ilişki olan dalga boylarının da

dikkate alınmasında yarar vardır. Su ile NIR bölgesinde ilişkili olduğu bilinen bantlar 760, 970, 1190, 1450 ve 1940 nm dalga boylarıdır (Paulsen ve Singh, 1994). Çalışmamızda tarama yapılan bölgede (1200-2400 nm) su ile ilişkili bulunan dalga boylarının da tahmin modellerinde yer aldığı görülmektedir. Bu durum antosiyanin miktarının söz konusu bantlar tarafından maskelenmesine neden olabilir ve başarılı bulunan modellerde söz konusu bölgelerin elemine edildiği görülmektedir.



Şekil 3. Antosiyanin için en iyi tahmin sonucu veren PLS (a) ve SVM (b) modellerde etkili bulunan dalga boylarını gösteren grafikler

Fenolik bileşenlerin tespitinde PLS ve SVM yöntemlerinde başarılı bulunan modeller için taranan spektral aralıkta (1200-2400 nm) aynı bölgelerin etkili olduğu saptanmıştır (Şekil 4). Oluşturulan PLS ve SVM yöntemi için 1200 nm, 1500 nm, 1800 nm, 2100 nm ve 2200 nm bölgelerindeki dalga boylarının etkili olduğu görülmektedir (Şekil 4). Literatürde fenolik bileşenlerin NIR spektral bölgesinde farklı bölgelerle ilgili olduğu rapor edilmiştir. Miller (2001) NIR spektrumunda 1415 nm'den 1512 nm'ye ve 1955 nm'den 2035 nm'ye kadar olan bölgelerin fenolik bileşenlerle ilgili karakteristik bantlar bulunduğunu rapor etmiştir. Diğer fonksiyonel bağ tepkileri içerisinde, O-H hidroksil grubu (1514 nm), C-O bağlarının etkili olduğu 2056 nm ve C-H bağlarının birinci overtone bölgesindeki 1762 nm, 2142 nm ve 2170 nm'deki dalga boylarının fenolik bileşenlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Osborne, 1993). Sorgumda yürütülen bir çalışmada 400-2500 nm arasında taranan spektral aralıkta 508 nm, 608 nm, 114 nm, 1304 nm, 1680 nm, 1904 nm, 2104 nm, 2230 nm ve 2244 nm dalga boylarının tahmin modellerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Alfieri vd., 2019). Çalışmamızda fenolik bileşenlere yönelik modellerde etkili bulunan bölgeler bilimsel çalışmalardaki söz konusu spektral aralıkları içermektedir.



Şekil 4. Fenolik bileşenler için en iyi tahmin sonucu veren PLS (a) ve SVM (b) modellerde etkili bulunan dalga boylarını gösteren grafikler

#### 4. Sonuçlar

Mısır örneklerinde toplam antosiyanin ve fenolik içeriğinin tespitinde NIR spektroskopisi cihazından yararlanılabileceği görülmüştür. Bu cihazda geliştirilen kalibrasyon modellerinde kullanılan kemometrik yöntemlerin model başarısına önemli etkisi olduğu anlaşılmıştır. Araştırmada her özellik için geliştirilen 36 ayrı modelden başarılı bulunan modellerin spektral ön işlem ve dalga boyu seçim yöntemlerinin kullanıldığı modeller olduğu dikkat çekmiştir. Antosiyanin içeriği için FD+SNV+SR kombinasyonu ile SVM modelleme yöntemi oluşturulan modelin tahmin başarısının diğer modellerden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Toplam fenolik bileşen için ön işlem uygulanmadan VIP dalga boyu seçim yöntemi diğer kombinasyonlardan daha yüksek başarı sağlasa da, bu modellerin tahmin güvenilirlikleri orta düzeyde kalmıştır. Antosiyanin içeriği için PLS ve SVM modelleme yöntemlerinde farklı dalga boylarının etkili olduğu görülmüş ve SVM yönteminde tarama yapılan spektral aralıkta daha fazla sayıda bölge tahmin modeline dahil olmuştur. Buna karşın toplam fenolik içeriği için ise her iki modelleme yönteminde de etkili dalga boylarının aynı olduğu görülmüştür. İleride bu bileşenlere yönelik çalışmalarda farklı kemometrik yöntemlerin de kullanılması faydalı olacaktır. Kullanılacak örnek setinde hedef değişkenler bakımından varyasyonun örnek sayısı ve biyokimyasal içerik bakımından değişimin artırılması da model başarısını olumlu yönde etkileyebilir. Antosiyanin ve fenolik bileşenlerin yanı sıra diğer sekonder metabolitlerin NIR ile tespitinde kemometrik yöntemlerin etkisine yönelik çalışmalar da yapılmalıdır.

