

Yakın-Kızılötesi (NIR) Spektroskopisi Kullanılarak Koyun, Keçi ve İnek Sütlerinin Tanımlanması

Şahin Durna¹, Atilla Yetişemiyen², Hüseyin Efe Geniş³, İsmail Hakkı Boyacı³

¹Atatürk Orman Çiftliği Süt Fabrikası Müdürlüğü, Ankara

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş Tarihi (Received): 11.10.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 15.12.2016

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): durna@aoc.gov.tr (Ş. Durna)

☎ 0 312 211 02 14 📠 0 312 211 02 87

ÖZ

Bu çalışmada, inek, koyun ve keçi olmak üzere üç farklı hayvan türüne ait sütlerin yakın-kızılötesi (NIR; near infrared) spektroskopisi ile tespit etme potansiyeli araştırılmıştır. NIR spektroskopisinin farklı tür sütlerin ayrıştırılmasındaki performansı ölçülmüş ve sahada bu amaçla kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Çalışmada her tür sütün 20 numune elde edilerek 908.1 ve 1676.2 nm özelliklere sahip sistemde NIR spektrumlar elde edilmiştir. Elde edilen spektrumlara temel bileşen analizi (PCA; principal component analysis) uygulanarak farklı türlerin ve farklı tür karışımların da birbirinden ayrıştırılabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: NIR spektroskopisi, Çiğ süt, Tür analizi, PCA

Discrimination of Sheep, Goat and Cow Milks by Near Infrared (NIR) Spectroscopy

ABSTRACT

In this study, potential use of near infrared (NIR) spectroscopy was determined to distinguish milks with three different species of animals (cow, sheep, goat). Discriminating performance of the NIR spectroscopy for the various types of milks was determined, and its performance was tested practically. Twenty samples of each milk type were obtained, and the corresponding NIR spectrums were acquired by a system with 908.1 and 1676.2 nm. Results indicated that different types and mixtures of milks could be distinguished by the principal component analysis of the acquired spectrums.

Keywords: NIR spectroscopy, Raw milk, Origin analysis, PCA

GİRİŞ

İnsan beslenmesinde büyük öneme sahip olan süt ve süt ürünlerinin kaynağının tür bazında belirlenmesi büyük bir ihtiyaçtır. Günümüzde bu amaçla geliştirilmiş yöntemler yoğun örnek hazırlama süreci, gelişmiş analitik sistemler ve en önemlisi uzun analiz süresi gerektirmektedir. Özellikle birçok gıda ürünü, uygun işleme yöntemlerinin kullanılmayışı veya kasıtlı ve kasıtsız müdahalelerle taşıya maruz kalabilmektedir.

Kar marjının arttırılması amacıyla çoğu gıda ürünü veya gıda ürününün pahalı bir bileşeni daha ucuz bir alternatifleriyle değiştirilmektedir. Bu durum çoğu zaman gıda ürününün kalitesini düşürmekte ve bununla birlikte etik ve ahlaki birtakım problemlere neden olabilmektedir. Tüm bu nedenler gıda ürünlerinde tür tayinin gerçekleştirilmesi amacıyla hızlı ve tahrip edici olmayan bir metodun ortaya konulması gereksinimini doğurmuştur.

Süt ve süt ürünleri teknolojik olarak taklit edilemese de maalesef sektörde taşıdığı yaygın bir şekilde yapılmaktadır. Örneğin tereyağına bitkisel yağ karıştırılmakta, peynir ve yoğurtta süt yağı çekilerek yerine bitkisel yağ ikame edilmektedir. Ayrıca farklı tür sütler karıştırılarak piyasada daha pahalı ürün grubunda satılmaktadır. Bu durum hem tüketicinin aldatılması sonucunu doğurmakta hem de sütün alerjen özelliği nedeniyle özellikle çocuklarda tehlikeli sağlık sorunları da yaratabilmektedir.

