

## Yoğurtta Melaminin Biyokristalizasyon Yöntemi ile Belirlenmesi

Onur ACAR<sup>1</sup>, Bedia ŞİMŞEK\*<sup>1</sup>, Alper KUŞÇU<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 32260 Isparta

(Alınış Tarihi: 29.04.2015, Kabul Tarihi: 01.08.2015)

### Anahtar Kelimeler

Biyokristalizasyon  
Melamin  
Yoğurt

**Özet:** Melamin; gıdalara hile amaçlı bulaştırıldığı tespit edilen insan sağlığı açısından oldukça zararlı kimyasal bir maddedir. Bu çalışmada "Set tipi" yoğurda biyokristalizasyon metodunu uygulayarak; yoğurtta melamin tespiti için pratik ve maliyetsiz alternatif bir yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla; çiğ inek sütü üç gruba ayrılarak yoğurt üretilmiştir. Birinci grupta sadece çiğ inek sütünden, ikinci grupta 1 mg/kg melamin katılmış çiğ inek sütünden, üçüncü grupta 5 mg/kg melamin katılmış çiğ inek sütünden yoğurt üretimi yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda genel Cronbach's-alpha değeri yoğurt için 0.758 (önemli ölçüde güvenilirlikte) olarak bulunmuştur. Yoğurt biyokristalogramlarında ise melaminin var olup olmadığı konusunda bilgi edinilmiştir. Ancak katılan melamin miktarı konusunda değerlendirme yapılamamaktadır. Yoğurtlarda eğer miktar konusunda değerlendirme yapılmak istenirse; 3 grubu da ayırt edebilen yan iğnelerle doluluk; ya da tümünü az da olsa ayırt edebilme yeteneği olduğu tespit edilen Kıvrık Çapraz İğneler kriteri ve ortalama puanların göz önünde bulundurulması tavsiye edilmektedir.

## Determination of Melamine in Yogurt by Biocrystallization Method

### Keywords

Biocrystallization  
Melamine  
Yoghurt

**Abstract:** Melamine is a quite harmful chemical compound for human health and it is detected to added to foods for purpose of adulteration. In this study, it is aimed that the developing an alternative practical and low cost method to detect melamine in set type yoghurt by the application of biocrystallization method. For this purpose, raw cow milk were divided into three groups and yoghurt was produced. The first group was prepared from raw cow milk as a control, and the second group was produced from raw cow milk that contain 1 mg/kg of melamine, and third group was made from cow milk that contain 5 mg/kg melamine. As a results of evaluation, the general Cronbach's-alpha value for yoghurt was found as 0.758 (reliability significantly). The information was obtained presence or absence of melamine in yoghurt biocrystallogram. However, evaluation wasn't made an amount of melamine that added to yoghurt. If we want to make any evaluation about amount of melamine in yoghurt, fullness with side needles criteria or in all determined that the less ability to distinguish Curly Cross Needles criteria and the average scores is recommended to be taken into consideration as to discriminate also each 3 groups.

### 1.Giriş

Melamin, (1.3.5-triazin-2.4.6-triamino-1, C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>N<sub>6</sub>) siyanüramid veya triaminotriazin olarak da adlandırılan, dayanıklı sert plastiklerin yapımında kullanılan ve sadece suda çözülebilen organik

kökenli ısıya oldukça dayanıklı azot seviyesi yüksek kimyasal bir maddedir (FDA, 2008; Anonim, 2009). Azot miktarı yüksek olan süt, protein bakımından da zengin kabul edilmektedir. Ortama azot miktarı yüksek (%66,6) melamin eklenmesi, sütün azot miktarını artıracığından protein miktarını da yüksek göstermektedir. Böylece su ve melamin

katılmış sütler toplam azot miktarını ölçen testlerden başarıyla geçmektedirler. Eklenen bu kimyasalın hiçbir besleyici değeri bulunmamaktadır. Aksine insanlarda kanserden böbrek taşı oluşumuna kadar birçok sağlık sorununa neden olabilmektedir. Gıdalara melamin eklenmesi Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' nun yanı sıra herhangi bir ulusal otorite tarafından da izin verilmemektedir (Codex Alimentarius Commission, 2010).

Gıda ve gıda maddelerinde melamin kullanılmasının yasal olduğu bir ülke bulunmamasına rağmen çevrede yaygın bir şekilde kullanılmasının sonucu olarak gıda zincirine girebileceği rapor edilmiştir. Bu nedenle birçok ülke yem ve gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum melamin düzeylerini belirlemiştir. Türkiye'de melamin için spesifik migrasyon limiti ise 19 Aralık 2012 yılında çıkan 28502 sayılı resmi gazete ile melamin ve yapısal analoglarının gıdalarda bulunmasına izin verilen miktar 2,5 mg/kg olarak yayınlamıştır (Anonim, 2012).