#### Teşekkür

Bu makale Ziraat Yüksek Mühendisi Mehmet Şerment'in yüksek lisans tez çalışmasından derlenmiştir. Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FYL-2018-2754.

#### Yazar Katkıları

Mehmet Şerment: Laboratuvar analizlerini yapmış ve makaleyi yazmıştır.

Fatih Kahrıman: Çalışmayı planlamış, istatistik analizleri yapmış ve makale yazımına katkı sunmuştur.

#### Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

#### Kaynaklar

- Abdel-Aal, E.S.M. ve Hucl, P. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry*, 76, 350-354. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.350>
- Adom, K.K. ve Liu, R.H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6182-6187. <https://doi.org/10.1021/jf0205099>
- Agelet, L.E., Hurburgh Jr., C.R. (2010). A tutorial on near infrared spectroscopy and its calibration. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 40:4, 246-260. <https://doi.org/10.1080/10408347.2010.515468>
- Alfieri, M., Cabassi, G., Habyarimana, E., Quaranta, F., Balconi, C. ve Redaelli, R. (2019). Discrimination and prediction of polyphenolic compounds and total antioxidant capacity in sorghum grains. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 27(1):46-53. <https://doi.org/10.1177/0967033518825351>
- Baye, T.M., Pearson T.C. ve Settles A.M. (2006). Development of a calibration to predict maize seed composition using single kernel near infrared spectroscopy. *Journal of Cereal Science*, 43(2): 236-243. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.11.003>
- Egesel C.Ö. ve Kahrıman F. (2012). Determination of quality parameters in maize by nir reflectance spectroscopy. *Journal of Agricultural Sciences*, 18:43-53. [https://doi.org/10.1501/tarimbil\\_0000001190](https://doi.org/10.1501/tarimbil_0000001190)
- Egesel C.Ö. Kahrıman F. Ekinci N. Kavdir İ. ve Büyükcan M.B. (2016). Analysis of fatty acids in kernel, flour and oil samples of maize by NIR spectroscopy using conventional regression methods. *Cereal Chemistry*, 93:487-492. <https://doi.org/10.1094/cchem-12-15-0247-r>
- Galicia, L., Nurit, E., Rosales, A. ve Palacios-Rojas, N. (2009). Laboratory protocols (2008): *Maize nutrition*