Hayvansal ürünlerden olan süt ve süt ürünlerinin kalitesi hayvanın yediği yem rasyonundan başlayarak son ürün elde edilinceye kadar büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle kaliteli ürün elde edebilmek için yapılması gereken analizlerin hızlı ve güvenilir olması gerekmektedir. Günlük süt kompozisyonundaki değişiklikler hayvan sağlığının ve beslenme dengesizliklerinin saptanmasında büyük öneme sahiptir. Günlük sağım işlemleri sırasında sütü analiz etme imkanı sağlayan analitik araçlar hayvan sağlığı ve beslenme dengesizlikleri hakkında bilgi verebilmektedir [1].

Özellikle son yıllarda vibrasyonel spektroskopik yöntemlerin hızlı gıda analizlerinde kullanımı ile ilgili çalışmalar artış göstermiştir. NIR spektroskopisinin çiğ sütün hızlı bileşen analizinde kullanılabilirliği ile ilgili yapılan çalışmada yağ ve protein analizinde elde edilen sonuçların R^2 değerinin 0.998 ve 0.940 olduğu bu nedenle yağ ve protein analizlerinde NIR sistemlerinin kullanılabilirliği belirtilmiştir [1].

Sütte yağ analiz metotlarından olan Gerber ve Röse-Gottlieb metotları ile FT-NIR (Fourier Transform-NIR) spektroskopisinin kıyaslanması ile ilgili yapılan çalışmada FT-NIR tekniğinin, kimyasal kullanılmadan birçok numuneyi analiz edebilen, analiz işlemi için profesyonel eğitilmiş personel gerektirmeyen, hızlı ve tahribatsız bir teknik olması nedeniyle süt işletmecileri ve süt üreticilerinin kullanımına uygun bir sistem olduğu belirtilmiştir [2].

Vis/NIR spektroskopisinin çiğ sütte bileşim analizlerinde kullanılabilirliği ile ilgili yapılan çalışmada 400-1000 nm dalga boyuna erişebilen Si dedektörlerinin bu amaç için uygun olmadığı, yağ, protein ve laktoz gibi 3 önemli parametre için en iyi ölçüm sonuçlarının 1000-2500 nm'de yapılabildiği belirtilmiştir [3].

NIR spektroskopisi ile yapılan çalışmalar sadece süt ve ürünlerinde bileşim analizi ile sınırlı değildir. FT-NIR kullanılarak çiğ sütün bozulma süresinin belirlenmesi ile ilgili yapılan bir çalışmada asitlik 20.7°T'den yüksek, pH 6.71'den düşük ve laktoz içeriği %3.42'nin altına düştüğünde çiğ sütün insan tüketimine uygun olmadığı tespit edilmiştir [4].

NIR spektroskopisinin sadece süt ile ilgili alanlarda kullanılmayıp aynı zamanda tahıl ve ürünlerinin protein, nem sedimentasyon ve hamurun reolojik özelliklerinin belirlenmesinde fırın ürünlerinin yağ karışımının hızlı tespitinde [5], et ve et ürünlerinin yağ, protein, nem, renk, tekstür analizlerinde, et ürünlerinde taşıdığı

belirlenmesinde, meyve sebze ürünlerinin şeker, çözünür katı madde, meyve sularında taşıdığı belirlenmesinde, ayrıca gıda dışı sektörlerden petrokimya, eczacılık ve çevrecilik sektöründe de yaygın olarak kullanılmaktadır [6].

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada kullanılan çiğ süt örnekleri Ankara civarındaki sadece koyun, sadece keçi ve sadece inek sütü üreten çiftliklerden elde edilmiştir. Çalışmada her türden 20 adet süt örneği kullanılmıştır. Sağımdan sonra sütler buz aküleri içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Çiğ sütler analiz edilmeden önce 5 dakika vorteks ile karıştırılarak homojen hale getirilmiş daha sonra örneklerin ikili (keçi-inek, keçi-koyun, koyun-inek) ve üçlü (inek-koyun- keçi) karışımları laboratuvar ortamında eşit hacimlerde karıştırılarak hazırlanmıştır.