Son yıllarda önemi artan yeni bir metot olan biyokristalizasyon metodu, diğer yöntemlere göre daha pratik, hızlı ve maliyetsiz bir yöntemdir. Biyokristalizasyon yöntemi aralarında dairesel kromatografi ve yükselen resim yönteminin de bulunduğu, "hassas kristalizasyon" veya "bakır II klorür kristalizasyonu" olarak da adlandırılan resim oluşturma yöntemlerinden biridir (Andersen vd., 1999; Andersen, 2001). Çalışmanın prensibi "bütünün yansıttığı, parçaların ayrı ayrı yansıttığından daha anlamlıdır" şeklinde özetlenmektedir (Huber, 2006; Kuşçu, 2008; Unluturk vd., 2014). Bu metot çoğunlukla meyve-sebze teknolojisi alanında organik ve konvansiyonel olarak üretilen ürünlerin ayırımında kullanılmıştır (Mäder vd., 1993; Andersen vd., 1999; Abdollahi, 2008; Kuşçu, 2008; Unluturk vd., 2011). Süt teknolojisi alanında biyokristalizasyonun kullanımı üzerine ise sınırlı sayıda araştırma belirlenmiştir. Barth (1998) işlem görmemiş süt ve homojenize edilip UHT tekniği ile steril edilen sütün farklılıklarını biyokristalizasyon tekniği ile incelemiştir. Organik ve konvansiyonel çiğ sütler, farklı şekillerde pastörize ederek biyokristalizasyon yöntemi ile bu farklılıkları belirlemeye çalışmıştır. Çiğ ve UHT süt örnekleri ile antibiyotik kalıntısı (Örneğin; Ampisilin, Penisilin G) bulaştırılmış örneklerin biyokristalogramlarının yapay sinir ağları ile görüntü işleme tekniği (ImgProcNN) ile belirlendiği bir başka çalışmada, bu metodun sonuçları tanımda %86 ile %100 arası başarı sağladığı kaydedilmiştir (Abdollahi, 2008; Unluturk vd., 2013).

Örnek ekstraktındaki protein, azot ve metal tuzları gibi birçok organik bileşik oluşan kristalografik yapılarını etkilemektedir. Doesburg ve Huber (2011) homojenizasyonun biyokristalizasyon resimlerinde integrasyon (bütünleşme, uyum) ve düzeni azalttığı belirtmiştir. Örneğin kendine ait olan morfolojik özellikleri, örnek ekstraktının protein çeşidi ve kalitesi bu metotla belirlenebilmektedir. Kristalizasyon resmindeki belli zonlar proteine has olup ve proteinlerden kaynaklanan değişimleri göstermektedir. Kristallerin yapı farklılığı veya desenlerin değişikliği protein kalitesindeki farklılıkları (örneğin; denatüre proteinler) göstermektedir. Bu farklılıklar, kimyasal analizler ile belirlenememekte fakat biyolojik açıdan önem taşımaktadırlar (Finesilver, 1989). Melaminin yüksek protein içeriği (% 66,6 azot) nedeniyle katıldığı gıdanın protein miktar ve kalitesini önemli derecede değiştirmektedir. Bu değişiklik nedeniyle büyük ölçüde etkilenen biyokristalogramlar farklılaşmaktadır ve gözle görülebilir bir ayırım oluşturmaktadır. Bu çalışmanın amacı, yoğurt içerisine hile amacıyla katılan melaminin biyokristalizasyon metodu ile tespit edilebilirliğini incelemektir. Çalışma genel olarak son yıllarda önemi artan biyokristalizasyon metodunun araştırılması, geliştirilmesi melaminli sütlerde ve bu sütlerden yapılan yoğurtlara biyokristalizasyon metodunun uyarlanması ve bu metotla yoğurtta bulunması izin verilen düzeylerde melaminin belirlenip belirlenemeyeceğinin araştırılmasını kapsamaktadır.

Literatürde hem melaminin biyokristalizasyon metodu ile belirlenmesi konusunda hem de metodun yoğurda uygulanması konusunda herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Hem literatürde ki bu boşluğu gidermek hem de biyokristalizasyon metodunun yoğurtlarda uygulanabilmesi ve melamin tespiti için daha pratik, hızlı ve maliyetsiz bir yöntem daha kazandırılması amacıyla yapılan bu çalışmanın daha sonraki araştırmalara ışık tutarak halk sağlığına yönelik bir katkı yapması amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Materyal

Yoğurt üretiminde kullanılan çiğ inek sütü Süleyman Demirel Üniversitesi Ünsüt işletmesinden sağlanmıştır. Çalışma için gerekli yağsız süt tozu (Pınar Süt Mamülleri Sanayi A.Ş., Türkiye), yerel bir marketten alınmıştır. Yoğurt üretimi ve analizleri Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında yapılmıştır. Starter Kültür olarak %2.5 oranında YO-MIX, DANISCO kullanılmıştır. İlave edilen Melamin Sigma (CAS Number [108-78-1](#)) tarafından sağlanmıştır. Biyokristalizasyon metodunda çözelti hazırlamada

kullanılan saf su (Millipore)'dan elde edilmiştir.  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  Merck (Nr. 1.02733) firmasından temin edilmiştir.