- quality and plant tissue analysis laboratory. CIMMYT, 42. Erişim adresi: <https://repository.cimmyt.org/bitstream/handle/10883/804/91513.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ji, H.C., Lee, H.B. ve Takeo, Y. (2010). Major agricultural characteristics and antioxidants analysis of the new developed colored waxy corn hybrids. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 55(1): 55-59. <https://doi.org/10.5109/17800>
- Jing, P. ve Giusti, M. M. (2005). Characterization of anthocyanin-rich waste from purple corn cobs (*Zea mays* L.) and its application to color milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8775-8781. <https://doi.org/10.1021/jf051247o>
- Kahrıman F., (2017). Mısır yağında yağ asitlerinin uv-vis spektroskopisi ve kemometrik yöntemler yardımıyla tespit edilmesi. *Journal of Food And Health Science*, 3:82-89. <https://doi.org/10.3153/jfhs17011>
- Kahrıman, F., Öner, F., Türk, F., Gökçe, A., Düzen, E., Onaç, İ. ve Egesel C.Ö. (2017). Efficiency of different chemometric methods for determination of oil content in maize by nir spectroscopy, *AGROSYM (2017)*, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, 5-8 October 2017. Erişim adresi: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/FullTextPDF/2018/20183050244.pdf>
- Kahrıman, F. ve Egesel C.Ö. (2018). Using near infrared (NIR) spectroscopy in the analysis of cereal products: the example of maize, In: *Recent researches in science and landscape management*, Ed: Prof. Dr. Recep Efe, (pp. 560-574).
- Kahrıman, F., Onaç, İ., Mert F., Öner F. ve Egesel, C.Ö., (2019). Determination of carotenoid and tocopherol content in maize flour and oil samples using near-infrared spectroscopy. *Spectroscopy Letters*, 52, 473-481. <https://doi.org/10.1080/00387010.2019.1671872>
- Kahrıman, F., Onaç, İ., Öner, F., Mert-Türk, F. ve Egesel C.Ö. (2020). Analysis of secondary biochemical components in maize flour samples by NIR (near infrared reflectance) spectroscopy. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14:2320–2332. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00479-0>
- Kahrıman, F. ve Liland, K-H. (2021). SelectWave: a graphical user interface for spectral data analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 212:104275. [https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2021.104275\\_](https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2021.104275_)
- Keleş, Y. (2015). Antosiyanin pigmentlerin biyokimyası ve analizi, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8 (1): 19-25.
- Lago, C., Cassani, E., Zanzi, C., ve Pulu R. (2014). Development and study of a maize cultivar rich in anthocyanins: coloured polenta, a new functional food. *Plant Breeding*, 133(2):210–217. <https://doi.org/10.1111/pbr.12153>
- Lao, C., Zhang, Z., Chen, J., Chen, H., Yao, Z., Xing, Z., Tai, X., Ning, J., Chen, Y. (2020). Determination of in-situ salinized soil moisture content from visible-near infrared (VIS–NIR) spectroscopy by fractional order derivative and spectral variable selection algorithms. *International Journal of Precision Agricultural Aviation*, 3(3):21-34. <https://doi.org/10.33440/j.ijpaa.20200303.98>
- Lopez-Martinez, L.X., Oliart-Ros, R.M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C.H., Parkin, K.L. ve Garcia, H.S. (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Science and Technology*, 42:1187–92. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.10.010>
- Mangalvedhe, A.A., Danao, M.C., Paulsmeyer, M., Rausch, K.D., Singh, V. ve Juvik, J.A. (2015). Anthocyanin determination in different corn hybrids using near infrared spectroscopy. *ASABE Annual International Meeting*, New Orleans. Paper Number: 152181716.
- Mariani, N.C.T., Teixeira, G.H.A., Lima, K.M.G., Morgenstern, T.B., Nardini, V. ve Cunha, L.C. (2015). NIRS and iSPA-PLS for predicting total anthocyanin content in jaboticaba fruit. *Journal of Food Chemistry*, 174: 643–648. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.008>
- Meng, Q., Murray, S.C., Mahan, A., Collison, A., Yang, L. ve Awika, J. (2015). Rapid estimation of phenolic content in colored maize by near-infrared reflectance spectroscopy and its use in breeding. *Crop Science*, 55: 2234-2243. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.11.0767>
- Miller C.E. (2001). Chemical principles of near-infrared technology. In: Williams P.C., Norris K.H., editors. *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists; St. Paul, MN, USA.
- Nicolaï, B.M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K.I. ve Lammertyn, J. (2007).

- Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: a review. *Postharvest Biology and Technology*, 46:99–118. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.06.024>
- Noah, L., Robert, P., Millar, S. ve Champ, M. (1997). Near-infrared spectroscopy as applied to starch analysis of digestive contents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2593–2597. <https://doi.org/10.1021/jf960891n>
- Osborne B.G., Fearn T. ve Hindle P. (1993). *Practical nir spectroscopy with applications in food and beverage analysis*. Longman Scientific and Technical; London, UK: 1993.
- Pasquini, C., (2003). Near infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 14(2):198-219. <https://doi.org/10.1590/s0103-50532003000200006>
- Paulsen, M. R., Mbuvi, S. W., Haken, A. E., Ye, B. ve Stewart, R. K. (2003). Extractable starch as a quality measurement of dried corn. *Applied Engineering in Agriculture* 19: 211–217. <https://doi.org/10.13031/2013.13097>
- R Core Team, (2019) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org/>
- Redaelli R., Alfieri M. ve Cabassi G. (2016). Development of a NIRS calibration for total antioxidant capacity in maize germplasm. *Talanta*, 154:164-168. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.048>
- Sabancı, S. (2016). Ege bölgesinde yetiştirilen bazı mısır (*Zea mays* L.) çeşitlerinin verim, kalite ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın
- Sans, S., Ferré, J., Boqué, R., Sabaté, J., Casals, J., Simó, J. (2020). Estimating sensory properties with near-infrared spectroscopy: a tool for quality control and breeding of ‘Calçots’ (*Allium cepa* L.). *Agronomy*, 10:828. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060828>
- Williams, P. ve Norris, K.H. (1987). *Near-infrared technology in the agricultural and food Industries*. 2nd Edn., American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN., ISBN-13: 9780913250495, p 330.
- Yi, L., Dong, N., Yun, Y., Deng, B., Ren, D., Liu, S. ve Liang, Y. (2016). Chemometric methods in data processing of mass spectrometry-based metabolomics: A review. *Analytica Chimica Acta*, 914:17-34. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.02.001>