Metot

Bileşim Analizleri

Toplam canlı miktarı ve somatik hücre sayısı flow sitometri tekniği kullanılarak saptanmıştır [7]. Bu aşamada Bentley BactoCount IBC-M cihazı (Bentley Instruments, Chaska, MN, ABD) kullanılmıştır [8]. Bileşim analizi (yağ, protein, laktoz) FTIR sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (CombiFoss™ FT+:FOSS Analytical Hillerød, Denmark) [9]. Örneklerin pH değerleri WTW Multi 940 model cihaz (WTW Inolab lds, Weilheim Germany) kullanılarak ölçülmüştür.

Spektrofotometre

NIR spektroskopik ölçümleri MicroNIR™ 1700 Spectrometer (JDSU, Santa Rosa, CA, ABD) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler; 6.19 nm çözünürlükte 908.1-1676.2 nm (11012-5965 cm^{-1}) dalga boyu aralığında ve yansıma modunda gerçekleştirilmiştir. Ölçüm parametreleri olarak 11.7 ms ve 50 tekrar seçilmiş ve her bir örneğin spektrumu 0.6 saniye gibi kısa sürede alınmıştır. Tüm örneklerin spektrumları cam kuvvetlerde oda sıcaklığında elde edilmiştir. Ölçüme başlanmadan önce %100 ve %0 yansıma ölçümleri alınarak kalibrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Veri Analizi

Süt örneklerinin spektrumları alındıktan sonra bu veriler temel bileşen analizi (PCA; principal component analysis) kullanılarak analiz edilmiştir. Bu amaçla Stand-Alone Chemometrics Software (Version Solo 7.0 for Mac OSX, Eigenvector Research Inc., Wenatchee, WA, ABD) programı kullanılmıştır.

PCA analizinde klasifikasyon amacıyla verilere ait temel bileşenlerin skor değerleri kullanılmıştır. Kurulan PCA modeli ile sütün türü ya da karışım halinde olup olmadığını saptanması amaçlanmıştır. PCA modelinin kurulum aşamasında en iyi sınıflandırmanın

bulunabilmesi, spektrumlardaki bantlar arasındaki farklılığı arttırabilmek amacıyla yansıma spektrumları üzerine türev, detrend, baseline düzeltmesi ve ortalama merkez düzeltmesi ön işlemleri uygulanmıştır. Farklı ön işlem ve farklı temel bileşen sayıları ile kurulan PCA modelleri incelenerek en iyi sınıflandırmayı yapan model bulunmaya çalışılmıştır. Veri analizinde öncelikle karışım örneklerin saf örneklerden ayrıştırılmasına

alışılmış, sonrasında saf örneklerin tanımlanması gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIřMA

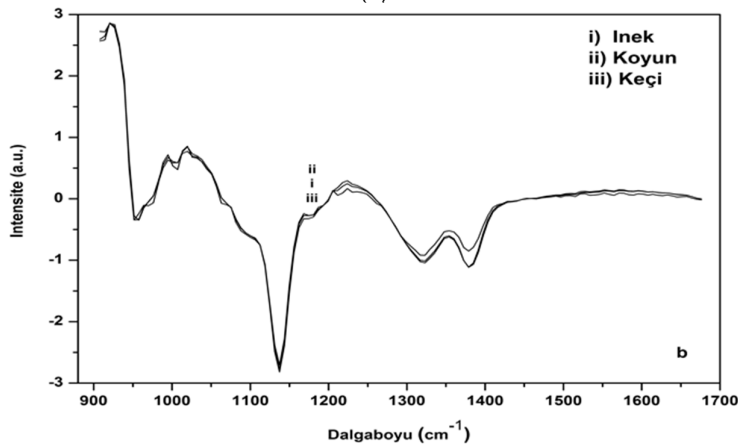
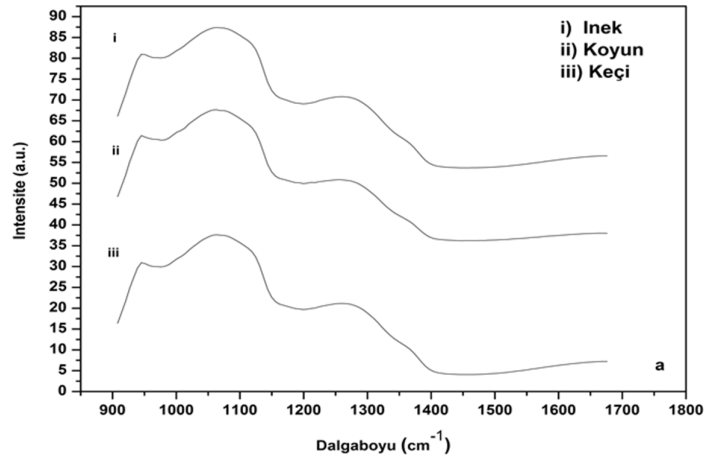
Çalışma kapsamında üreticiden saptanan toplam 60 çiğ süt örneği kullanılmış ve bu örneklerin temel kalite parametreleri saptanmıştır. İnek, koyun ve keçi sütlerine ait temel kalite parametrelerinin ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışma kapsamında kullanılan inek, koyun ve keçi sütlerine ait temel kalite parametreleri

| Örnek | Toplam Canlı (kob*1000/mL) | Somatik Hücre (scc*1000/mL) | Protein (%) | Laktöz (%) | Yağ (%) | pH |
|-------|----------------------------|-----------------------------|-------------|------------|----------|---------|
| İnek | 312.7±174.3 | 311.5±121.9 | 3.1±0.2 | 4.7±0.2 | 3.4±0.1 | 6.8±0.1 |
| Koyun | 208.4±442.9 | 879±3094 | 5.26±0.4 | 4.84±0.2 | 5.43±0.4 | 6.8±0.1 |
| Keçi | 277.1±350.4 | 443.2±80.0 | 3.5±0.3 | 4.7±0.2 | 3.8±0.4 | 6.7±0.2 |

Tablo 1'de verilen sonuçlar incelendiğinde çalışmada temin edilen sütlerinin protein, laktöz, yağ oranları ile toplam canlı ve somatik hücre sayılarının Türk Gıda Kodeksi "Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütler Tebliđine (2000/6) uygun olduğu ve yapılan diğer çalışmalardaki sonuçlarla benzerlik gösterdiği saptanmıştır [10-12].

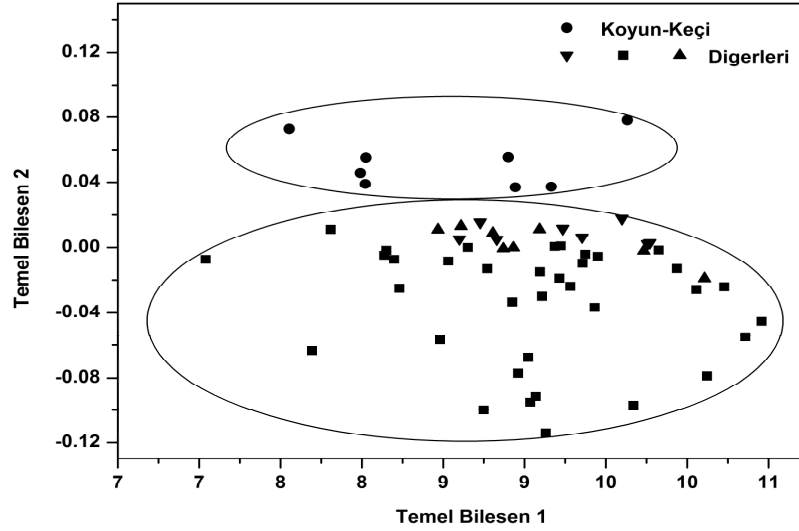
Süt örneklerinin NIR spektrumları taşınabilir NIR sistemi kullanılarak elde edilmiştir. Şekil 1a'da koyun, keçi ve inek sütlerinin NIR spektrumları verilmiştir. Temel olarak spektrumlar birbirlerine benzer olmalarının yanı sıra bazı farklılıklarda görülmektedir. Farklılıkları belirgin olarak ortaya koyabilmek için birinci türev (sıra: 2, genişlik: 3) alınmış olup Şekil 1(b)'de verilmiştir. Özellikle 1224.01 cm⁻¹ dalga boyunda farklılaşma gözlenmiştir.