## 2.2. Metot

### 2.2.1. Yoğurt üretimi

Gerekli kontrolleri yapılan inek sütü yağsız kuru maddesi yağsız süttezu ile %13'e ayarlanmıştır. Daha sonra sütler 3 eşit kısma ayrılmıştır. Sütlerin birinci kısmı kontrol grubu (A) olarak ayrılmış; ikinci kısmına 1 mg/kg melamin (B); üçüncü kısmına 5 mg/kg melamin (C) katılmıştır. Bu sütlerden örnekler alınarak biyokristalizasyon metodu uygulanmıştır. Daha sonra hazırlanan sütler  $95^\circ\text{C}$ 'de 20 dakika boyunca pastörizasyon işlemi uygulanmıştır. Pastörizasyon işleminden sonra süt  $43^\circ\text{C}$ 'ye soğutulmuş, süte %2.5 oranında yoğurt kültürü (1:1) ilavesi yapılmıştır. pH 4.7 olana kadar  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 2.5-3.0 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda elde edilen yoğurtlar 15 dakika oda sıcaklığında kendi haline bırakılarak soğutulmuştur. Daha sonra  $+4^\circ\text{C}$ 'da depolanmıştır. Deneme üç tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir. Tüm analizler tüm tekerrürlere aynı şekilde uygulanarak değerlendirilmiştir.

### 2.2.2. Süt Örneklerinde Biyokristalizasyon

Çiğ süt, 1 mg/kg ve 5 mg/kg melamin içeren sütlerin en iyi biyokristalogramlarını oluşturmak için bakır II klorür ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ile örnek ekstraktının derişim oranları belirlenmiştir. Bakır II klorürün ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) %16'lık sulu çözeltisine karşılık örnek ekstraktının %0.1, %0.5, %0.75 ve %1'lik sulu çözeltileri ile biyokristalogramlar oluşturulmuştur. En iyi oranın %16'lık bakır II klorür ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) çözeltisine karşılık %0,5'lik örnek ekstraktının olduğuna karar verilmiştir. Çalışma boyunca bu oran kullanılmıştır.

Süt örneklerinin biyokristalizasyona hazırlamak için; 50 ml süt örneği 100 ml'lik erlenmayere alınmıştır. Su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir (Dondurulmuş örnek için 90 dakika).  $20^\circ\text{C}$ 'ye ulaştıktan sonra önceden hazırlanmış %0,5'lik örnek ekstraktından 4,5 ml alınmıştır ve %16'luk 1,5 ml  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  çözeltisiyle petri içinde 8 çizerek karıştırılmıştır. Düz ve sarsıntısız bir zeminde laboratuvar koşullarında yaklaşık olarak %35-55 bağıl nemde, 14-16 saat buharlaştırma gerçekleştirilmiştir. Melaminli ve melaminsiz örnekler aynı işlemde geçirilmiştir ve aynı şartlarda, aynı ortamda kristallenmeleri sağlanmıştır (Kahl vd., 2009).

### 2.2.3. Yoğurt Örneklerinde Biyokristalizasyon

Yoğurdun biyokristalizasyonu ile ilgili prosedür bulunmadığı için sütün biyokristalizasyon prosedürü yoğurt için modifiye edilmiştir. Yoğurt örneğinden 50 gr erlenmayere alınmıştır. Su banyosunda 30 dakika bekletilmiş,  $20^\circ\text{C}$ 'ye ulaştıktan sonra saf su (Millipore) ile % 0,5'lik örnek çözeltisi ve %16'lık  $\text{CuCl}_2$  çözeltisi hazırlanmıştır. 50 ml'lik falkon tüplerine konarak 1100 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Çalışmada 2 mm kalınlığında, 9 cm çaplı cam petri kullanılmıştır. Her petri için hazırlanan  $\text{CuCl}_2$  solüsyonundan 1,5 ml ve örnek çözeltisinden 4,5 ml alınarak petri içinde 8 çizerek karıştırılmıştır (Kahl vd., 2009). Düz ve sarsıntısız bir zeminde laboratuvar koşullarında yaklaşık olarak  $21-25^\circ\text{C}$ 'de ve %35-55 nem içeren ortamda 14-16 saat petri kutularının kapakları açık bir vaziyette buharlaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Melaminli ve melaminsiz tüm örnekler aynı işlemde geçirilmiştir. En uygun kristalogram resimlerini elde etmek için; %16'lık  $\text{CuCl}_2$  çözeltisi sabit tutulmak koşulu ile %0,5'lik örnek konsantrasyonu (ön denemelerde %0,1'den %10'a kadar farklı örnek konsantrasyonları denenmiş, en iyi sonuç alınan örnek konsantrasyonu %0,5 olarak belirlenmiştir. Farklı bir örnekte biyokristalizasyon çalışmasında en iyi sonuç eldesi için farklı örnek konsantrasyonlarının denenmesi önerilmekte, net sonuç alınan konsantrasyon/konsantrasyonların üzerinde tekrar edilebilir sonuç eldesi için denemelerde kullanılmıştır.

### 2.2.3. Kristallerin İncelenmesi

Fotoğrafların çekimi Süleyman Demirel Üniversitesi CAD / CAM Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada fotoğraflar Matrix vision, mv blue fox -124c marka görüntü işlem kamerası ile LED ışık altında, sabit uzaklıkta (takriben 25 cm), renkli olarak, yakınlaştırma yapılmadan çekilmiştir.

### 2.2.4. Biyokristalizasyon Resimlerinin Değerlendirilmesi

Çiğ süt örnekleri görsel olarak değerlendirilirken yoğurt örnekleri için panel değerlendirmesine ihtiyaç duyulmuştur. Çiğ süt örneklerinden elde edilen kristalogramların farklılıkları Şekil 1'de görüldüğü üzere tarafımızdan kolaylıkla tespit edilmiştir. Bu nedenle çalışmada melaminli çiğ süt örneklerinin panel değerlendirilmesine yer verilmemiştir. Melaminli yoğurt örneklerinin farklılıklarının belirlenmesi çiğ süt örneklerine göre daha zor olduğu için belirli kriterler üzerinden eğitilmiş bir panel grubuyla değerlendirmeler yapılarak sonuçlar istatistiksel olarak ortaya konulmuştur. Biyokristalizasyon resimlerinin

değerlendirilmesi amacıyla 7 kişilik konu hakkında eğitilmiş uzman kişilerden oluşan bir panel grubu oluşturulmuştur. Huber vd. (2010) 'in çalışmasında kullandığı kriterler modifiye edilerek bu çalışmaya uygun hale getirilmiş ve bu kriterlerin yer aldığı bir görsel değerlendirme formu oluşturulmuştur. Bu kriterler 1-9 skala ölçeği ile tanımlanmıştır. Panelistler resimleri her kritere göre 1'den 9'a kadar puanlamışlardır. Daha sonra kriterlere göre verilen puanların toplamları ve ortalamaları alınarak istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Biyokristalizasyon resimlerinin değerlendirilmesinde kullanılan kriterler ve açıklamaları Tablo 1'de verilmiştir.

### 2.2.5. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmadaki verilerin değerlendirilmesi SPSS 17.0 paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Biyokristalizasyon resimlerinin görsel olarak değerlendirilmesinde analiz güvenilirliğini belirlemek amacıyla "Cronbach's-alpha" iç tutarlılık katsayısı hesaplanmıştır. "Cronbach's-alpha" değeri geneli ve her bir faktör (kriter) için hesaplanmıştır. "ANOVA (tek yönlü varyans analizi)" testi ile varyansların homojenliği test edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda toplam puan ve ortalama

puan incelenmiş ve TUKEY çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Önemlilik düzeyi  $p < 0,05$  olarak seçilmiştir.

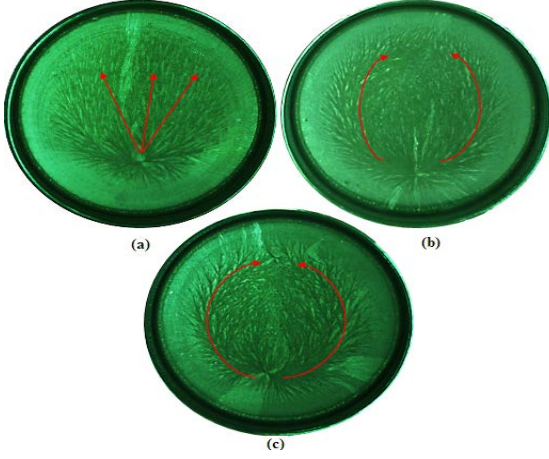
### 3. Araştırma Bulguları ve Tartışma

Türkiye ve birçok ülkenin de bulaşma limiti olarak belirlediği 1 mg/kg melamin oranı ile (Gıda için 2,5 mg/kg; bebek formülleri ve devam formülleri için 1 mg/kg) 5 mg/kg oranında melamin eklenmiş süt örnekleri görsel olarak incelenirken; yoğurt biyokristalogramları kontrol grubu ile karşılaştırılarak eğitilmiş panelistler tarafından değerlendirilmiştir. Şekil 1'de çiğ süttten elde edilen, 1 mg/kg melamin katkılı süttten elde edilen ve 5 mg/kg katkılı süttten elde edilen biyokristalizasyon resimleri görülmektedir. Süt örneklerinin biyokristalizasyon resimlerinin karakteristik özellikleri görsel olarak incelendiğinde tekrar edilebilir nitelikte; çiğ süttten elde edilen biyokristalogramda dallanma yapıları daha düz ve açısız bir şekilde kristallenirken; 1 mg/kg melamin içeren süttün biyokristalogramı daha oval yapıda; 5 mg/kg melamin içeren süttün biyokristalogramı ise en oval yapıda olduğu tespit edilmiştir. Ovallığın giderek arttığı kırmızı oklarla şekil üzerinde de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Biyokristalizasyon resimlerinin tanımlayıcı kriterleri