Şekil 1. İnek, koyun ve keçi sütlerinin NIR spektrumları (a) ve spektrumların birinci türevleri (b)

Süt örneklerinin saf veya karışım oldukları ve ayrıca saf süt örneklerinin hangi türe ait olduğunu saptamak amacıyla kemometrik yöntemlerden PCA kullanılmıştır. Bu aşamada farklı hayvanlardan elde edilen sütlere ait spektrumlardaki farklılaşmanın belirlenmesi ve bu farklılaşma kullanılarak türlerin birbirinden ayrılmasının sağlanması amaçlanmıştır. Örneklere ait spektrum verileri kullanılarak PCA modelleri oluşturulmuş, skor

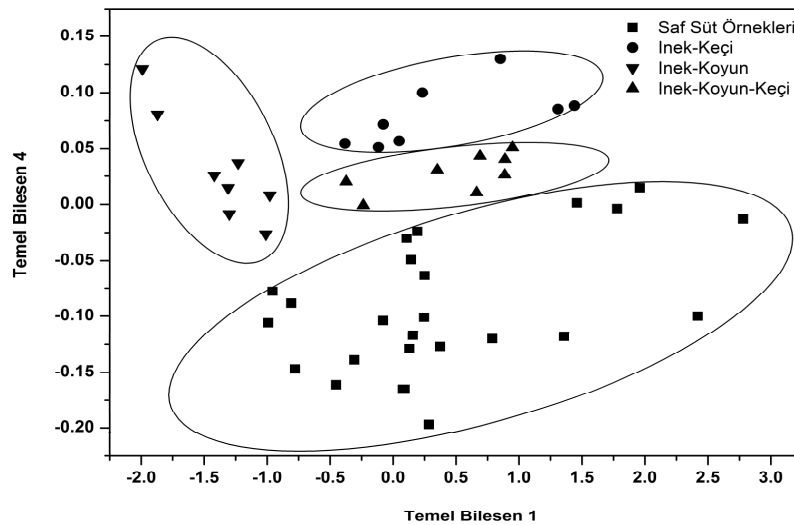
değerleri elde edilmiş ve bu değerler kullanılarak tür tayininin yapılabilirliği araştırılmıştır. İlk aşamada tüm çiğ süt örneklerine ait spektrumlara farklı ön işlemler uygulanmış ve iyi sonuçlar birinci türev ön işlemi uygulanmış verilerde elde edilmiştir. Bu veriler kullanılarak PCA modeli kurulmuştur. Modele ait birinci ve ikinci temel bileşenlerin skor değerleri kullanılarak PCA grafiği elde edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Koyun-keçi karışımı süt örneklerinin diğer örneklerden ayrılması için kurulan PCA modeline ait skor grafiği

İki temel bileşen toplam %99.6 oranında değişimi açıklama yeteneğine sahip olduğu saptanmıştır. Elde edilen grafikten de görüldüğü üzere ilk aşamada koyun-keçi süt karışımı diğer örneklerden ayrılmıştır. Ancak Şekil 2'de görülebileceği gibi diğer türlerin skor değerleri birbiri içerisinde karışmakta ve tür tayinine izin vermemektedir. Bu amaçla koyun-keçi örneklerinin spektrumları, diğer tüm örneklerden ayrıştırılarak yeni bir veri seti oluşturulmuş ve bu veri seti üzerine yeni bir PCA modeli kurulmuştur. Yeni veri seti üzerine ortalama