Kısaltmalar	Kriterler	Açıklama
1) İntegrasyon ve Merkez Koord.	İntegrasyon ve merkezi koordinasyon	Bütünlük, tamamlama, merkezi uyum, tertip-düzen-tek merkezli bir yapı varsa ve bilgilerin saklı olduğu yapılar birbiri ile bağlantılı bir şekilde herhangi bir kopma-bozukluk olmadan devam ediyorsa ve yapılarda "bütünlük" var ise tam puan verilir.
2) Canlılık-Güçlülük	Canlılık-güçlülük	Resimdeki dallar ve dalların hareketleri net, belirgin ve güçlü ise tam puan verilir.
3) Radyal dallanma	Radyal dallanma	Merkez bölgeden sonra çevresine doğru devam eden iğne yapısı daha düz ya da daha fazla kavisli ise bir başka deyişle kristal dallar belli bir kavis açısına sahipse yüksek puan verilir. Not: simetri hesaba alınmaz.
4) Temiz gövde	Temiz (net) gövde oluşumu ve dalların düzenliliği	Merkezi yapının devam ettiği bölgede (2. Bölge) herhangi bir kristal karmaşıklığı yoksa belirgin, birbiri içine geçmeyen dal ve iğne yapıları oluşmuşsa yüksek puan verilir.
5) İğne Doluluğu	Yan iğnelerle doluluk	Dallanma bölgesinde hiç boşluk yoksa dallanma sürekli ve yoğun ise yüksek puan verilir.
6) İğne Uzunluğu	Yan iğnelerin uzunluğu	Yan iğnelerin uzunluğuna göre yüksek puan verilir.
7) Kıvrıkcık veya Çapraz İğneler	Kıv. veya çapr. iğneler	Dalların etrafında ya da uç noktalarında kıvrıkcık veya çapraz iğne şeklinde yapılar oluşmuşsa <u>düşük</u> puan verilir.

Katkısız yoğurt örneklerinden, 1 mg/kg melamin katkılı yoğurt örneklerinden ve 5 mg/kg melamin katkılı yoğurt örneklerinden biyokristalizasyon uygulaması sonucu 150'şer adet, toplamda 450 adet biyokristalizasyon resmi elde edilmiştir. Her bir durum için bu resimleri en iyi temsil ettiği düşünülen 5'er adet, toplamda 15 adet resim seçilmiştir. Elde edilen resimlerden bazıları Şekil 2-4' te verilmiştir.



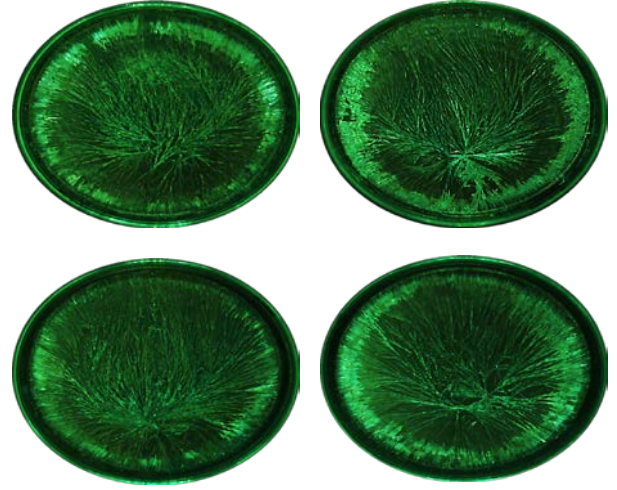
**Şekil 1.** a) Çiğ süt biyokristalizasyonu, b) 1 mg/kg melaminli süt biyokristalizasyonu, c) 5 mg/kg melaminli süt biyokristalizasyonu, Kırmızı oklarla dallanma yönleri gösterilmiştir.



**Şekil 2.** Panel değerlendirmesinde kullanılan kontrol grubu yoğurt örnekleri biyokristalizasyon resimleri



**Şekil 3.** Panel değerlendirmesinde kullanılan 1 mg/kg melaminli yoğurt örnekleri biyokristalizasyon resimleri



**Şekil 4.** Panel değerlendirmesinde kullanılan 5 mg/kg melaminli yoğurt örnekleri biyokristalizasyon resimleri

Biyokristalogramların karakteristik özellikleri incelendiğinde; katkısız yoğurt biyokristalogramında merkez bölgesinde dalların yapışık/bitişik görümlü olduğu ve yoğun bir zon bölgesi meydana getirdiği tespit edilmiştir. Biyokristalogramlar incelendiğinde; 1 mg/kg melamin eklenmiş yoğurt örneklerinde dalların birbirine daha yakın olduğu ve petri kutusunu çevreleyen bileziğin (3. bölge) olmadığı veya çok az olduğu görülmüştür. Örneklerden, 5 mg/kg katkılı biyokristalogram incelendiğinde ise dalların daha seyrek görümlü ve daha güçlü, net ve belirgin olduğu; diğerlerine göre daha büyük bir bileziğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Belirtilen resimler eğitilmiş panelistler tarafından değerlendirildiğinde; analiz güvenilirliğini belirlemek amacıyla "Cronbach's-alpha" iç tutarlılık