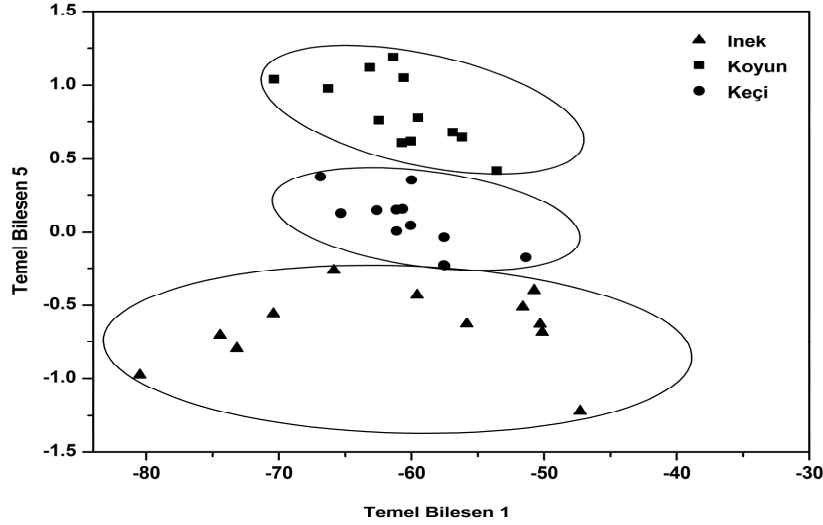
merkez düzeltmesi ön işlemi uygulanmış ve kurulan modelde en iyi sınıflandırma dördüncü bileşen seçildiğinde bulunmuştur. Birinci temel bileşen karşı dördüncü temel bileşen (toplam %88.64) grafiğe geçirilerek Şekil 3 elde edilmiştir. Şekilde de görüldüğü üzere keçi-inek, koyun-inek, keçi-koyun-inek karışımı ve diğer saf sütlere ait skor değerleri birbirinden ayrılmıştır. Böylece tüm karışım süt örnekleri saf süt örneklerinden 2 farklı PCA modeli ile ayrıştırılmıştır.



Şekil 3. İkili ve üçlü karışımların ayrıştırıldığı PCA modeline ait skor grafiği

Saf süt örneklerinin birbirinden ayrılması için ikinci modelde kullanılan veri setinden karışımlara ait veriler çıkarılmış ve yeni bir model kurulmuştur. Bu model için kullanılan ön işlem detrend olmuş ve beşinci temel bileşen seçilerek saf süt örneklerinin ayrımı

gerçekleştirilmiştir. Birinci ve beşinci temel bileşenler (toplam %98.81) kullanılarak çizilen PCA grafiği Şekil 4'te verilmiştir. Saf koyun, keçi ve inek sütlerine ait skor değerleri kullanılarak süt türlerinin birbirinden ayrılabilceği ortaya konulmuştur.



Şekil 4. Saf süt tayininin gerçekleştirildiği PCA modeline ait skor grafiği

SONUÇ

Sonuç olarak üç farklı PCA modeli ardışık olarak kullanılarak farklı süt örneklerinin karışımı ya da bir türe ait saf süt olup olmadıkları, belirlendikten sonra sütün sağlandığı türün NIR spektrumları üzerinden saptanabileceği çalışma sonucunda ortaya konmuştur. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar ve çalışmanın sektöre sağlayacağı avantajlar aşağıda sunulmuştur.