katsayısı hesaplanmıştır. “Cronbach’s-alpha” iç tutarlılık katsayısı için literatürde minimum kabul edilebilir düzey için farklı oranlar bulunabilmekteyse de % 0,5’ten büyük oranlar kabul edilmiştir. 0,50-0,59 arası orta güvenilirlik, 0,60-0,79 arası önemli ölçüde güvenilirlik, 0,80 ve üstü ise üstün güvenilirlik olarak kabul edilmiştir (Huber, 2010). “Cronbach’s-alpha” değeri geneli için

0,758 olarak bulunmuştur. Bu değer kontrol, 1ppm ve 5ppm örnekleri için sırasıyla; 0,865, 0,848 ve 0,536 olarak belirlenmiştir. Bu durumda kontrol ve 1ppm grubu “Üstün güvenilirlikte”, 5ppm grubu “orta güvenilirlikte” ve genel Cronbach's Alpha değeri “önemli ölçüde güvenilirlikte” olarak tespit edilmiştir. Tablo 2’de güvenilirlik testi (Cronbach's Alpha) iç tutarlılık sonuçları verilmiştir.

**Tablo 2.** Yoğurt biyokristalogramlarının kriterlere göre aldıkları ortalama puanlar

Kriterler	A	B	C
1) İntegrasyon ve Merkezi Koordin.	6,00±1,67 <sup>a</sup>	5,67±1,81 <sup>a</sup>	6,00±1,82 <sup>a</sup>
2) Canlılık-Güçlülük	5,42±2,10 <sup>a</sup>	4,50±2,34 <sup>a</sup>	7,29±0,95 <sup>b</sup>
3) Radyal dallanma	3,96±2,24 <sup>a</sup>	4,67±2,16 <sup>a</sup>	3,83±1,90 <sup>a</sup>
4) Temiz gövde	3,92±2,22 <sup>a</sup>	4,42±2,06 <sup>a</sup>	6,35±1,15 <sup>b</sup>
5) İğne Doluluğu	5,29±1,65 <sup>b</sup>	7,25±1,26 <sup>c</sup>	3,92±1,50 <sup>a</sup>
6) İğne Uzunluğu	3,46±1,89 <sup>a</sup>	5,29±1,76 <sup>b</sup>	6,00±1,41 <sup>b</sup>
7) Kıvrık Çapraz İğneler	5,38±1,69 <sup>a</sup>	6,71±1,16 <sup>b</sup>	6,13±1,23 <sup>ab</sup>
<b>Ortalama puan</b>	<b>4,79±1,46<sup>a</sup></b>	<b>5,50±1,33<sup>b</sup></b>	<b>5,65±0,77<sup>ab</sup></b>

\*A: Katkısız yoğurt örneği biyokristalogramı, B: 1 mg/kg melamin katkılı yoğurt örneği biyokristalogramı, C: 5 mg/kg melamin katkılı yoğurt örneği biyokristalogramı,

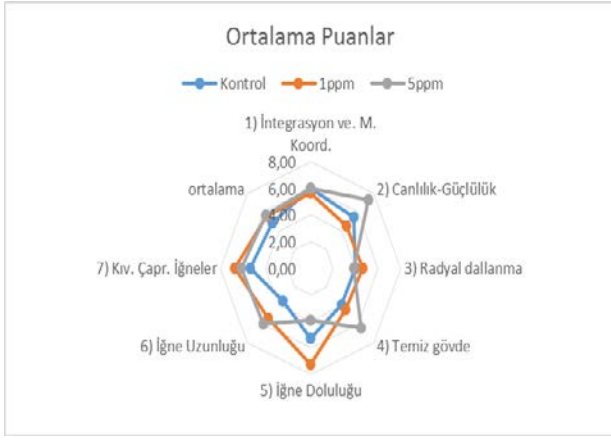
\*\* Küçük harfler; ortalamalar arasındaki farkı ifade etmektedir. P<0.05 seviyesinde farklılık önemlidir.