- Çalışma kapsamında kullanılan toplam 60 saf süt örneği ve bunların ikili ve üçlü karışımlarının tamamında yüksek doğrulukta ayrımın tanımlanması sağlanmıştır. Bu sonuçlar NIR spektrumlarının kemometrik yöntemler kullanılarak analiz edilmesi sonucunda sütte farklı bir türden sağlanan sütün karıştırılıp karıştırılmadığının ve süt türünün saptanmasında kullanılabileceği ortaya konulmuştur.
- Çalışma kapsamında taşınabilir NIR sisteminin sütte tür tayininde kullanılabilmesi için yeni bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntem sayesinde gereksinim duyulan her yerde gelişmiş analiz sistemlerine ve laboratuvarlara gereksinim olmaksızın analiz gerçekleştirilebilir.
- Geliştirilen analiz sistemi çok hızlı olması nedeniyle büyük önem arz etmektedir. Örneğe ait spektrum bir saniyeden daha kısa bir sürede elde edilebilmekte ve sonrasında yine çok kısa bir sürede analiz edilebilmektedir. Bu durum kısa sürede çok sayıda örneğin analiz edilebilmesine imkan sağlamaktadır.
- Örneklem sonrasında herhangi bir ön işleme gereksinim olmaksızın örneğin doğrudan spektrumu üretilebilmekte ve sonrasında analiz edilebilmektedir. Çalışma kapsamında tek kullanımlık cam küvetler kullanılmış olup bir analiz

maliyeti sadece kullanılan küvetlerin maliyeti kadar ve bu maliyette 0.1 TL'nin altındadır.

KAYNAKLAR

- [1] Melfsen, A., Hartung, E., Haeussermann A., 2012. Accuracy of milk composition analysis with near infrared spectroscopy in diffuse reflection mode. *Biosystems Engineering* 112(3): 210-217.
- [2] Mlcek, J., Dvorak, L., Sustova K., Szwedziak K., 2016. Accuracy of the FT-NIR method in evaluating the fat content of milk using calibration models developed for the reference methods according to Rose-Gottlieb and Gerber. *J. AOAC Int.* 99(5): 1305-1309.
- [3] Aernouts, B., Polshin, E., Lammertyn J., Saeys W., 2011. Visible and near-infrared spectroscopic analysis of raw milk for cow health monitoring: reflectance or transmittance? *J. Dairy Sci.* 94(11): 5315-5329.
- [4] Wang, Y., Ding, W., Kou, L., Li, L., Wang, C., Jurick, W.M., 2015. A Non-destructive method to assess freshness of raw bovine milk using FT-NIR spectroscopy. *J. Food Sci. Technol.* 52(8): 5305-5310.
- [5] Üçüncüoğlu, D., İlaslan, K., Boyacı, İ.H., Özay, D.S., 2013. Rapid detection of fat adulteration in bakery products using. *Eur. Food Res. Technol.* 237: 703-710.
- [6] Ertugay, M.F., Başlar, M., 2011. Gıdaların kalite özelliklerinin belirlenmesinde yakın kızılötesi (NIR) spektroskopisi. *Gıda* 36(1): 49-54.
- [7] Cassoli, L.D., Francischetti G., Machado P. F., MourÃO, G.B., 2010. The relationship of flow cytometry results with classical measures of

- bacterial counts in raw refrigerated milk. *Int. J. Dairy Technol.* 63(2): 297-300.
- [8] Bentley Instruments, 2011. Bactocount IBC-M: Operator's Manual 1–35.
- [9] FOSS Analytical. User Manual 6005 4828 / Rev. 2
- [10] Anonim, 2000. Türk Gıda Kodeksi. Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği (2000/6). Tarrım ve Köyişleri Bakanlığı. 14 Şubat 2000 Tarih ve 23964 Sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- [11] Sezgin, E., Atamer. M., Koçak. C., Yetişemiyen. A., Gürsel. A., Gürsoy. A., 2007. Süt Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No:1560, Ankara.
- [12] Sezgin, E., Atamer, M., Koçak, C., Yetişemiyen, A., Gürsel, A., Gürsoy, A., 2007. Süt Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No:1560, Ankara.
-