Varyansların homojenliği ANOVA (tek yönlü) testi ile belirlenmiştir. Verilerin çoğu normal dağılış göstermesinden dolayı TURKEY çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Çoklu karşılaştırma testi sonucunda kriter puan ortalamalarının hangi resimleri ayırt etmede başarılı oldukları Çizelge 2’de verilmiştir. Çalışmada resimleri ayırt etmede 2 kriter istatistiksel olarak başarılı olmazken sadece 1 kriter hepsini ayırt edebilmiş, 1 kriterin az da olsa hepsini ayırt etme yeteneğinin olduğu tespit edilmiştir. 2 kriter sadece 5 mg/kg melamin eklenmiş sütü ayırt edebilirken 1 kriter de sadece kontrol grubunu ayırt edebilmiştir. Ortalama puanlar göz önüne alındığında, melaminin var olup olmadığı konusunda bir fikir verirken; katılan melamin miktarı konusunda değerlendirme yapılamamaktadır.

Tablo 2 incelendiğinde ortalama puanların kontrol grubunu, 1 mg/kg ve 5 mg/kg katkılı yoğurt örneklerinden ayırmada istatistiksel olarak (P<0,05) başarılı oldukları görülmektedir. Kriterler

incelendiğinde; integrasyon ve M. Koord. (1) ve radyal dallanma (3) kriterlerinin resimleri ayırt edemediği; canlılık-güçlülük (2) ve temiz gövde (4) kriterlerinin sadece 5 mg/kg katkılı yoğurt örneklerini diğerlerinden ayırt ettiği; iğne uzunluğu (6) kriterinin melaminli örnekleri kontrol grubundan ayırt ettiği; iğne doluluğu (5) kriterinin hepsini ayırt edebildiği; Kıv. Çapr. İğneler (7) kriteri ve ortalama puanların ise tümünü az da olsa ayırt edebilme yeteneklerinin olduğu istatistiksel olarak belirtilmiştir (P<0,05).

Şekil 5’te panel değerlendirmesinde resimlerin kriterlere göre aldıkları ortalama puanlar grafik şeklinde gösterilmiştir. Şekil incelendiğinde genel olarak; daha zayıf olan kontrol grubu yoğurt örneklerinin biyokristalogramlarının panel değerleri en içte yer alırken; en dışta daha güçlü olan 1 mg/kg melamin katkılı yoğurt örneklerinin biyokristalogramlarının panel değerleri yer almaktadır.



**Şekil 5.** Yoğurt örneklerinin biyokristalizasyon resimlerinin ortalama puanlarının radar grafik üzerinde gösterimi

Huber (2007) yaptığı çalışmada süt örneklerini 6 gruba ayırarak farklı işlemler (Çiğ, 50 bar homojenizasyon, 200 bar homojenizasyon, 200 bar homojenizasyon + 76°C'de 15 sn ısıtma, 200 bar homojenizasyon + 90°C'de 15 sn ısıtma, 140°C'de 5 sn ısıtma) uygulamıştır. Daha sonra bizim çalışmamıza benzer olarak biyokristalizasyon işlemi uygulanan örneklerin biyokristalizasyon resimleri panel yardımıyla değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; en güçlü değerleri çiğ süt örneklerinin biyokristalogramları alırken; bunu sırasıyla; 50 bar homojenizasyon, 200 bar homojenizasyon, 76°C'de 15 sn ısıtma, 140°C'de 5 sn ısıtma, 200 bar homojenizasyon + 90°C'de 15 sn ısıtma uygulanan örnekler takip etmektedir (Huber, 2006).

Ortalama puanlar göz önüne alındığında melaminin var olup olmadığı konusunda bir fikir edinilmiş ancak melamin miktarının belirlenmesi konusunda etkili olmamıştır. Kriterler incelendiğinde miktar değerlendirilmesi yapılmak istenirse üç grubun da birbirinden istatistiksel olarak ayırabilen kriterler seçilmelidir. İğne doluluğu (5) kriterinin üç grubu da istatistiksel olarak birbirinden ayırt edilebileceği görülmektedir. Dolayısıyla bu kriter kullanılarak yoğurda katılan melamin miktarı konusunda da değerlendirme yapılabilmektedir. Literatüre bakıldığında yoğurt üzerine, melamin tespiti üzerine yapılmış yada bu konuyla alakalı karşılaştırma yapılabilecek benzer herhangi bir çalışma bulunamamıştır.

#### 4.Sonuç ve Öneriler

Biyokristalizasyon metodu ile, süt ve yoğurtlarda melamin varlığında kristal desenlerde farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir. Çiğ süttten elde edilen biyokristalogramda dallanma yapıların daha düz ve açısız bir şekilde kristallendiği; süte melamin ilave edildiğinde kristalogramda daha oval yapının olduğu; melamin oranı arttığında ise oval yapıda

artış olduğu tespit edilmiştir. İğne doluluğu (5) kriterinin üç grubu (kontrol, 1 ppm melaminli yoğurt, 5 ppm melaminli yoğurt) da istatistiksel olarak birbirinden ayırt edilebileceği belirlenmiştir. Dolayısıyla bu kriter kullanılarak yoğurda katılan melamin miktarı konusunda bir sonuca varılabilecektir.

Düşük miktarlarda (1 ppm, 5 ppm) farklılıklar hassaslaştığı için görsel inceleme yeterli olamamaktadır. Bu yüzden bir görsel incelemede eğitimli panelist grubu oluşturmak, daha hassas sonuçlar için bilgisayar destekli görüntü işleme yöntemlerinin kullanılarak panel oluşturularak ya da bilgisayarlı görüntü analiz yöntemlerini kullanarak daha iyi sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

#### Teşekkür

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 3571-YL1-13 No'lu projeye desteklenmiştir.

#### Kaynaklar

- Abdollahi, F., 2008. Organik Ve Konvansiyonel Domates ve Ürünlerinin Ayırt Edilebilme Yöntemleri ve Kalite Farklarının İncelenmesi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir, 356s.
- Andersen, J.O., Henriksen, C.B., Laursen, J. and Nielsen, A.A., 1999. Computerised Image Analysis of Biocrystallograms Originating from Agricultural products, Computers and Electronics in Agriculture, 22 (1), 51-69.
- Andersen, J.O., 2001. Development and Application of the Biocrystallization Method, Biodynamic Research Association, Herskind, Denmark.
- Anonim, 2009. Melamin, Gıda ve Yem Analiz 35, 16-17.
- Anonim, 2012. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik, Başbakanlık Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü, 19 Aralık 2012 tarihli, 28502 sayılı Resmi Gazete.
- Barth, J.G., 1998. Visual lecture of crystallisation patterns of Cupric Chloride with Additives, Crystallisation Workshop, French Ministry of the Economy, Finance and Industry, 23-25.
- Codex Alimentarius Commission, 2010. Proposed Draft Maximum Levels for Melamine in Food and Feed (N13-2009). Erisim tarihi 01.01.2012. Erisim: <http://64.76.123.202/cclac/documentos/CCCCF/20>

10/3%20Documentos/Documentos%20Inglis/cf04\_05e.pdf

Doesburg, P., Huber, M.A.S., 2011. Making Complexity Visible: The Picture-Forming Biocrystallisation Method Results of Controlled Milk Processing, Crystal lab, Louis Bolk Institute, The Netherlands.

FDA (Food and Drug Administration), 2008. The Government of Canada responds to reports of melamine in food products. Erişim Tarihi: 23.12.2012. Kanada Sağlık Bakanlığı Web Sitesi: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/chem-chim/melamine/background-context-eng.php>.

Finesilver, T., 1989. Comparison of Quality of Organically Versus Conventionally Grown Plant Foods, Ecological Agriculture Projects, Report, Mac Donald College, McGillUniversity, Ste Anne de Bellevue, Quebec, Canada <http://eap.mcgill.ca/publications/EAP38.htm>

Huber, M., 2006. The 2005 Louis Bolk Milk Study, A Pilot Study in Search of Parameters for Quality and Health, Organic Food Quality and Health Workshop, BioFach Fair Nuremberg, 11s.

Huber M., Andersen J.O., Kahl J., Busscher N., Doesburg P., Mergardt G., Kretschmer S., Załęcka A., Meelursarn A., Ploeger A., Nierop D., van de Vijver L., Baars E., 2010. Standardization and Validation of the Visual Evaluation of Biocrystallizations. *Biological Agriculture and Horticulture, Great Britain*, 27, 25-40.

Kahl, J., Busscher, N., Doesburg, P., Mergardt, G., Huber, M., Ploeger, A., 2009. First tests of standardized biocrystallization on milk and milk products. *European Food Res Technol*, 229, 175-178.

Kuşçu, A., 2008. Organik Ve Konvansiyonel Kırmızıbiber Ve Ürünlerinin Ayırt Edilebilme Yöntemleri Ve Kalite Özelliklerinin İncelenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 420s. İzmir.

Mäder, P., Pfiffner, L., Niggli, U., Balzer-Graf, U., Balzer, F., Plochberger, K., Velimirov, A., Besson, J.M., 1993. Effect of Three Farming Systems (Biodynamic, Bio-organic, Conventional) on Yield and Quality of Beetroot (*Beta Vulgaris L. Var. Esculenta L.*) In a Seven Year Crop Rotation. *Acta Hort.* 339, 11-31.

Unluturk S., Unluturk M. S., Pazir F. and Kuscu A., 2011. Process Neural Network Method: Case Study I: Discrimination of Sweet Red Peppers Prepared by

Different Methods. *Eurasip Journal on Advances in Signal Processing*. 1-8p.

Unluturk, S., Pelvan, M., Unluturk, M.S., 2013. The Discrimination of Raw and UHT Milk Samples Contaminated with Penicillin G and Ampicillin Using Image Processing Neural Network and Biocrystallization Methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 32, 12-19.

Unluturk S., Unluturk M., Pazir F. and Kuscu, A., 2014. Discrimination of Bio-Crystallogram Images Using Neural Networks. *Neural Computing and Applications*, 24(5): 1221-1228. ISBN: 0941-0643.